

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

НАУКОВИЙ ВІСНИК

ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ
імені С.З. ГЖИЦЬКОГО

СЕРІЯ: ВЕТЕРИНАРНІ НАУКИ



SCIENTIFIC MESSENGER
OF LVIV NATIONAL UNIVERSITY OF VETERINARY
MEDICINE AND BIOTECHNOLOGIES

SERIES: VETERINARY SCIENCES

Том 24 № 105

2022

Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки входить до “Переліку наукових фахових видань України” (категорія Б), в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук у галузі ветеринарних наук (остання пере-реєстрація згідно з наказом Міністерства освіти і науки України № 1301 від 15 жовтня 2019 р.).

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації серія КВ № 14133–3104 ПР від 11.06.2008 року.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Голова редакційної колегії:

В. В. СТИБЕЛЬ, д.вет.н. (Україна)

Заступники голови редакційної колегії

О. М. ФЕДЕЦЬ, к.с.–г.н. (Україна)

Ю. С. СТРОНСЬКИЙ, к.вет.н. (Україна)

Відповідальний секретар

Б. В. ГУТИЙ, д.вет.н. (Україна)

Члени редакційної колегії

Р. АЛКСІЄВИЧ, док. габ. (Республіка Польща)

Р. ВЕІЛЕНМАН, к.вет.н (Швейцарія)

С. ВІНЯРЧИК, док. габ. (Республіка Польща)

В. В. ВЛІЗЛО, д.вет.н. (Україна)

П. І. ГОЛОВАЧ, д.вет.н. (Україна)

В. М. ГУНЧАК, д.вет.н. (Україна)

Д. Ф. ГУФРІЙ, д.вет.н. (Україна)

І. В. ДВИЛЮК, к.вет.н. (Україна)

М. М. ЖЕЛАВСЬКИЙ, д.вет.н. (Україна)

Я. В. КІСЕРА, д.вет.н. (Україна)

І. І. КОВАЛЬЧУК, д.вет.н. (Україна)

Г. І. КОЦЮМБАС, д.вет.н. (Україна)

Б. М. КУРТЯК, д.б.н. (Україна)

К. КУБЯК, док. габ. (Республіка Польща)

М. КОЗИРОВСЬКИЙ док. габ. (Республіка Польща)

А. Р. МИСАК, д.вет.н. (Україна)

Р. А. ПЕЛЕНЬО, д.вет.н. (Україна)

Р. ПИЛИП, к.вет.н (Канада)

Р. ПОГРАНИЧНИЙ д.вет.н. (США)

А. М. ТИБІНКА, д.вет.н. (Україна)

В. З. САЛАТА, д.вет.н. (Україна)

Л. Г. СЛІВІНСКА, д.вет.н. (Україна)

В. Ю. СТЕФАНИК, д.вет.н. (Україна)

М. Р. СІМОНОВ, д.вет.н. (Україна)

І. Д. ЮСЬКІВ, д.вет.н. (Україна)

Рекомендовано Вченою радою Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького (протокол № 2 від 31.03.2022 р.).

Адреса редакційної колегії:

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, Україна, 79010
тел. +38 (032) 2392622, +380681362054
E-mail: admin@vetuniver.lviv.ua, bvh@ukr.net

Scientific messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

includes in the “List of scientific professional publications of Ukraine”, which can be published the results of dissertations for the degree of doctor and candidate of Science in Veterinary Science (last re-registration under the order of the Ministry education of Ukraine number 1301 of October 15, 2019)

Certificate of registration of print media Series KV number 14133–3104 PR from 11.06.2008 year.

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief:

V. STYBEL, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

Deputy Editors:

O. FEDETS, Cand. Agr. Sci. (Ukraine)

J. STRONSKYJ, Cand. Vet. Sci. (Ukraine)

Executive Secretary:

B. GUTYJ, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

Editorial board

R. ALEKSIEWICZ, Dr. Vet. Sci. (Poland)

R. WEILENMANN, Cand. Vet. Sci. (Switzerland)

S. WINIARCZYK, Dr. Vet. Sci. (Poland)

V. VLIZLO, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

P. GOLOVACH, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

V. HUNCHAK, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

D. HUFRIY, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

I. V. DVYLIUK, Cand. Vet. Sci. (Ukraine)

M. ZHELAVSKYI, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

Y. KISERA, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

I. KOVALCHUK, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

G. KOTSYUMBAS, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

B. KURTYAK, Dr. Biol. Sci. (Ukraine)

K. KUBIAK, Dr. Vet. Sci. (Poland)

M. KOZIOROWSKI, Dr. Vet. Sci. (Poland)

A. MYSAK, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

R. PELENO, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

R. PILIP, Cand. Vet. Sci. (Canada)

R. POGRANICHNIY, Dr. Vet. Sci. (USA)

A. TYBINKA, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

V. SALATA, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

L. SLIVINSKA, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

V. STEFANYK, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

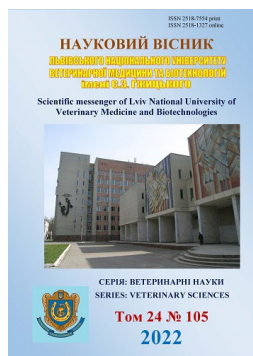
M. SIMONOV, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

I. YUSKIV, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

Recommended by Academic Council of Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv (Minutes № 2 of 31.02.2022).

Editorial address:

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv,
79010, Ukraine, Lviv, Pekarska str., 50
tel. +38 (032) 2392622, +380681362054
E-mail: admin@vetuniver.lviv.ua, bvh@ukr.net



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10501

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619.579.62

Evaluation of disinfectant “Enzidez” according to physical and chemical parameters

M. Kukhtyn¹✉, V. Kozhyn², V. Horiuk², Y. Horiuk², N. Boltyk³

¹Ternopil Ivan Puluj National Technical University, Ternopil, Ukraine

²Higher educational institution “Podillia State University”, Kamianets-Podilskyi, Ukraine

³Research Station of the Institute of Veterinary Medicine of NAAS, Ternopil, Ukraine

Article info

Received 03.01.2022

Received in revised form

07.02.2022

Accepted 08.02.2022

Ternopil Ivan Puluj National
Technical University,
Ruska Str., 56, Ternopil,
46001, Ukraine.
Tel.: +38-097-239-20-57
E-mail: kuchynnic@gmail.com

Higher educational institution
“Podillia State University”,
Shevchenko Str., 13, Kamianets-
Podilskyi, Kholmynskyi region,
32300, Ukraine.

Research Station of the Institute of
Veterinary Medicine of NAAS,
Trolleybusna Str., 12,
Ternopil, 46027, Ukraine.

Kukhtyn, M., Kozhyn, V., Horiuk, V., Horiuk, Y., & Boltyk, N. (2022). Evaluation of disinfectant “Enzidez” according to physical and chemical parameters. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 3–9. doi: 10.32718/nvlvet10501

The dependence of the national economy on disinfectants is constantly growing through prevention strategies and the development of resistance in microorganisms. Therefore, new disinfectants with different mechanisms of biocidal activity for a wide range of pathogens are appearing on the market. The aim of work has been to determine the physical and chemical parameters of the created disinfectant “Enzidez” active on biofilm forms of bacteria and the possible organic load. The magnitude of the surface tension of disinfectant “Enzidez” at different concentrations of solutions has been determined using a device with a Traube stalagmometer. The wettability of solutions has been determined by the method of measuring the wetting angle with a catheter. Washing properties and stability of foam by the method of washing animal fats, followed by application of indicator liquid. Proteolytic activity has been determined using milk and the effect of Enzidez solutions of different concentrations on it, followed by measurement of the optical density of the solutions spectrophotometrically at a wavelength of 600 nm. It is established that the disinfectant with enzymes – “Enzidez” for disinfection in veterinary clinics for pre-sterilization disinfection and treatment of products and instruments of surgical purpose (plastic, rubber, glass, stainless steel) and objects of veterinary supervision (tables, utensils, walls, floors, doors, windows, etc.) with organic load is well soluble in water and has a pH of 0.25–1.0 % solutions in the range of 8.2–8.0 units. At a solution temperature of $+20 \pm 1$ °C it has had a surface tension not higher than 37.63 ± 0.50 mN/m and a wetting angle of 69.5 ± 0.7 degree. The disinfectant has provided an excellent detergent effect only at solutions with a concentration of 1.0 % and above. When assessing the corrosive action of Enzidez in the concentration of solutions from 0.25 to 1.0 %, the amount of corrosion on stainless steel has been hundreds of times lower than the allowable regulatory limit. The impact on galvanized steel is slightly higher than that of stainless steel, but also several tens below the norm. A study to determine the proteolytic activity of the disinfectant “Enzidez” on milk proteins has revealed that the disinfectant broke down proteins at a concentration of solutions 0.5–1.0 % at a temperature of $+20$ °C at 41.3–43.1 %, respectively, for 15 min of exposure. However, increasing the temperature of solutions to $+60$ °C and exposure for 30 min has provided an increase in proteolytic activity up to 70 %. Thus, disinfectant “Enzidez” is a highly active disinfectant for disinfecting surfaces even in the case of organic contamination.

Key words: Enzidez, proteolytic activity, washing ability, corrosion action.

Оцінка дезінфікуючого засобу “Ензидез” за фізико-хімічними показниками

М. Д. Кухтин¹✉, В. А. Кожин², В. В. Горюк², Ю. В. Горюк², Н. П. Болтик³

¹Тернопільський національний технічний університет імені І. Пулюя, м. Тернопіль, Україна

²Заклад вищої освіти “Подільський державний університет”, м. Кам’янець-Подільський, Україна

³Тернопільська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини, м. Тернопіль, Україна

Залежність народного господарства від дезінфікуючих засобів постійно зростає через профілактичні стратегії і розвиток резистентності у мікроорганізмів. Тому на ринку з'являються все нові дезінфікуючі засоби з різним механізмом біоцидної активності щодо широкого кола патогенів. Метою роботи було визначити фізико-хімічні показники створеного дезінфікуючого засобу “Ензидез”, активного на біоплівкові форми бактерій та за можливого органічного навантаження. Величину поверхневого натягу деззасобу “Ензидез” за різних концентрацій розчинів визначали за допомогою пристрою із сталагмометром Траубе. Змочувальну здатність розчинів визначали за методом вимірювання кураєвого кута змочування за катетометром. Мийні властивості та стійкість піни за методом змивання тваринних органічного навантаження. Величину поверхневого натягу деззасобу “Ензидез” за різних концентрацій жирів – з подальшим нанесенням індикаторної рідини. Протеолітичну активність визначали з використанням молока та впливом на нього розчинів “Ензидезу” різної концентрації з подальшим вимірюванням оптичної густини розчинів спектрофотометрично за довжини хвилі 600 нм. Встановлено, що розроблений дезінфікуючий засіб з енізимами – “Ензидез” для дезінфекції у клініках ветеринарної медицини для передстерилізаційної дезінфекції і обробки виробів та інструментів хірургічного призначення (пластмаса, гума, скло, нержавіюча сталь) і об'єктів ветеринарного нагляду (столи, інвентар, стіни, підлога, двері, вікна тощо) з органічним навантаженням виявився добре розчинним у воді та має рН 0,25–1,0 % розчинів в межах 8,2–8,0 од. За температури розчинів $+20 \pm 1$ °C мав поверхневий натяг не вище ніж $37,63 \pm 0,50$ мН/м та краєвий кут змочування $69,5 \pm 0,7$ град. Деззасіб забезпечував мийний ефект на оцінку відмінно тільки за концентрації розчинів 1,0 % і вище. При оцінці корозійної дії “Ензидезу” в концентрації розчинів від 0,25 до 1,0 % величина корозії на нержавіючу сталь була в сотні разів нижча за допустиму нормативну межу. За впливу на оцинковану сталь – децю вища, ніж на нержавіючу, але також в декілька десятків нижча за норму. Дослідження з визначення протеолітичної активності деззасобу “Ензидез” щодо білків молока виявило, що дезінфектант розщеплював білки за концентрації розчинів 0,5–1,0 % за температури $+20$ °C на 41,3–43,1 % відповідно, протягом 15 хв експозиції. Проте збільшення температури розчинів до $+60$ °C та експозиції 30 хв забезпечувало зростання протеолітичної активності до 70 %. Отже, “Ензидез” є високоактивним деззасобом для дезінфекції поверхонь навіть за органічного забруднення.

Ключові слова: Ензидез, протеолітична активність, мийна здатність, корозійна дія.

Вступ

Застосування дезінфекції спрямовано на знищення мікроорганізмів на предметах та об'єктах навколишнього середовища. Для недопущення поширення патогенних агентів або зменшення контамінації об'єктів, які можуть бути джерелом інфікування людей, тварин, харчових продуктів тощо (Abdallah et al., 2014; Kovalenko et al., 2018; Hemati et al., 2020). Проте стрімкий розвиток стійкості мікроорганізмів до широкого кола антибіотиків та дезінфікуючих засобів спонукає фармацевтичну галузь до пошуку нових субстанцій для розроблення ефективних антимікробних препаратів (Berhilevych et al., 2017; Salata et al., 2018; Palii et al., 2020; Chechet et al., 2021). Внаслідок цього нині ринок дезінфікуючих засобів представлений значним асортиментом з антибактеріальними субстанціями різного походження та поєднання між собою (Du et al., 2017; Lineback et al., 2018; Soltys et al., 2019; Poppendieck et al., 2021). Проте дезінфікуючого засобу, який би ідеально підходив для значної категорії споживачів не існує та існувати не може. Тому над розробкою нових деззасобів працюють спеціалісти різних галузей в багатьох країнах світу (Jin et al., 2020; Soltys et al., 2020). Розробка дезінфікуючого засобу передбачає проведення широкомасштабних лабораторних (мікробіологічних, фізико-хімічних, токсикологічних) та виробничих досліджень з подальшою реєстрацією та впровадженням у виробництво (Kovalenko et al., 2011; Soltys et al., 2020).

Нами розроблено новий дезінфікуючий засіб “Ензидез” із вмістом четвертинних амонієвих сполук, похідних гуанідину, протеолітичних і гліколітичних ензимів. Попередні лабораторні дослідження (Kukhtyn et al., 2021; Kozhyn et al., 2021) показали, що створений деззасіб є високоактивним щодо бактерій у біоплівках та мікрофлорі навіть за значного органічного забруднення. Тому проведення подальших лабораторних досліджень з визначення фізико-хімічних показників, які всебічно характеризують його дію, є

обов'язковим на етапі оцінки в умовах *in vitro*. Глибоке розуміння взаємодій різних видів компонентів засобу (з біологічними середовищами) є ймовірним вирішальним фактором для синтезу нових дезінфікуючих препаратів, оскільки фізико-хімічні властивості дезінфікуючих субстанцій можуть остаточно визначити їхню антимікробну дію.

Метою роботи було визначити фізико-хімічні показники створеного дезінфікуючого засобу “Ензидез”, активного на біоплівкові форми бактерій та за можливого органічного навантаження.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведені на факультеті ветеринарної медицини і технологій у тваринництві Закладу вищої освіти “Подільський державний університет”. Величину поверхневого натягу деззасобу “Ензидез” за різних концентрацій розчинів визначали за допомогою пристрою із сталагмометром Траубе. Суть методу полягає у підрахунку кількості крапель, утворених при витіканні зі сталагмометра однакового об'єму розчинів (Perkii et al., 2012). Змочувальну здатність розчинів визначали за методом вимірювання кураєвого кута змочування за допомогою сконструйованого пристрою, у якого основним вимірювальним приладом є катетометр (тип КМ-6) (Perkii et al., 2012). Розчинність деззасобу “Ензидез”, рН його розчинів, корозійну активність визначали за методичними рекомендаціями (Perkii et al., 2012), а мийні властивості та стійкість піни – за методикою, описаною (Salata, 2015; Salata et al., 2016).

Протеолітичну активність розчинів Ензидезу визначали за патентом (Mitskyavichyus & Bingyalene, 1984). Для цього використовували три пробірки: у першу вносили 5 см³ 5 % водного розчину молока і 20 см³ води дистильованої; у другу – 5 см³ води дистильованої і 20 см³ водного розчину деззасобу “Ензидез” у концентрації 0,5 %, 0,75 % або 1,0 %; у третю – 5 см³ 5 % водного розчину молока і 20 см³ водного

розчину деззасобу “Ензидез” у концентрації 0,5 %, 0,75 % або 1,0 %. Перемішували, підігрівали до необхідних нами температур (20, 40, 60 та 70 °C) і витримували при цій температурі 15 та 30 хв. Потім вимірювали оптичну густину розчинів з трьох пробірок спектрофотометрично за довжини хвилі 600 нМ. Протеолітичну активність A , %, визначали за формулою:

$$A = \frac{D_0 - (D_2 - D_1)}{D_0} \times 100,$$

де A – протеолітична активність деззасобу “Ензидез”;

D_0 – оптична густина водного розчину молока;

D_2 – оптична густина суміші водних розчинів молока та деззасобу “Ензидез”;

D_1 – оптична густина водного розчину деззасобу “Ензидез”.

Усі дослідження проводили у триразовій повторності, а отримані дані статистично обробляли з використанням комп’ютерної програми Statistica 6.0. Результати вважали достовірними за $P < 0,05$.

Результати досліджень

На першому етапі фізико-хімічних досліджень деззасобу “Ензидез” було визначено розчинність розчинів різної концентрації. Встановлено, що розчини засобу у концентрації від 0,25 до 5 % добре розчинялися у воді за температури $+20 \pm 1$ °C протягом часу до 30 с, що характеризує їх як швидко розчинні засоби (Perkii et al., 2012). Це свідчить про те, що для приготування робочих розчинів дезінфектанту можна використовувати звичайну воду за кімнатної температури. рН розчинів засобу становила 8,0–8,2 од., що вважається оптимальним для активності протеолітичних і ліполітичних ензимів, наявних у складі деззасобу.

Для забезпечення доброго контакту засобу з поверхнею, що обробляється, необхідно, щоб поверхневий натяг розчину був нижчий за рекомендовану межу у 60 мН/м (Perkii et al., 2012). Адже чим нижча величина поверхневого натягу розчину, тим краще буде змочуватися поверхня, діючі речовини деззасобу глибше проникнуть у западини поверхні. Результати дослідження з визначення величини поверхневого натягу за різних концентрацій деззасобу “Ензидез” наведено на рис. 1.

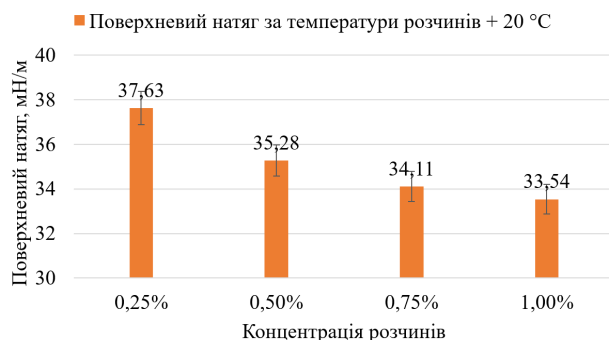


Рис. 1. Величина поверхневого натягу за різних концентрацій деззасобу “Ензидез”, $n = 12$

З даних рис. 1 видно, що в міру зростання концентрації розчинів засобу “Ензидез” поверхневий натяг знижувався. При цьому різниця між 0,25 % концентрацією розчину та 1,0 % становила $4,09 \pm 0,52$ мН/м, що вказує на його добру змочувальну здатність навіть за 0,25 % концентрації застосування, оскільки засоби з таким поверхневим натягом проявляють мийний ефект. Показники змочувальної здатності розчинів засобу “Ензидез” наведено на рис. 2.

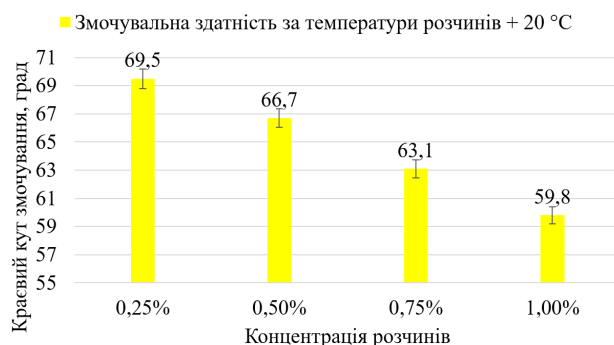


Рис. 2. Величина змочувальної здатності за різних концентрацій деззасобу “Ензидез”, $n = 12$

З даних рис. 2 видно, що краєвий кут змочування розчинів за концентрації від 0,25 до 1,0 % був нижчим за 90 град., що відповідає вимогам, які висуваються до дезінфікуючих засобів для санітарної обробки поверхонь. При цьому навіть за температури $+20 \pm 1$ °C краєвий кут змочування був низьким, а з підвищенням концентрації зменшувався, зокрема за 0,25 % концентрації він становив $69,5 \pm 0,7$ град. та зменшився на $9,7 \pm 0,6$ град. за 1,0 % розчину. Отже, застосування засобу “Ензидез” навіть у 0,25 % концентрації розчину буде забезпечувати добре змочування поверхні.

Поверхневий натяг, змочувальна здатність розчинів – це взаємопов’язані показники, які характеризують мийні властивості. Результати з визначення мийних властивостей розчинів деззасобу “Ензидез” наведено в табл. 1.

Встановлено (табл. 1), що розчини “Ензидезу” в концентрації від 0,25 до 0,75 % проявляли мийну здатність на оцінку добре, водночас збільшення концентрації до 1,0 % забезпечувало відмінний мийний ефект. При цьому виявлено, що розчини дезінфектанту є досить пінними, оскільки за 0,25 % концентрації піноутворююча здатність становила $13,7 \pm 0,5$ % та збільшилася в середньому на 10 % за 1,0 % концентрації. Утворена піна не була доволі стійкою, оскільки висота піни в 1,0 % розчину становила $17,7 \pm 3,7$ % через 5 хв вимірювання, що вважається допустимим для даної категорії засобів. Це свідчить про те, що для змивання засобу із робочих поверхонь об’єктів ветеринарного нагляду, додаткового інвентаря чи обладнання не буде використовуватися велика кількість води для ополіскування.

Таблиця 1

Мийні властивості та піноутворююча здатність деззасобу “Ензидез” за різних концентрацій розчинів ($M \pm m$, $n = 12$)

Концентрація розчину, %	Мийна здатність	Піноутворююча здатність, %	Стійкість піни, %
0,25	Добра	$13,7 \pm 0,5$	$11,3 \pm 2,1$
0,50	Добра	$16,6 \pm 0,4$	$12,5 \pm 3,3$
0,75	Добра	$19,2 \pm 0,6$	$14,3 \pm 3,6$
1,0	Відмінна	$24,0 \pm 0,8^*$	$17,7 \pm 3,7$

Примітка: * – $P < 0,05$ порівняно з 0,25 % концентрацією

Отже, за показниками мийної здатності та піноутворення розчини дезінфікуючого засобу “Ензидез” у концентрації від 0,25 до 1,0 % проявляють добрий і відмінний мийний ефект, а піноутворювальна здатність та стійкість піни є цілком прийнятними з метою застосування для дезінфекції обладнання, інструментів, об’єктів ветеринарного нагляду тощо у ветеринарній медицині.

Дезінфікуючі засоби, які матимуть контакт з металевими поверхнями, обов’язково перевіряються на їхню корозійну активність. Дезінфектанти, у яких корозійна дія перевищує встановлені вимоги, не допускаються до виробництва через швидке руйнування металів. Результати визначення величини корозії у деззасобу “Ензидез” наведено в табл. 2.

Таблиця 2

Величина корозійної дії деззасобу “Ензидез” на нержавіючу та оцинковану сталь за різних концентрацій розчинів ($M \pm m$, $n = 24$)

Концентрація розчинів засобів, %	Нержавіюча сталь		Оцинкована сталь	
	Величина корозії, $г/м^2\text{-рік}$	Швидкість корозії, $мг/м^2\text{-год}$	Величина корозії, $г/м^2\text{-рік}$	Швидкість корозії, $мг/м^2\text{-год}$
0,25	0,001	0,02	0,003	0,05
0,50	0,001	0,02	0,004	0,07
0,75	0,002	0,03	0,006	0,1
1,0	0,003	0,05	0,008	0,14
Контроль: дистильована вода	0,001	0,02	0,001	0,02

Примітка: норма – величина корозії – 2,0 $г/м^2\text{-рік}$; швидкість корозії – 6,0 $мг/м^2\text{-год}$.

З даних табл. 2 видно, що величина корозії 0,25 % розчину дезінфектанту щодо нержавіючої сталі становила 0,001 $г/м^2\text{-рік}$, що практично в 2000 разів менше, ніж допускається для даного металу. Водночас у 1,0 % розчину засобу величина корозії збільшилася в 3 рази, але вона все одно була несуттєва. Швидкість корозії нержавіючої сталі також зростала зі збільшенням концентрації розчину з 0,25 до 1,0 %, проте вона також була в сотні разів більша за норму.

Оцинкована сталь вважається більш сприятливою до корозії, ніж нержавіюча сталь. Із досліджень видно, що величина корозії оцинкованої сталі за впливу 0,25 % розчину “Ензидезу” становила 0,003 %, що в три рази більше порівняно з нержавіючою сталлю. Водночас за 1,0 % концентрації “Ензидезу” величина корозії оцинкованої сталі становила 0,008 %, що в середньому в 2,7 рази більше, ніж у 0,25 % розчину деззасобу. Аналогічні зміни відбувалися щодо зміни швидкості корозії на оцинкованій сталі. Проте за усіх концентрацій, взятих у дослід, величина і швидкість корозії деззасобу щодо оцинкованої сталі була в сотні разів нижчою за допустимі значення.

Отже, дослідження вказують, що розроблений дезінфікуючий засіб із вмістом ЧАС, похідних гуанідину, протеолітичних і ліполітичних ензимів за корозійною активністю щодо оцинкованої і нержавіючої сталі вважається слабо корозійноактивним та може застосовуватися протягом тривалого часу щодо даних видів сталі.

Дезінфікуючий засіб “Ензидез” у своєму складі містить протеолітичний ензим для руйнування матриксу біоплівкових форм бактерій, а також для посилення його активності за органічного забруднення поверхонь. Мікробіологічні дослідження щодо впливу його на бактерії у біоплівках виявили високу його активність щодо деградації матриксу і бактерицидної дії. Для додаткової характеристики дії засобу за вмісту органічних забруднень нами було визначено його протеолітичну активність щодо розкладання молочних білків.

На першому етапі даного дослідження було визначено оптимальну температуру протеолітичної активності деззасобу “Ензидез” за концентрації розчинів від 0,5 до 1,0 %. У дослідженнях використали молоко з вмістом 0,5 % жиру та масовою часткою білка 3,0 %. Протеолітичну активність визначали через 15 та 30 хв експозиції, тобто протягом часу, за якого засіб проявляв бактерицидну концентрацію на поверхнях тест-об’єктів. Результати отриманих даних за 15 хв дії дезінфектанту наведено на рис. 3.

З дослідження (рис. 3) видно, що протеолітична активність “Ензидезу” залежала в основному від температури розчину та меншою мірою від збільшення концентрації з 0,5 % до 1,0 %. Зокрема за температури 20 ± 1 °C протеолітична активність становила від $41,3 \pm 0,4$ % для 0,5 % розчину до $43,1 \pm 0,5$ % для 1,0 % розчину. Збільшення температури розчинів “Ензидезу” посилювало його протеолітичну актив-

ність, яка за $+40 \pm 1$ °C зростала в середньому на 10 % порівняно з активністю за температури $+20 \pm 1$ °C. Найвища протеолітична активність 0,5–1,0 % розчинів засобу “Ензидез” становила за температури $+60 \pm 1$ °C – від $63,7 \pm 0,5$ % до $65,1 \pm 0,6$ % відповідно, що в середньому на 22 % більше проти активності даних розчинів за температури 20 ± 1 °C. Збільшення температури розчинів дезінфектанту до 70 ± 1 °C практично загальмувало дію протеолітичних ензимів засобу, в результаті чого активність становила від $8,7 \pm 0,2$ % до $11,2 \pm 0,2$ %. Це пояснюється денатураційними змінами, які виникають у первинній структурі молекул ензиму під дією температури. Отже, збільшення температури розчинів деззасобу “Ензидез” вище ніж $+60$ °C буде призводити до інгібування наявних у його складі ензимів.

Результати дослідження з визначення протеолітичної активності Ензидезу протягом 30 хв експозиції наведено на [рис. 3](#).

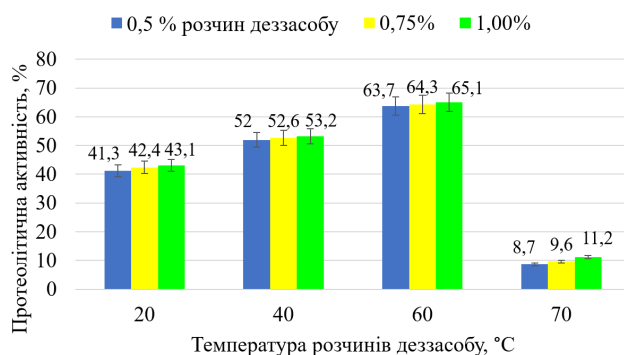


Рис. 3. Протеолітична активність деззасобу “Ензидез” за різних температур і концентрацій та тривалості дії 15 хв, $n = 36$

Результати дослідження з визначення протеолітичної активності Ензидезу протягом 30 хв експозиції наведено на [рис. 4](#).

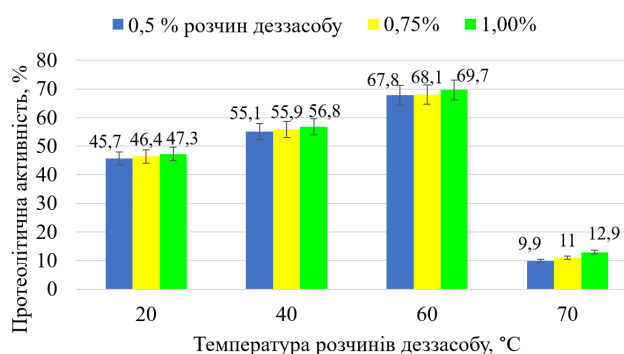


Рис. 4. Протеолітична активність деззасобу “Ензидез” за різних температур і концентрацій та тривалості дії 30 хв, $n = 36$

Встановлено ([рис. 4](#)), що збільшення часу експозиції дезінфектанту до 30 хв посилювало його протеолітичну активність порівняно з п'ятнадцятихвилинною дією. Зокрема, протеолітична активність 0,5–1,0 % розчинів деззасобу за температури 20 ± 1 °C становила від $45,7 \pm 0,3$ % до $47,3 \pm 0,4$ %, що на

4,3 % більше, ніж активність даних розчинів протягом 15 хв експозиції. Подібні зміни відбувалися і при визначенні протеолітичної активності за $+60 \pm 1$ °C протягом 30 хв, так, при даній температурі найвищу активність протеолізу виявляли у 1,0 % розчину – $69,7 \pm 0,6$ %, що на 4,6 % більше, ніж протягом 15 хв впливу засобу.

Отже, з проведеного дослідження випливає, що дезінфікуючий засіб “Ензидез” проявляє високу протеолітичну активність як за 0,5 %, так і за 1,0 % концентрації та часу дії протягом 15–30 хв. Збільшення концентрації розчинів засобу з 0,5 до 1,0 % призводило до зростання протеолітичної активності в середньому на 2 %, а збільшення тривалості експозиції з 15 до 30 хв посилювало протеоліз на 4,2–4,6 %. Водночас найбільший вплив на процес протеолітичної активності мала температура розчинів деззасобу. Зокрема, підвищення температури з $+20$ °C до $+60$ °C призводило до зростання протеолітичної активності Ензидезу в середньому на 20 %.

Обговорення

Під час розробки дезінфікуючих засобів обов'язковою складовою лабораторних досліджень є визначення фізико-хімічних показників, які дозволяють глибше зрозуміти механізми їхньої дії та в подальшому розробити оптимальні режими застосування. Розроблений нами дезінфікуючий засіб з ензимами – “Ензидез” для дезінфекції у клініках ветеринарної медицини для передстерилізаційної обробки та стерилізації ветеринарних виробів, інструментів хірургічного призначення (пластмаса, гума, скло, нержавіюча сталь) та об'єктів ветеринарного нагляду (столи, інвентар, стіни, підлога, двері, вікна, тощо) з органічним навантаженням виявився добре розчинним у воді та має рН 0,25 – 1,0 % розчинів в межах 8,2–8,0 од. У рекомендаціях щодо оцінки дезінфікуючих засобів ([Perkii et al., 2012](#)) робочі розчини їх повинні добре розчинятися у водопровідній воді, мати низький поверхневий натяг (нижче ніж 60 мН/м) та краєвий кут змочування нижче ніж 90 град. Отримані нами дослідження виявили, що засіб “Ензидез” навіть за 0,25 % концентрації та температури розчинів $+20 \pm 1$ °C мав поверхневий натяг $37,63 \pm 0,50$ мН/м та краєвий кут змочування $69,5 \pm 0,7$ град. Це дає підставу вважати, що обробка робочих поверхонь даним засобом буде забезпечувати добре змочування поверхні та додатково до дезінфікуючої дії забезпечувати мийний ефект. У дослідженнях вчених ([Salata et al., 2018](#)) повідомляється, що мийно-дезінфікуючі засоби “Сандез”, “Сан-актив”, які містять ЧАС та луг, проявляють мийні властивості. Інші автори ([Verkholyuk et al., 2020](#)) зазначають, що засіб “Мілкодез”, який містить похідні гуанідину та ортофосфорну кислоту, також проявляв відмінний мийний ефект. У нашому деззасобі “Ензидез” у складі наявні ЧАС, похідні гуанідину, мийний ефект на оцінку відмінно проявлявся тільки за концентрації розчинів 1,0 % і вище. Тому ми можемо вважати, що розроблений нами дезінфікуючий засіб проявляє мийний ефект, але це його додаткова властивість, яка

посилить його активність під час застосування. Дезінфікуючі засоби, які рекомендуються для обробки металевих поверхонь, повинні бути слабкорозійно активними. При оцінці корозійної дії Ензидезу в концентрації розчинів від 0,25 до 1,0 % величина корозії на нержавіючу сталь була в сотні разів нижчою за допустиму нормативну межу. За впливу на оцинковану сталь дещо вища, ніж на нержавіючу, але також в декілька десятків нижча за норму. Низька корозійна активність Ензидезу пов'язана з наявністю у його складі антикорозійних добавок, тому застосування засобу у виробничих умовах не буде спричиняти швидкого зношування металевих обладнання та інструментів.

Новизна складу дезінфікуючого засобу “Ензидез” полягає у поєднанні ЧАС, похідних гуанідину, протеолітичних і гліколітичних ензимів. Саме наявність ензимів у складі деззасобу дозволяє руйнувати захисний пептидносахаридний матрикс мікробної біоплівки на поверхнях, що обробляються, і тим самим поліпшувати контакт дезінфектанта з мікробними клітинами. Адже успішна боротьба з мікроорганізмами, які перебувають у біоплівках, можлива за умови застосування дезінфікуючих засобів, які руйнують екзополісахаридний матрикс (Kukhtyn et al., 2021). Дослідження з визначення протеолітичної активності деззасобу “Ензидез” щодо білків молока виявило, що дезінфектант розщеплював білки за концентрації розчинів 0,5–1,0 % за температури + 20 °C на 41,3–43,1 % відповідно протягом 15 хв експозиції. Проте збільшення температури розчинів до + 60 °C та експозиції 30 хв забезпечувало зростання протеолітичної активності до 70 %. Про високу протеолітичну ефективність мийних засобів із ензимами для санітарної обробки у молочній промисловості повідомляють дослідження (Shynkaruk et al., 2018), відповідно у засобу “Ензимий” із вмістом протеолітичного ензиму відбувався значний протеоліз молочно-білкових залишків. Це дає підставу вважати, що дезінфікуючі засоби із ензимами будуть мати значні перспективи у ветеринарній медицині в боротьбі з мікробними біоплівками на об'єктах ветеринарного нагляду.

Висновки

Таким чином, для забезпечення найефективнішої дії деззасобу на об'єктах з органічним забрудненням доцільно підвищити температуру робочих розчинів до +60 °C з часом експозиції 30 хв. За такого режиму відбувається приблизно на 70 % розкладання білкових речовин, що в кінцевому підсумку зумовить кращий контакт дезінфікуючої речовини з мікробними клітинами.

Отже, “Ензидез” є високоактивним деззасобом для дезінфекції поверхонь навіть за органічного забруднення.

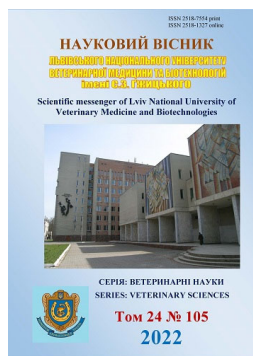
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abdallah, M., Benoliel, C., Drider, D., Dhulster, P., & Chihib, N-E. (2014). Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. *Archives Microbioljgy*, 196(7), 453–472. DOI: 10.1007/s00203-014- 0983-1.
- Berhilevych, O. M., Kasianchuk, V. V., Kukhtyn, M. D., Lotskin, I. M., Garkavenko, T. O., & Shubin P. A. (2017). Characteristics of antibiotic sensitivity of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy farms in Ukraine. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(4), 559–563. DOI: 10.15421/021786.
- Chechet, O., Kovalenko, V., Haidei, O., & Krushelnyska, O. (2021). Research of safety and toxicity of drug “Biozapin”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(103), 157–161. DOI: 10.32718/nvlvet10322.
- Cheshkova, A V. (2007). *Fermentyi i tehnologii dlya tekstilya, moyuschih sredstv, kozhi, meha*. Irkutsk: GOUVPO IGHTU (in Russian).
- Du, Y., Lv, X.-T., Wu, Q. Y., Zhang, D.-Y., Zhou, Y.-T., Peng, L., & Hu, H.-Y. (2017). Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review. *Journal of Environmental Sciences*, 58, 51–63. DOI: 10.1016/j.jes.2017.01.013.
- Hemati, S., Kouhsari, E., Sadeghifard, N., Maleki, A. Omid, N., Mahdavi, Z., & Pakzad, I. (2020). Sub-minimum inhibitory concentrations of biocides induced biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *New Microbes and New Infections*, 38, 100794. DOI: 10.1016/j.nmni.2020.100794.
- Jin, M., Liu, L., Wang, D., Yang, D., Liu, W., & Li, J. (2020). Chlorine disinfection promotes the exchange of antibiotic resistance genes across bacterial genera by natural transformation. *The ISME Journal*, 14, 1847–1856. DOI: 10.1038/s41396-020-0656-9.
- Kovalenko, V. L., Kovalenko, P. L., Ponomarenko, G. V., Kukhtyn, M. D., Midyk, S. V., Horiuk, Yu. V., & Garkavenko, V. M. (2018). Changes in lipid composition of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* cells under the influence of disinfectants Barez, Biochlor and Geocide. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 547–550. DOI: 10.15421/2018_248.
- Kovalenko, V. L., Chekhun, A. I., Yarokhno, Ya. M., Hnatenko, A. V., Pushchuk, Yu. I., & Savchenko, L. H. (2011). Vyznachennia bakterytsydnosti kompleksnoho dezinfikuiuchoho preparatu na osnovi polihexametylenhuanidyn hidrokhloryda. *Veterynarna biotekhnolohiia Biuletyn*, 18, 106–110 (in Ukrainian).
- Kozhyn, V., Kukhtyn, M., Horiuk, V., Vichko, O., & Kryzhanivsky, Y. (2021). The activity of the disinfectant “Enzidez” against bacteria in biofilms. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 23(101), 67–74. DOI: 10.32718/nvlvet10112.
- Kukhtyn, M., Kozhyn, V., Horiuk, V., Malimon, Z., Horiuk, Y., Yashchuk, T., & Kemychnyi, S. (2021). Activity of disinfecting biocides and enzymes of proteases and amylases on bacteria in biofilms. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 27(4), 495–502. DOI: 10.9775/kvfd.2021.25770.

- Lineback, C. B., Nkemngong, C. A., & Wu, S. T. (2018). Hydrogen peroxide and sodium hypochlorite disinfectants are more effective against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms than quaternary ammonium compounds. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 7, 154. DOI: 10.1186/s13756-018-0447-5.
- Mitskyavichyus, E. K., & Bingyalene, I. B. (1984). Litovskiy filial vsesoyuznogo nauchno-issledovatel'skogo instituta masloodel'noy i syirodel'noy promyshlennosti. Sposob opredeleniya proteoliticheskoy aktivnosti moyuschih sredstv, sodержaschih fermenty. Patent SU No 1065742 A. 1984 Ver 1 (in Russian).
- Palii, A. P., Kovalenko, V. L., Ponomarenko, G. V., Kukhtyn, M. D., Paliy, A. P., Bodnar, O. O., Rebenko, H. I., Kozyt'ska, T. G., Makarevich, T. V., & Ponomarenko, O. V. (2020). Evaluation of acute toxicity of the "Orgasept" disinfectant. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(4), 273–278. DOI: 10.15421/2020_199.
- Perkii, Yu. B., Kryzhanivskiy, Ya. Y., Kryvokhyzha, Ye. M., Motkaliuk N. F., & Kukhtyn, M. D. (2012). Otsinka prydatnosti ta efektyvnosti myinykh, dezinfikuiuchykh i myino-dezinfikuiuchykh zasobiv dlia sanitarnoi obrobky doil'noho ustatkuvannia ta molochnoho inventaria. Metodichni rekomendatsii. Ternopil: TDS IVM (in Ukrainian).
- Poppendieck, D., Hubbard, H., & Corsi, R. L. (2021). Hydrogen Peroxide Vapor as an Indoor Disinfectant: Removal to Indoor Materials and Associated Emissions of Organic Compounds. *Environmental Science & Technology Letters*, 8(4), 320–325. DOI: 10.1021/10.3382/ps.2014-03920.
- Salata, V., Kukhtyn, M., Pekriy, Yu., Horiuk, Yu., & Horiuk, V. (2018). Activity of washing-disinfecting means "San-active" for sanitary treatment of equipment of meat processing enterprises in laboratory and manufacturing conditions. *Ukrainian journal of veterinary and agricultural sciences*, 1(1), 10–16. DOI: 10.15421/ujvas1-1.02.
- Salata, V. Z., Kukhtyn, M. D., & Perkii, Yu. B. (2016). Sposib vyznachennia myinykh vlastyvostei myinykh i myino-dezinfikuiuchykh zasobiv dlia sanitarnoi obrobky tekhnolohichnoho obladnannia u miasnii promyslovosti. Patent Ukainy No 112503. 2016 Ver 24 (in Ukrainian).
- Salata, V. Z. (2015). Fizyko-khimichni vlastyvosti myino-dezinfikuiuchoho zasobu "San-aktiv" dlia sanitarnoi obrobky na pidpriemstvakh miasnoi promyslovosti. Visnyk Zhytomyr'skoho natsional'noho ahroekolohichnoho universytetu "Veterynarna medytsyna". Naukovo-teoretychnyi zbirnyk, 1(49), 272–277 (in Ukrainian).
- Soltys, M. P., Rudyk, H. V., Gunchak, V. M., & Gutyi, B. V. (2019). Embryotoxic and teratogenic effects of Vitosept on white rats. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 5(4), 22–26. DOI: 10.36016/JVMBBS-2019-5-4-6.
- Soltys, M., Gunchak, V., Rudyk, H., & Vasiv, R. (2020). Dynamics of morphological and biochemical parameters in the blood of white mice under the action of the drug "Vitosept". *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(99), 167–172. DOI: 10.32718/nvlvet9925.
- Shynkaruk, O. Yu., Kukhtyn, M. D., Vichko, O. I., Shved, O. V., & Marintsova, N. H. (2018). Kharakterystyka myinoho zasobu "enzymy" za zdatnistiu ruinuvannia mikrobykh bioplivok. Visnyk Natsional'noho universytetu "Lviv'ska politekhnika". Seriya Khimiia, tekhnolohiia rechovyn ta yikh zastosuvannia, 886, 158–162 (in Ukrainian).
- Verkholyuk, M., Peleno, R., & Turko, I. (2020). Resistance of *S. aureus* Atcc 25923, *E. coli* 055k59 No. 3912/41 and *P. aeruginosa* 27/99 to the Wash-disinfectant "Milkodez". *EUREKA: Health Sci*, 1, 55–60. DOI: 10.21303/2504-5679.2020.001100.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10502

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616-007.44:636.7

Pathomorphological changes in German boxer dog infected with *Babesia canis* parasites. Clinical case

O. Shchepentovska[✉], B. Prus, M. Danko

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

Article info

Received 03.01.2022

Received in revised form

07.02.2022

Accepted 08.02.2022

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-701-81-46
E-mail: schepentovskaolga@gmail.com

Shchepentovska, O., Prus, B., & Danko, M. (2022). Pathomorphological changes in German boxer dog infected with *Babesia canis* parasites. Clinical case. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 10–17. doi: 10.32718/nvlvet10502

The article covers the results of a comprehensive pathomorphological study of *Babesia canis* parasitic infestation in a dog of the German boxer breed. In April 2020, a male German boxer with pronounced clinical signs of anorexia, remitting fever, hematuria, and manifestations of general jaundice was admitted to the Dr. Markevych clinic (Lviv). The anamnesis evidenced that after daily walks in the park of Lychakiv district (Lviv) the pet's owner had been detecting 3–5 Ixodes ticks on the dog's body for several days in a row. Cytological examination of blood smears stained by the Romanovsky–Giemsa method revealed a massive lesion of erythrocytes by the *Babesia canis* parasite. The applied treatment strategy, namely the introduction of the drug with the active substance imidocarb dipropionate, was not successful. The dog died in the clinic. An autopsy was performed in agreement with the pet owner. Macroscopic examination revealed foamy fluid in the trachea, pulmonary edema and lobar pneumonia, massive diffuse hemorrhages on the epicardium and costal pleura, splenomegaly, serous lymphadenitis, acute venous stasis, hepatic and renal dystrophy, and pancreonecrosis. General anemia and transudate accumulation in serous cavities were established. Tissue fragments of lungs, kidneys, liver, spleen, and pancreas were selected for a histopathological examination and fixed in 10 % neutral aqueous formalin solution, followed by dehydration in alcohols, filling into paraffin blocks and subsequent production of histopreparations. Staining was performed with eosin and Ehrlich's hematoxylin according to the conventional methods. Microscopically, the lungs showed the alveoli swelling, thickening of the alveoli walls with blood overflow, bronchioles' inflammatory infiltration with the accumulation of desquamated epithelium and exudate in the lumens of large bronchi. Extracapillary glomerulonephritis and hyaline-drop renal tubular dystrophy were observed in the kidneys. Vascular endothelium edema, granular hepatocyte dystrophy, sharp dilation of central vein and intraparticle and interparticle capillaries were found in the liver. Significant hyperplasia was observed in the red pulp of the spleen. Reticuloendothelial proliferation, erythrocyte proliferation with a diffuse accumulation of hemosiderophages due to increased erythrocyte disintegration, sinus dilatation, and atrophy of white pulp lymph nodes were also revealed.

Key words: Ixodes ticks, merozoites, hemolytic jaundice, splenomegaly, edema, glomerulonephritis.

Патоморфологічні зміни в собаки породи Німецький боксер за інвазії *Babesia canis*. Клінічний випадок

О. Щепентовська[✉], Б. Прус, М. Данко

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

У статті наведено результати комплексного патоморфологічного дослідження паразитарної інвазії, спричиненої *Babesia canis* у собаки породи Німецький боксер. У квітні 2020 року в клініку “Доктора Маркевича” (м. Львів) на огляд поступив самець

боксерів з вираженими клінічними ознаками анорексії, ремітуючої гарячки, гематурії та проявами загальної інтоксикації. З анамнезу стало відомо, що після щоденних прогулянок у парковій зоні Личаківського району м. Львова власник собаки кілька днів поспіль на тілі тварини знаходив по 3–5 іксодових кліщів. При цитологічному дослідженні у мазках крові, забарвлених за Романовським–Гімзою, встановлено масове ураження еритроцитів паразитом *Babesia canis*. Застосована стратегія лікування, а саме: введення препарату з діючою речовиною імідакарбодипропіонат не дала позитивного результату. Собака загинула в клініці. За погодженням з власником тварини проведено аутопсію. При макроскопічному дослідженні виявлено пінисту рідину в трахеї, набряк легень і лобарну пневмонію, масивні дифузні крововиливи на епікарді та костальній плеврі, спленомегалію, серозний лімфаденіт, гострий венозний застій та дистрофію печінки і нирок, панкреонекроз. Встановлено загальну анемію та накопичення трансудату в серозних порожнинах. Для патогістологічного дослідження відбирали фрагменти тканин (легені, нирки, печінку, селезінку та підшлункову залозу), які фіксували у 10 % нейтральному водному розчині формаліну з подальшою дегідратацією у спиртах, заливаю у парафінові блоки з подальшим виготовленням гістопрепаратів. Фарбування здійснювали гематоксиліном Ерліха та еозином за загальноприйнятими методами. Мікроскопічно в легенях виявляли набряк альвеол, потовщення їхніх стінок із переповненням їх кров'ю, запальну інфільтрацію бронхіол із накопиченням у просвітах великих бронхів десквамованого епітелію та ексудату. У нирках – розвиток екстракапілярного гломерулонефриту та гіаліно-крапельної дистрофії ниркових каналців. У печінці набряк ендотелію судин, різке розширення центральної вени, внутрішньочасточкових та міжчасточкових капілярів, зернисту дистрофію гепатоцитів. У червоній пульпі селезінки значна гіперплазія, виявили проліферацію ретикулоендотелію, збільшення кількості еритроцитів з дифузним згущенням гемосидерофагів внаслідок посиленого розпаду еритроцитів, розширення синусів та атрофію лімфоїдних вузликів білої пульпи.

Ключові слова: іксодові кліщі, мерозойти, гемолітична жовтяниця, спленомегалія, набряк, гломерулонефрит.

Вступ

Бабезіоз собак є достатньо поширеним гемопрозооїним захворюванням у світі, що характеризується вираженою сезонністю, ураженням тварин з ознаками інтоксикації, розвитком алергічних реакцій і, залежно від вірулентності та патогенності паразита, високою летальністю. Відомо, що у собак паразитує два види роду *Babesia* – *B. canis* і *B. gibsoni* (Nel et al., 2004). *Babesia canis* має три різних антигенних підвиди, а саме: *Babesia canis canis*, *B. canis rossi* та *B. canis vogeli*, які морфологічно схожі, але мають різну патогенність та різних господарів – іксодових кліщів роду *Rhipicephalus sanguineus* та *Dermacentor reticulatus* (Uilenberg et al., 1989). На сьогодні точну ідентифікацію підвидів *Babesia* проводять методом полімеразної ланцюгової реакції (Birkenheuer et al., 2003; Foldvari et al., 2005). Інвазія собак цими організмами спричинює захворювання бабезіоз, який проявляється у двох формах – неускладнена та ускладнена (Welzl et al., 2001; Loretti & Barros, 2005). За неускладненої форми бабезіозу клінічні прояви пов'язані в переважній більшості з розвитком гемолітичної анемії (Jacobson & Clark, 1994). За ускладненої форми розвивається “синдром системної запальної реакції” – як наслідок геморагічного шоку, спричиненого гемолізом еритроцитів та розвитком інсульту (Jacobson & Clark, 1994). Вважається, що множинна дисфункція органів за ускладненої форми бабезіозу виникає внаслідок запалення, що розвивається на фоні вторинної артеріальної гіпотензії, септичного шоку та може ускладнюватися патогенними мікроорганізмами (Loretti & Barros, 2005). Крім того, за бабезіозу собак, що спричинюється *B. canis*, виникає якісний і кількісний дефіцит гемоглобіну, особливо це виявляли в тварин за порушення функції дихальної системи (Taylor et al., 1993).

Щодо етіології бабезіозу, то вперше його описав румунський вчений Віктор Бабеш (Victor Babes) ще в 1888 році, коли за інфекційної гемоглобінурії худоби в Румунії виявив невеликі круглі утворення в крові. Проте вчений розглядав їх як розщеплені гриби і дав їм назву *Haematococcus bovis*. Протозойну природу збудника і поширення його кліщами встановили аме-

риканські вчені Фред Кілборн (Fred Kilborne) і Теобальд Сміт (Theobald Smith) у 1889 році, які вивчали захворювання худоби на побережжі Мексиканської затоки – “техаську лихоманку” і назвали її збудника *Piroplasma bigeminum*. У 1895 році в Італії вчені Піана (Piana) та Галлі Валеріо (Galli Valerio) в еритроцитах собаки виявили *Babesia canis*. Подібного паразита, Гатчеон (Hutcheon) описав у собак в Південній Африці 1899 року (Yabsley & Shock, 2013).

Сезонне збільшення кількості випадків захворювання собак на бабезіоз спричиняють відповідні кліматичні умови для розвитку іксодових кліщів – переносників збудників бабезіозу в паркових зонах великих міст. Саме тому постійний моніторинг епізоотичної ситуації захворюваності на бабезіоз собак у різних регіонах країни дає можливість розробити ефективні профілактично-лікувальні заходи.

Метою роботи було виявити в мазках крові, забарвлених за методом Романовського–Гімзи інтраеритроцитарних організмів *Babesia*, провести патологоанатомічний розтин собаки з відбором матеріалу для патогістологічного дослідження.

Матеріал і методи досліджень

Клінічне дослідження хворої собаки, забір, аналіз крові та фарбування мазків для виявлення методом світлової мікроскопії інтраеритроцитарних організмів *Babesia* проводили на базі ветеринарної клініки “Доктора Маркевича”, м. Львів, вул. Лисинецька 2а (Личаківський район м. Львова). Патологоанатомічний розтин проводили у секційному залі кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького, а патогістологічні дослідження – у навчально-дослідній лабораторії цієї ж кафедри. Паренхіматозні органи фіксували зануренням у 10 % нейтральному водному розчині формаліну. Через 2–4 доби після фіксації матеріал промивали та зневоднювали через висхідний ряд спиртів з подальшим заключенням у парафінові блоки. З отриманих блоків на мікротомі МС-2 виготовляли зрізи товщиною 7 мкм, які монтували на предметне скло, а після їх висихання та депарафінізації фарбували гема-

токсиліном Ерліха та еозином (Merkulov, 1969). Забарвлений мазок, виготовлений з крові, та гістопрепарати оглядали під мікроскопом Leica DM-2500 з камерою Leica DFC450C.

Результати та їх обговорення

Аналізуючи цитогематологічні мазки крові, відібрані за життя у собаки і до моменту застосування протипротозойного препарату, виявляли значне ураження еритроцитів паразитом з домінуючою морфологічною ознакою – грушоподібною формою мерозоїтів (рис. 1). Мерозоїти в переважній більшості були

парними, розташовувалися в еритроцитах, рідко позаклітинно. Проте виявляли і поодинокі форми. Така інтенсивна паразитемія зазвичай призводила до руйнування еритроцитів, їх гемолізу з подальшим розвитком анемії та гемолітико-уремічного синдрому.

При проведенні патологоанатомічного розтину було встановлено іктеричність видимих слизових оболонок кон'юнктиви очей, ротової порожнини (рис. 2 А, Б) та анемічність. При відпрепаруванні шкіри наявне охряно-жовте забарвлення підшкірної клітковини та жирової тканини, набряки в ділянці шії. В грудній та черевній порожнині реєстрували незначну кількість кров'яного ексудату (рис. 3).

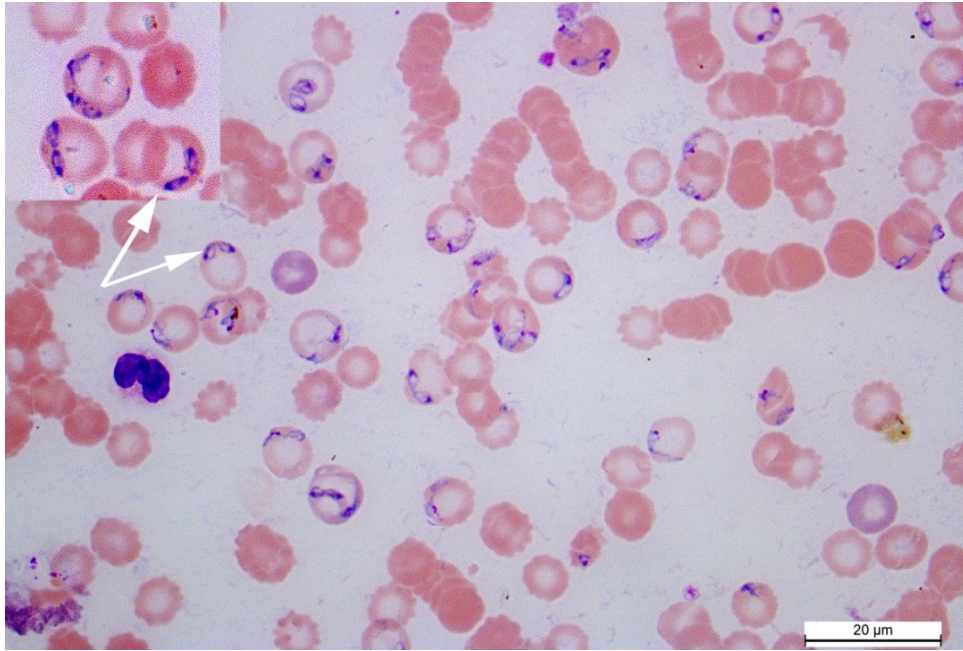


Рис. 1. *Babesia canis* у еритроцитах крові собаки породи Німецький боксер (показано стрілками)



Рис. 2. Іктеричність слизової оболонки ротової порожнини (А) та очей (Б)



Рис. 3. Кров'яний ексудат в черевній порожнині (стрілка)

За макроскопічного дослідження селезінки встановлено, що орган збільшений із заокругленими краями, повнокровний, темно-вишневого кольору з крайовими інфарктами, капсула гладка (рис. 4). З повер-

хні розрізу стікала темна, густа кров'яниста маса. Темно-червоного кольору пульпа розм'якшена, залишала значний зішкріб на поверхні леза ножа. Нирки кровонаповненні, темно-коричневого кольору, капсу-

ла знімалась легко. На розрізі границя між кірковою та мозковою речовинами дещо стерта, наявні дифузні крововиливи у кірковій речовині (рис. 5). Печінка збільшена, неоднорідно забарвлена у коричневий колір з вишневим відтінком, краї заокруглені, за пальпації дещо ущільнена (рис. 6). На розрізі виділялась значна кількість крові, малюнок органа збережений. Жовчний міхур переповнений густою зеленою жовчю. Сечовий міхур розтягнутий, заповнений сечею коричнево-червоного кольору, стінки його

потовщені, набряклі. У трахеї була наявна піниста рідина. Легені повнокровні, темно-червоні, місцями ущільнені. На розрізі при натисканні виділялась кров. У пробі з плаванням фрагменти легеневої тканини занурено плавали. При дослідженні серця виявлено накопичення трансудату в серцевій сорочці. Судини серця розширені, кровонаповнені. На епікарді та клапанах серця наявні масивні крововиливи (рис. 7 А, Б), міокард дряблий, дистрофічно змінений.

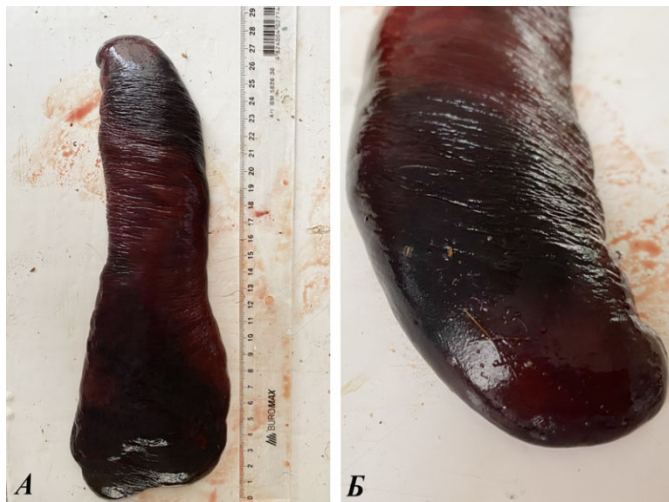


Рис. 4. Селезінка. Спленомегалія (А), крайові інфаркти (Б)

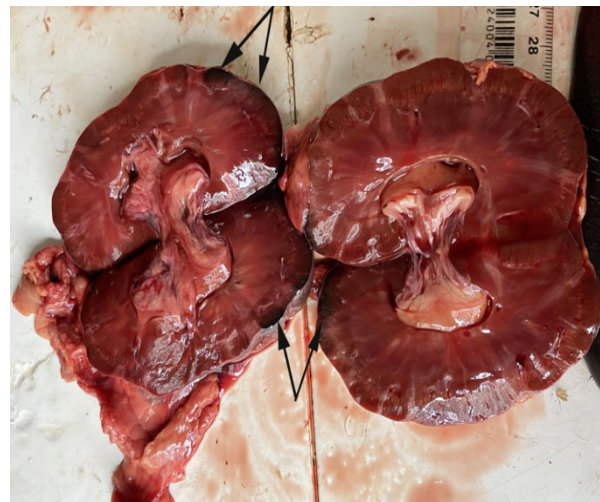


Рис. 5. Нирки. Крововиливи в кіркову речовину (стрілки)



Рис. 6. Гострий венозний застій та дистрофія печінки

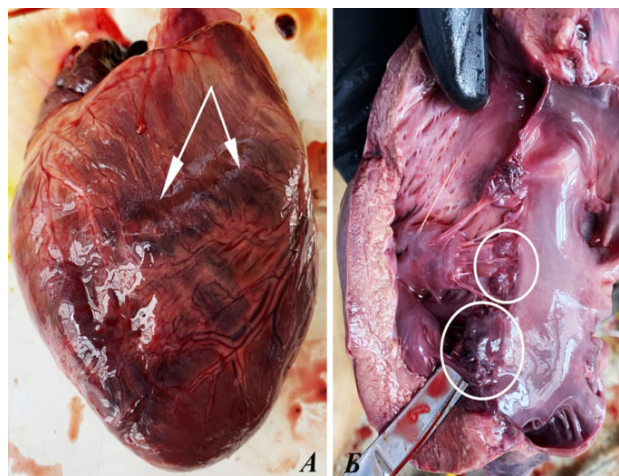


Рис. 7. Серце. Крововиливи на епікарді (стрілки), переповнення коронарних судин (А). Крововиливи на клапанах серця (Б)

Мікроскопічно у просвіті капсули Шумлянського–Боумена ниркових тілець виявляли нагромадження оксифільних мас, що розміщувались у вигляді півмісяців, які щільно прилягали до парієтального листка, судинне сплетіння капілярів таких тілець здавлені і відтиснуті до судинного полюса (рис. 8). Мембрана капсули Шумлянського–Боумена розтягнута, витончена. Епітелій парієтального листка, внаслідок тиску білкових мас, дещо сплюснений. Виявляли розширення і переповнення кров'ю кровососних судин і клубочкових капілярів. У просвіті проксимальних та диста-

льних каналців наявні великі оксифільні гіаліноподібні краплі. Цитоплазма епітеліоцитів слабооксифільна, ядра гіперхромні (рис. 9). Епітеліальні клітини збільшені в об'ємі, межі їх нечіткі, просвіти окремих каналців звужені. Характерним було порушення кровообігу з ознаками підвищеної проникності судин у вигляді множинних геморагій (рис. 10). Судини підшлункової залози розширені, стінки потовщені, розволончені, набряклі з вираженим застійним повнокрів'ям (рис. 11). Місцями виявляли порушення їхньої цілісності з вираженим периваскулярним набряком.

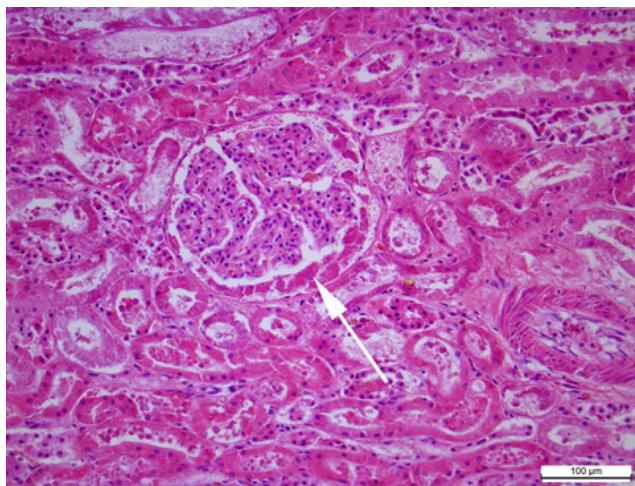


Рис. 8. Екстракапілярний гломерулонефрит. Нагромадження білкових мас (показано стрілкою). Гематоксилін та еозин

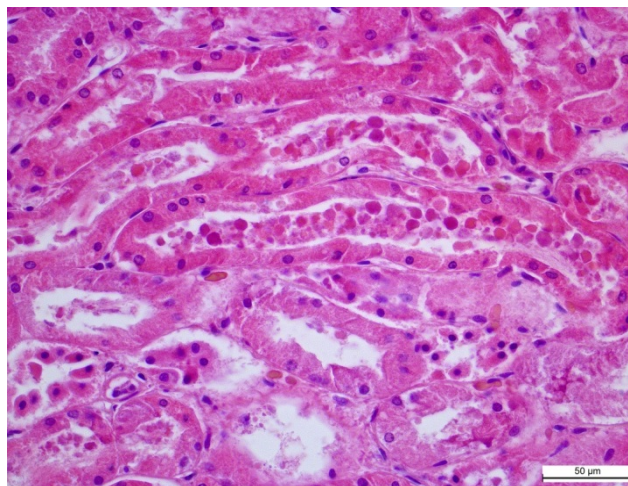


Рис. 9. Нирка. Гіаліново-крапельна дистрофія епітеліоцитів каналців. Гематоксилін та еозин

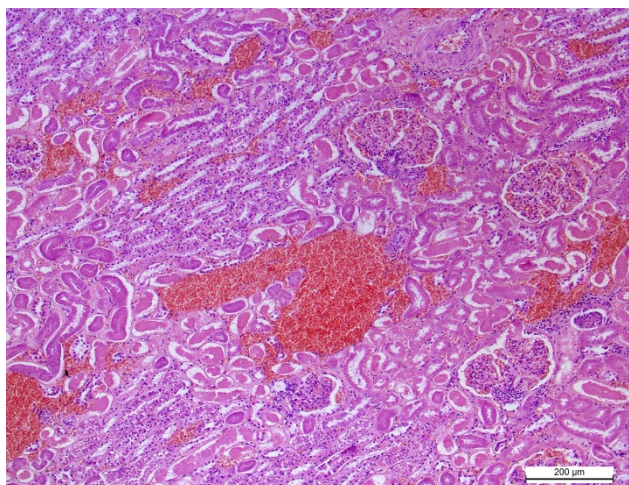


Рис. 10. Нирка. Виразене повнокрів'я мікроциркуляторного русла з вогнищами діapedезних крововиливів. Гематоксилін та еозин

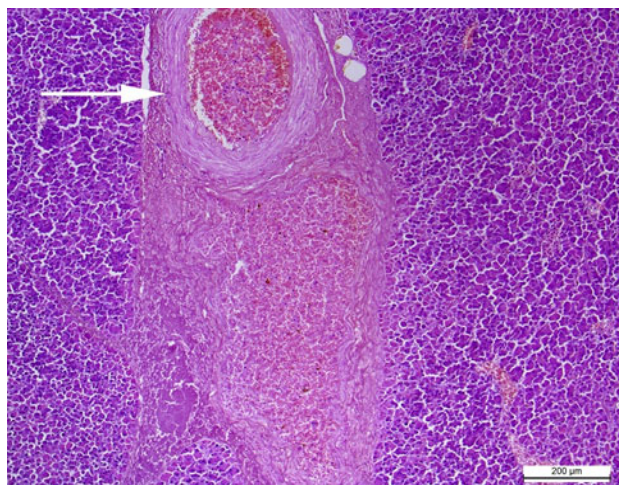


Рис. 11. Підшлункова залоза. Розволокнення стінок судин (показано стрілкою). Периваскулярний набряк. Гематоксилін та еозин

У верхівкових частках легень при гістологічному дослідженні виявляли морфологічні ознаки дифузного внутрішньоальвеолярного та інтерстиціального набряку. Просвіт альвеол заповнений блідо-рожевого кольору набряковою рідиною (рис. 12). Капіляри стінок альвеол середніх часток сильно розтягнуті і заповнені кров'ю (рис. 13), просвіти більшості альвеол невеликих округлих розмірів. Міжальвеолярні перегородки деформовані та потовщені за рахунок запально-клітинної інфільтрації, представленої макрофагами та лімфоїдними клітинами. Крім того, встановлено гіперплазію бронхіолярного епітелію з десквамацією його у просвіт бронхів. Запальна інфільтрація стінок бронхіол із накопиченням переважно змішаного ексудату у просвітах великих бронхів (рис. 14). У печінці в центральній частині часточок, між сильно переповненими кров'ю судинами, проглядались деформовані та атрофовані гепатоцити. Внутрішньочасточкові та міжчасточкові капіляри розширені, заповнені еритроцитами (рис. 15). Контури гепатоцитів нечіткі, цитоплазма зерниста, ядра пікнотичні.

Гістологічно в селезінці яскраво виражений набряк судин і синусів, капсула потовщена. Спостерігали інтенсивну проліферацію ретикулоендотелію, синуси переповнені еритроцитами. Лімфоїдні вузлики білої пульпи в стані атрофії з ознаками вираженої делімфатизації. Дифузно в паренхімі органу виявляли скупчення буро-коричневих гранул – гемосидерофагів.

Як стверджують ряд авторів, сприятливі кліматичні зони у деяких географічних регіонах України сприяють поширенню певних популяцій кліщів, які відіграють важливу роль у частоті зараження гемопротозойною інфекцією – бабезіозом (Gryshchenko & Bilokur, 2021). Клінічна картина даного захворювання у собак може бути різноманітною, проте класично описують його як захворювання, що перебігає з підвищенням температури з подальшим розвитком яскраво вираженої анемії (Solano-Gallego & Baneth, 2011; Ord & Lobo, 2015). Морфологічну диференціацію організмів роду *Babesia* все частіше проводять з використанням молекулярної діагностики. Адже різні види *Babesia* викликають не тільки відмінні клінічні про-

яви, а їй потребують різних профілактично-лікувальних заходів. Відомо, що *B. rossi* є найбільш патогенним видом, спричинюючи гостру ниркову недостатність і гострий респіраторний дистрес-синдром, а *B. vogeli* є найменш патогенним, спричинюючи у дорослих собак легкі клінічні прояви захворювання (Gray, 2004; Furlanello et al., 2005). Найчастіше собаки інфікуються організмами *Babesia* у віці від 3 до 5 років (Huber et al., 2017). У своїх дослідженнях (Irwin & Hutchinson, 1991) не виявили різниці у статевій сприйнятливості між самками та самцями,

проте моніторингові дослідження вказують на деяку породну сприйнятливість – німецькі вівчарки виявилися породою з найвищим рівнем зараження у світі (Jacobson et al., 2000; Laha et al., 2014). Аналіз цитологічної картини у мазках крові хворих собак свідчить про переважання організмів виду *B. canis*, морфологія яких є дещо змінною – від “великих” до “малих” форм, що виявляли у собак до та після лікування. Таку морфологічну відмінність форми та розмірів мерозоїтів *B. canis* автори пояснювали генералізованою гіпоксією (Ayoob et al., 2010).

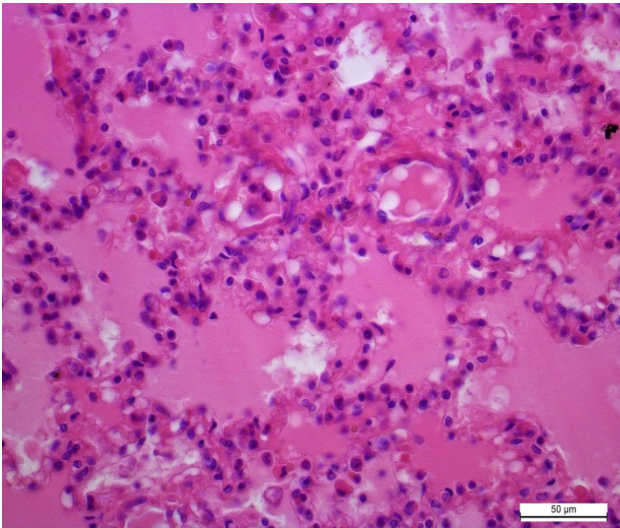


Рис. 12. Легені. Внутрішньо-альвеолярний набряк. Гематоксилін та еозин

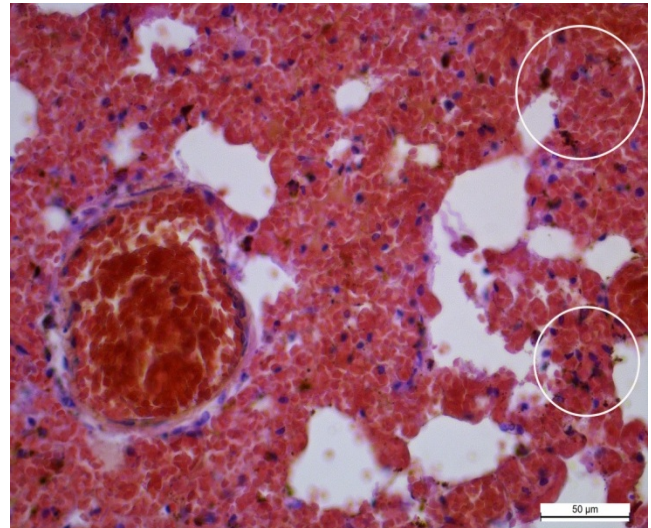


Рис. 13. Легені. Потовщення і деформація міжальвеолярних перегородок, переповнення їх кров'ю. Гемосидерин (позначення в колі). Гематоксилін та еозин

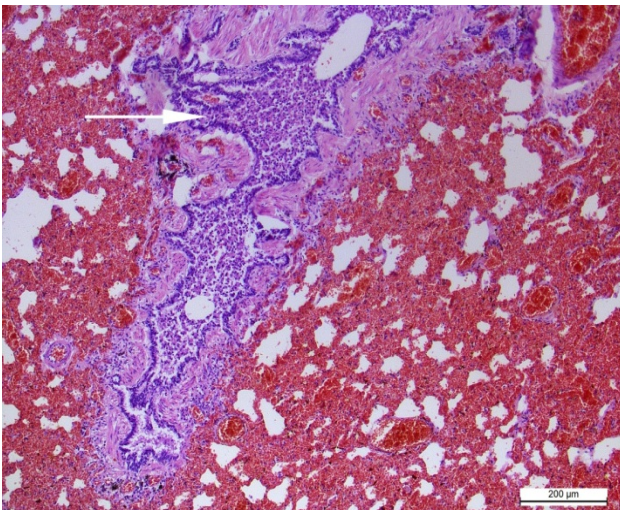


Рис. 14. Легені. Інфільтрація стінок великих бронхів із накопиченням ексудату в просвіті. Гематоксилін та еозин

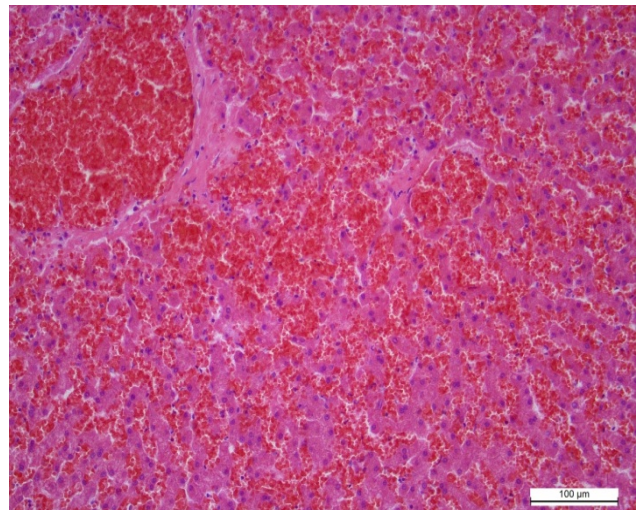


Рис. 15. Печінка. Гострий венозний застій. Гематоксилін та еозин

При дослідженні патологоанатомічних змін у собак, які загинули від гострої форми бабезіозу, різні автори фіксували набряк легень, який розвивався на фоні підвищеної проникності ендотелію, що є результатом вивільнення цитокінів, оксиду азоту, вільних кисневих радикалів і фактора активації тромбоцитів (Jacobson & Clark, 1994). Крім того, виявляли також і

ураження печінки (Welzl et al., 2001). Автори таких досліджень стверджують, що печінка дуже чутлива до пошкоджень, спричинених системною запальною реакцією за бабезіозу собак. Експериментальне дослідження ураження собак *B. Gibsoni* показало подібні гістопатологічні ураження печінки (Wozniak et al.,

1997). Це, ймовірно, вказує на пряме ураження печінки паразитом (Taylor et al., 1993; Bilić et al., 2018).

Із типових клінічних проявів за бабезіозу є респіраторні синдроми, які характеризуються задишкою та виділеннями з носа. На розтині також виявляли пінисту рідину в легенях, а гістологічно спостерігали набряк легенів за наявності дифузного набряку збільшених альвеол з масивною міжсептальною клітинною інфільтрацією (Omobowale et al., 2017). Інтерстиціальна пневмонія в таких випадках могла бути викликана одним із двох факторів: підвищенням проникності альвеолярних капілярів або підвищенням гідростатичного тиску, як наслідок гострого респіраторного дистрес-синдрому ускладненого бабезіозом у собак (Jacobson & Clark, 1994). Подібні геморагічні, некротичні та запальні реакції були зареєстровані в серцях собак з діагнозом бабезіоз (Loretti & Barros, 2005; Huber et al., 2017).

Висновки

1. Клінічні ознаки захворювання бабезіозу собак проявляються підвищенням температури, анемією, гематурією та жовтяницею. Важкість клінічних проявів залежить від патогенності збудника і може призводити до поліорганичних патологій.

2. Світлова мікроскопія мазків крові від хворих собак є високоспецифічною для ідентифікації бабезій, але не рекомендується як єдиний скринінговий метод. Проте виявлення крупних грушоподібних мерозоїтів дає можливість спрогнозувати найпоширеніший вид *B. canis*.

3. Патологоанатомічно за важкої форми бабезіозу виявляли спленомегалію, набряк легень та пневмонію, дифузні крововиливи на серозних покриттях, дистрофію печінки та нирок.

4. Патогістологічно за бабезіозу в собак виявляли розвиток екстракапілярного гломерулонефриту, гіаліново-крапельну дистрофію каналців, гіперплазію та набряк бронхіального епітелію, запальну інфільтрацію бронхіол та міжальвеолярних перегородок, заповнення набряковою рідиною просвітів альвеол. В селезінці, печінці та підшлунковій залозі – набряк та розволокнення стінок судин.

Перспективи подальших досліджень. Проведення моніторингових цитологічних досліджень крові собак у Личаківському районі м. Львова на наявність внутрішньокішечних паразитів *Babesia canis*.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

Ayoob, A. L., Hackner, S. G., & Prittie, J. (2010). Clinical management of canine babesiosis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20(1), 77–89. DOI: 10.1111/j.1476-4431.2009.00489.x.

Bilić, P., Kuleš, J., Barić R. R., & Mrljak, V. (2018). “Canine Babesiosis: Where Do We Stand?”. *Acta Veterinaria*, 68(2), 127–160. DOI: 10.2478/acve-2018-0011.

Birkenheuer, A. J., Levy, M. G., & Breitschwerdt, E. B. (2003). Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. *J. Clin. Microbiol.*, 41, 4172–4177. DOI: 10.1128/JCM.41.9.4172-4177.2003.

Foldvari, G., Hell, E., & Farkas, R. (2005). *Babesia canis canis* in dogs from Hungary: Detection by PCR and sequencing. *Vet. Parasitol.*, 127, 221–226. DOI: 10.1016/j.vetpar.2004.10.016.

Furlanello, T., Fiorio, F., Caldin, M., Lubas, G., & Solano-Gallego, L. (2005). Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* from dogs of northeastern Italy. *Veterinary Parasitology*, 134(1,2), 77–85. DOI: 10.1016/j.vetpar.2005.07.016.

Gray, J. S. (2004). *Babesia* sp.: emerging intracellular parasites in Europe. *Polish Journal of Microbiology*, 53(Suppl), 55–60.

Gryshchenko, V. A. & Bilokur, D. S. (2021). The general reaction of dogs in the acute stage babesian invasion. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(5), 85–90. DOI: 10.15421/2021_213.

Huber, D., Beck, A., Anzulović, Ž. et al. (2017). Microscopic and molecular analysis of *Babesia canis* in archived and diagnostic specimens reveal the impact of anti-parasitic treatment and postmortem changes on pathogen detection. *Parasites Vectors*, 10, 495. DOI: 10.1186/s13071-017-2412-1.

Irwin, P. J., & Hutchinson, G. W. (1991). Clinical and pathological findings of *Babesia* infection in dogs. *Australian Veterinary Journal*, 68(6), 204–209.

Jacobson, L. S., & Clark, I. A. (1994). The pathophysiology of canine Babesiosis: New approaches to an old puzzle. *Journal of South African Veterinary Association*, 65(3), 134–145.

Jacobson, L. S., Lobetti, R. G., & Vaughan-Scott, T. (2000). Blood pressure changes in dogs with babesiosis. *Journal of the South African Veterinary Association*, 71, 14–20. DOI: 10.4102/jsava.v71i1.670.

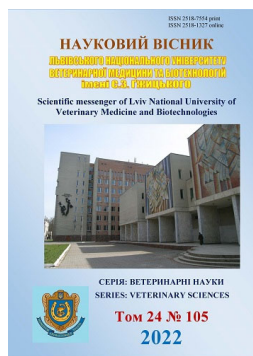
Laha, R., Bhattacharjee, K., Sarmah, P. C., Das, M., Goswami, A., Sarma, D., & Sen, A. (2014). *Babesia* infection in naturally exposed pet dogs from a north-eastern state (Assam) of India: Detection by microscopy and polymerase chain reaction. *Journal of Parasitic Diseases*, 38(4), 389–393. DOI: 10.1007/s12639-013-0261-1.

Loretti, A. P., & Barros, S. S. (2005). Hemorrhagic disease in dogs infected with an unclassified intraendothelial piroplasm in southern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 124(3-4), 193–213. DOI: 10.1016/j.vetpar.2005.07.011.

Merkulov, G. A. (1969). *Kurc patologicheckoj tehniki [Course of pathohistological techniques]*. Medicine, Moscow (in Russian).

Yabsley, M. J., & Shock, B. C. (2013). Natural history of Zoonotic *Babesia*: Role of wildlife reservoirs. *Int J Parasitol Parasites Wildl.*, 2, 18–31. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2012.11.003.

- Nel, M., Lobetti, R. G., Keller, N., & Thompson, P. N. (2004). Prognostic value of blood lactate, blood glucose and hematocrit in canine babesiosis. *Journal of veterinary internal medicine*, 18(4), 471–476. DOI: 10.1892/0891-6640(2004)18<471:pvoiblb>2.0.co;2.
- Omobowale, T. O., Emikpe, B. O., Alaka, O. O., & Notidge, H. O. (2017). Haematological changes and evidence of multiple organ involvement in natural babesiosis in nigerian dogs. *Animal Research International*, 14(1), 2604–2610.
- Ord, R. L., & Lobo, C. A. (2015). Human Babesiosis: Pathogens, Prevalence, Diagnosis, and Treatment. *Current Clinical Microbiology Reports*, 2, 173–181. DOI: 10.1007/s40588-015-0025-z.
- Solano-Gallego, L., & Baneth, G. (2011). Babesiosis in dogs and cats – expanding parasitological and clinical spectra. *Vet Parasitol.*, 181(1), 48–60. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.04.023.
- Taylor, J. H., Guthrie, A. J., Van der Walt, J. G., & Leisewitz, A. (1993). The effect of *Babesia canis* induced haemolysis on the canine haemoglobin oxygen dissociation curve. *Journal of the South African Veterinary Association*, 64, 141–143.
- Uilenberg, G., Franssen, F. F., Perie, N. M., & Spanjer, A. A. (1989). Three Groups of *babesi a canis* distinguished and a proposal for nomenclature. *Veterinary quarterly*, 11(1), 33–40. DOI: 10.1080/01652176.1989.9694194.
- Welzl, C., Leisewitz, A. L., Jacobson, L. S., Vaughan-Scott, T., & Myburgh, E. (2001). Systemic inflammatory response syndrome and multiple-organ damage /dysfunction in complicated canine babesiosis. *Journal of the South African Veterinary Association*, 72 (3), 158–162. DOI: 10.4102/jsava.v72i3.640.
- Wozniak, E. J., Barr B. C., Thomford, J. W., Yamane, I., McDonough S. P., Moore P. F., Naydan, D., Robinson, T. W., & Conrad P. A. (1997). Clinical, Anatomical, and Immunopathologic Characterization of *Babesia gibsoni* Infection in the Domestic Dog (*Canis familiaris*). *Journal of Parasitology*, 83(4), 692–699. DOI: 10.2307/3284248.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10503

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619: 616.5: 615

Study of the efficacy of MYCOSTOP for local therapy of dermatomycosis in animals

S. A. Sapko[✉]

Limit liability company “Scientific and production enterprise of “Suzirya”, Kharkiv, Ukraine

Article info

Received 06.01.2022

Received in revised form

07.02.2022

Accepted 08.02.2022

Limit liability company “Scientific
and production enterprise of
“Suzirya”, Zernovaya Str., 4,
Kharkiv, 61105, Ukraine.
Tel.: +38-099-458-90-03
E-mail: sapko.s@suziria.ua

Sapko, S. A. (2022). Study of the efficacy of MYCOSTOP for local therapy of dermatomycosis in animals. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 18–22. doi: 10.32718/nvlvet10503

This article presents a study of the effectiveness of the preparation MYCOSTOP (LLC “SPE “SUZIRYA”, Kharkov, Ukraine) in the treatment of dermatomycoses in animals with spontaneous infection. As a fungicidal drug used the preparation terbinafine in oral form (tablets), and for local treatment used the preparation MYCOSTOP (LLC “SPE “SUZIRYA”, Ukraine). Terbinafine was administered in a standard dosage of 20–30 mg/kg once daily ($n = 5$, 3 cats and 2 dogs). MYCOSTOP was used according to the scheme recommended by the manufacturer and applied to the affected areas of the skin once a day. The treatment regimen was identical in all animals. The criteria of clinical efficacy were the results of the examination with fixation of the dynamics of changes in skin lesions, reduction of pruritus (using a standard 10-point scale), erythema, peeling, the presence of hair growth and a negative mycological study using DERMAKIT. The size of the cells decreased to 0.50 ± 0.63 cm on average, while in 100 % of animals pathological changes (peeling, crusting, erythema, scabs, hyperpigmentation) were not detected at all by the 30th day of the study, and focal alopecia was in the overgrowth stage in 60 % of animals, and in 40 % the skin surface had no pathological changes. Improvements in the clinical condition of the animals were observed from the ninth to the 18th day of the trial (on average 11.2 ± 3.16 days); the overall therapeutic efficacy on the 30th day was 100 %. According to the DERMAKIT specialized medium, the circulation of dermatomycoses in dermatomycoses was determined using the DERMAKIT specialized medium: in dogs *Microsporum canis* (50 %) and *Tricophyton mentagrophytes* (50 %), in cats *Microsporum canis* (50 %), *Microsporum gypsum* (33 %) and *Tricophyton mentagrophytes* (17 %), *Tricophyton mentagrophytes* was detected in two ants. The test results showed the high effectiveness of the combined treatment regimen using as a local fungicide – the preparation MYCOSTOP in spontaneous infection of animals.

Key words: dermatomycosis, MYCOSTOP, clotrimazole, animals, dog, cat.

Вивчення ефективності препарату “МІКОСТОП” для місцевої терапії дерматомікозів у тварин

С. А. Сапко[✉]

Товариство з обмеженою відповідальністю “Науково виробниче підприємство “Сузір’я”, м. Харків, Україна

В даній статті викладено дослідження ефективності препарату “МІКОСТОП” (ТОВ “НВП “СУЗІР’Я”, м. Харків, Україна) в комплексній терапії дерматомікозів у тварин, які мали спонтанне зараження. Як фунгіцидний препарат використовували препарат тербінафін в пероральній формі у вигляді таблеток, а для місцевої обробки використовували препарат “МІКОСТОП” (ТОВ “НВП “СУЗІР’Я”, Україна). Тербінафін призначали в стандартному дозуванні 20–30 мг/кг один раз на добу ($n = 5$, 3 коти та 2 собаки). Препарат МІКОСТОП використовували згідно зі схемою, рекомендованою виробником всім тваринам у випробуванні та наносили на уражені ділянки шкіри один раз на добу. Схема лікування у всіх тварин була ідентична. Критерієм клінічної ефективності були результати огляду з фіксацією динаміки змін уражень шкіри, зниження проявів свербіжу (використовували стандартну 10-бальну шкалу оцінки), еритеми, лущення, присутність росту волос та отримання негативного результату мікологічного дослідження, проведеного з використанням середовища DERMAKIT. Так, у тварин зменшилися розмір осередків до $0,50 \pm 0,63$ см в

середньому, при цьому у 100 % тварин патологічні зміни (лущення, скоринки, еритема, струпи, гіперпигментація) не виявлялися зовсім до 30-ї доби дослідження, а осередкова алопеція була в стадії заростання у 60 % тварин, а у 40 % поверхня шкіри не мала патологічних змін. Поліпшення клінічного стану тварин спостерігали, починаючи з 9-ї по 18-ту добу випробування (в середньому за $11,2 \pm 3,16$ днів), загальна терапевтична ефективність на 30-ту добу склала 100 %. За результатом визначення збудників дерматофітіозів у тварин з дослідів, за допомогою спеціалізованого середовища DERMAKIT, було встановлено циркуляцію збудників: у собак *Microsporum canis* (50 %) та *Tricophyton mentagrophytes* (50 %), у котів *Microsporum canis* (50 %), *Microsporum gypseum* (33 %) і *Tricophyton mentagrophytes* (17 %), у двох мурчаків було виявлено *Tricophyton mentagrophytes*. Результати випробування показали високу ефективність комбінованої схеми лікування з використанням як місцевого фунгіциду – препарату “МІКОСТОП” при спонтанному зараженні тварин.

Ключові слова: дерматофітіоз, МІКОСТОП, клотримазол, тварини, собаки, коти.

Вступ

Найчастіше виявляють на поверхні шкіри у тварин-компаньйонів такі види збудників, як *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* і *Tricophyton mentagrophytes*, хоча існує понад 30 видів грибів — дерматофітів (Weitzman & Summerbell, 1995; Pin, 2017; Kissera et al., 2021). Дані збудники викликають поверхневу мікозну інфекцію шкіри. До зоофільних видів дерматофітів, адаптованих до тварин-господарів належать *Microsporum canis* (частіше у котів та собак), *Microsporum equinum* (у коней), *Microsporum persicolor* (у польової миші), *Microsporum nanum* (у свиней), а також *Trichophyton equinum* (у коней), *Trichophyton verrucosum* (у великої рогатої худоби) і *Trichophyton mentagrophytes* (у гризунів, кроликів, їжаків) (Graser et al., 2008; Sharma et al., 2007; Hobi et al., 2011). Однак за літературними даними, асимптоматичне носійство було виявлено у 10–90 % котів домашнього утримання та довгошерстих порід, які більш сприйнятливі до інфекції (DeBoer & Moriello, 1994).

Класичною клінічною ознакою дерматофітіозів є: лушення, алопеція, папули, себорея, гіперпигментація, еритема. Свербіж шкіри при дерматофітіозах зазвичай не має сильного прояву, однак це індивідуально, особливо у котів (Frymus et al., 2013). Найчастіший прояв дерматофітіозів – алопеція з лушенням, але її необхідно диференціювати від інших патологій шкіри зі схожими клінічними проявами, а саме від паразитарних інфекцій, обумовлених коростяними кліщами (ноттоєдроз, хейлетієльоз, отодектоз), від травневої алергії, блошиного та atopічного дерматиту (Scarampella et al., 2015).

Для диференціальної діагностики, разом із візуальною оцінкою характеру та локалізації уражень, використовують спеціальні лабораторні тести. Для діагностики дерматофітіозів застосовують люмінесцентний аналіз, мікроскопію та гістологічне дослідження, виділяють та отримують грибні культури.

При позитивному результаті під час люмінесцентного аналізу можна побачити характерне світіння волосся. Однак слід враховувати той факт, що кандифлюоресценцію має від 30 до 54 % дерматофітів (Colombo et al., 2010), тобто відсутність світіння не виключає діагноз. Коректніше буде використовувати цей метод для взяття волосся з характерним світінням на мікроскопію, що підвищує ймовірність отримання достовірного результату. Матеріал для дослідження може бути взятий декількома способами: скарифікацією, вищипом або “на скотч”. При мікроскопії ви-

значають волосся, уражене артроспорами та гіфами дерматофітів, що дозволяє поставити остаточний діагноз (Colombo et al., 2012). Для цитологічного дослідження матеріал одержують за допомогою мазків-відбитків, “на скотч”, скарифікації або тонкоголкової біопсії залежно від типу ураження шкіри. Препарат фарбують за Романовським-Гімзою та проводять мікроскопію. На склі виявляють артроспори, як округлі включення, що мають тонкі виражені базofilні капсули і світлішу серцевину (Sparkes et al., 2000). Для визначення виду дерматофітного гриба, підтвердження одужання і за негативних результатів перерахованих вище тестів вдаються до посівів на диференціальне живильне середовище – агар Сабуро або DERMAKIT. Іноді проводять гістологічне дослідження, при цьому матеріал забарвлюють гематоксилін-еозином та PAS або GMS.

Після встановлення діагнозу основним завданням є підбір оптимального та ефективного лікування, спрямованого на зниження зоонозних та зооантропонозних ризиків, шляхом мінімізації можливості зараження та забруднення навколишнього середовища. Також варто мати на увазі, що при ефективній імунній відповіді можливе самоодужання хворої тварини. Однак, щоб уникнути зараження інших тварин і людини, цей факт не слід розглядати як можливість відмовитися від лікування (Stull & Stevenson, 2015). Розроблено широкий спектр протимікозних системних та місцевих препаратів для лікування тварин, а також засобів для дезінфекції навколишнього середовища.

Мета дослідження оцінити клінічну ефективність препарату МІКОСТОП (ТОВ “НВП “СУЗІР’Я”, Україна).

Завдання дослідження:

- визначити групу тварин спонтанно інфікованих дерматофітами;
- визначити збудників дерматологічних захворювань;
- встановити ефективність препарату “МІКОСТОП” у спонтанно інфікованих дерматофітами тварин.

Матеріал і методи досліджень

Клінічне вивчення ефективності препарату “МІКОСТОП” при спонтанному інфікуванні дерматофітами тварин було проведено за допомогою лікарів з міської державної лікарні ветеринарної медицини на 10 тваринах (6 котів та 4 собак) різного віку та утримання, які потрапили на плановий огляд впродовж весняно-літнього-осіннього періоду 2021 року.

Діагноз тваринам встановлювали комплексно, орієнтуючись на дані клінічного огляду, анамнезу та лабораторних тестів.

Як фунгіцидний препарат використовували препарат “Тербінафін” в пероральній формі у вигляді таблеток, а для місцевої обробки – препарат “МІКОСТОП” (ТОВ “НВП “СУЗІР’Я”, Україна). Тербінафін призначали в стандартному дозуванні 20–30 мг/кг один раз на добу. Препарат “МІКОСТОП” використовували згідно зі схемою, рекомендованою виробником, та наносили на уражені ділянки шкіри один раз на добу. Схема лікування у всіх тварин була ідентична.

Усі дослідження проведено з дотриманням біоетичних засад, регламентованих Законом України “Про захист тварин від жорстокого поводження” (№ 3447-ІV від 21.02.2006 року) та чинних вимог Європейської комісії щодо обходження з хребетними тваринами та захисту їх від спраги, голоду, недоїдання, дискомфорту, страху, болю, хвороб.

Критеріями клінічної ефективності були результати огляду із зазначенням місць та розміру уражень та динаміки їх зміни, зниження прояву свербіжу (використовували стандартну 10-бальну шкалу оцінки), еритеми, лущення, відсутності росту волосся та отримання негативного результату мікологічного дослідження. Дослідження проводили за стандартними методиками, затвердженими в лабораторії клініки. Препарат фарбували за стандартної методики за Романовським–Гімзою. Оцінку препаратів проводили за об’єктиву $\times 10$ і $\times 100$, окулярі $\times 10$. Оцінка полягала у виявленні волосків шерсті, уражених гіфами та артроспорами дерматофітів, за цитологічного дослідження

– візуалізації фарбованих артроспор, при мікологічному дослідженні визначали наявність чи відсутність росту культури.

Результати та їх обговорення

За аналізом вікової динаміки захворювання було встановлено, що молоді тварини до року більш сприйнятливі. Серед 10 досліджених тварин 70 % припадало на тварин до дворічного віку. Всі тварини, у яких виявлено дерматомікоз, були вольєрно-вulichного утримання. За аналізом статеві специфічності не виявлено відмінностей у захворюванні самців та самок. Під час дослідження загальний клінічний стан тварин задовільний, апетит, вживання води, поведінка не виходили за межі норми. Під час дерматологічного дослідження з урахуванням даних анамнезу було встановлено, що лише у 20 % тварин, а саме котів, виявляли свербіж від легкого до середнього ступеня (< 6 балів).

Осередкова алопеція була встановлена у всіх тварин в досліді; ураження у котів переважно були в ділянці голови, а у собак переважно виявляли ураження на кінцівках (100 %) та голові (50 %). У 66 % котів ураження були виявлені на кінцівках та хвості. Кількість уражених ділянок у тварин варіювалося від 1 до 6, в середньому 3 осередки розміром $4,6 \pm 1,78$ см. Клінічно дерматомікоз у тварин візуально визначався як ділянка алопеції з поверхневим лущенням (80 %), формуванням струпів (20 %), скорин і лусочок (50 %), еритемою (60 %), гіперпигментація (20 %) (рис. 1).

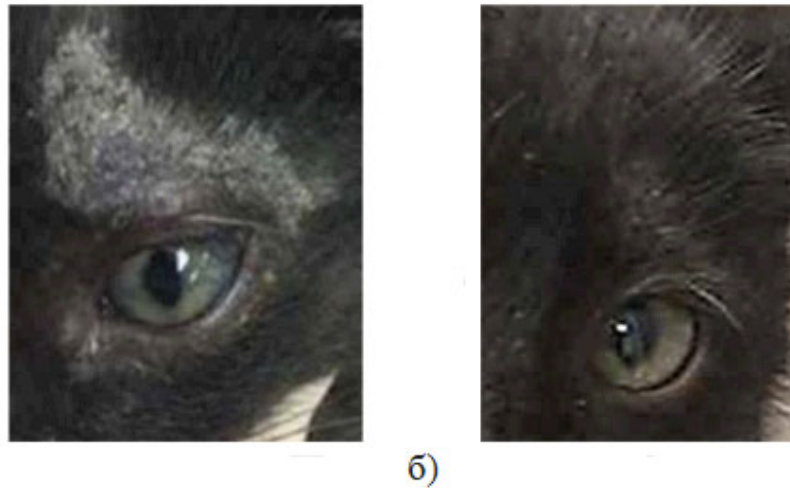


Рис. 1. Кошеня зі струпом та алопецією в орбітальній зоні: а) до застосування препарату МІКОСТОП; б) після проведеного лікування

На фоні застосування тваринам протимікозного лікування, а саме місцево препарату “МІКОСТОП” (при незначних ураженнях) та комплексного підходу з додатковим застосуванням тербінафіну, було виявлено достовірне поліпшення клінічного стану та повне одужання тварин, що мало лабораторне підтвердження. Так, у тварин зменшився розмір осередків з $4,6 \pm 1,78$ см до $0,50 \pm 0,63$ см в середньому, при цьому у 100 % тварин патологічні зміни (лущення, скоринки,

еритема, струпи, гіперпигментація) не виявлялися зовсім до 30-ї доби дослідження, а осередкова алопеція була в стадії заростання у 60 % тварин, а у 40 % поверхня шкіри не мала патологічних змін. Поліпшення клінічного стану тварин спостерігали з 9-ї по 18-ту добу випробування (в середньому за $11,2 \pm 3,16$ дня), загальна терапевтична ефективність на 30-ту добу склала 100 %.

У мурчаків були виявлені ураження шкіри на діля-

нках вух та внутрішньої поверхні стегна (рис. 2). Тваринам було призначено поліпшений раціон харчування та місцево препарат “МІКОСТОП”, хоча в інструкції не зазначено даного виду тварин.

Значне поліпшення стану шкіри у мурчаків було визначено на 5 добу застосування препарату “МІКОСТОП” місцево, але повний цикл застосування склав 10 діб до повного одужання.

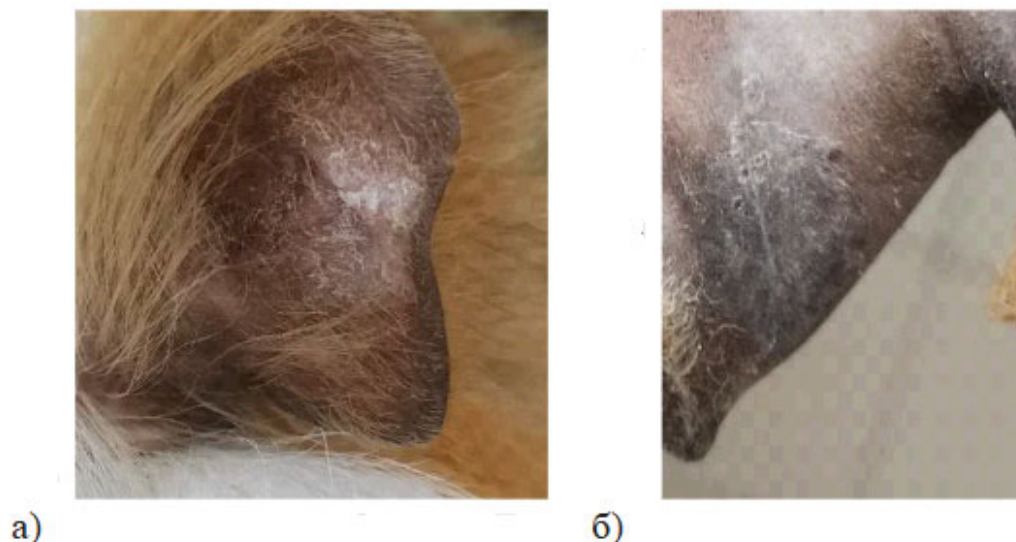


Рис. 2. Уражені ділянки шкіри у мурчаків: а) вуха мурчака породи шелті, б) внутрішня поверхня стегна мурчака породи скінні

Отримані дані збігаються з опублікованими даними, що 50–70 % дерматомікозних захворювань шкіри собак і понад 90 % у котів спричинено збудником *Microsporum canis*. Решта грибкових уражень шкіри собак і котів викликані збудниками *Tricophyton mentagrophytes* і *Microsporum gypseum* (Skrypnyk, 2005; Ponomarenko, 2017; Kovalenko & Voronkova, 2018).

Зазначені збудники дуже стійкі в зовнішньому середовищі і можуть зберігати свою вірулентність в ураженому волоссі протягом 5–10 років. Також більшість збудників є спільними як для тварин, так і людей, тому постає питання здоров'я не лише тварини, а й господаря. Тож своєчасна діагностика та ефективне лікування важливі у боротьбі з дерматомікозами тварин.

Висновки

Результати випробування показали високу ефективність лікування дерматомікозів із застосуванням місцевого фунгіцидного препарату “МІКОСТОП” (ТОВ “НВП “СУЗІР’Я”, м. Харків, Україна) у спонтанно інфікованих тварин (собак, котів, мурчаків). При застосуванні тваринам (при значних ураженнях шкіри) разом з місцевою обробкою системного перорального препарату тербінафіна, нами не було виявлено випадків інтоксикації та розвитку алергії.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому плануємо аналізувати різні комбінації діючих речовин та допоміжних компонентів для отримання доступного, ефективного препарату українського виробництва.

За результатом визначення збудників дерматомікозів у тварин з досліджу, за допомогою спеціалізованого середовища DERMAKIT, було встановлено циркуляцію збудників: у собак *Microsporum canis* (50 %) та *Tricophyton mentagrophytes* (50 %), у котів *Microsporum canis* (50 %), *Microsporum gypseum* (33 %) і *Tricophyton mentagrophytes* (17 %), у двох мурчаків було виявлено *Tricophyton mentagrophytes*.

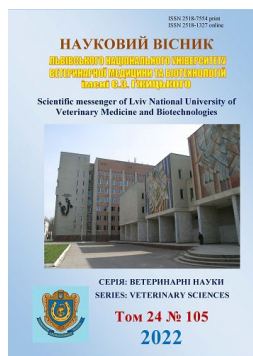
Відомості про конфлікт інтересів

Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Colombo S., Scarpella F., Ordeix L., & Roccabianca, P. (2012). Dermatophytosis and papular eosinophilic/mastocytic dermatitis (urticaria pig-mentosa-like dermatitis) in three Devon Rex cats. *J Feline Med Surg*, 14, 498–502. DOI: 10.1177/1098612X12440761.
- Colombo, S., Cornegiani, L., Beccati, M., & Albanese, F. (2010). Comparison of two sampling methods for microscopic examination of hair shafts in feline and canine dermatophytosis. *Veterinaria (Cremona)*, 24, 27–33.
- DeBoer, D. J., & Moriello, K. A. (1994). Development of an experimental model of *Microsporum canis* infection in cats. *Vet. Microbiol*, 42(4), 289–295. DOI: 10.1016/0378-1135(94)90060-4.
- Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Pennisi, M. G., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Hartmann, K., Hosie, M. J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Möstl, K., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U., & Horzinek, M. C. (2013). Dermatophytosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of feline medicine and surgery*, 15(7), 598–604. DOI: 10.1177/1098612X13489222.
- Graser, Y., Scott, J., & Summerbell, R. (2008). The new species concept in dermato- phytes – a polyphasic approach. *Mycopathologia*, 166(5-6), 239–256. DOI: 10.1007/s11046-008-9099-y.

- Hobi, S., Linek, M., Marignac, G., Olivry, T., Beco, L., Nett, C., Fontaine, J., Roosje, P., Bergvall, K., Belova, S., Koebrich, S., Pin, D., Kovalik, M., Meury, S., Wilhelm, S., & Favrot, C. (2011). Clinical characteristics and causes of pruritus in cats: a multicentre study on feline hypersensitivity-associated dermatoses. *Vet Dermatol*, 22(5), 406–413. DOI: 10.1111/j.1365-3164.2011.00962.x.
- Kisera, Y. V., Martyniv, Y. V., & Guttyj, B. V. (2021). Dynamics of morphological, immunological and histological changes in microsporia in guinea pigs. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(2), 206–211. DOI: 10.15421/022129.
- Kovalenko, A. H., & Voronkova, O. S. (2018). Vyjavlennia infektsiinykh urazhen, vyklykanykh mikroskopichnymi hrybamy, u tvaryn. [Detection of infectious lesions caused by microscopic fungi in animals] *Bulletin of problems of biology and medicine*, 2(4(147)), 107–109. DOI: 10.29254/2077-4214-2018-4-2-147-107-110 (in Ukrainian).
- Pin, D. (2017). Non-dermatophyte Dermatoses Mimicking Dermatophytoses in Animals. *Mycopathologia*, 182, 113–126. DOI: 10.1007/s11046-016-0090-8.
- Ponomarenko, H. V. (2017). Poshyrennia zbudnykiv dermatofitoziv sobak i kotiv u misti Kharkiv. Topical aspects of animal biology, veterinary medicine and veterinary-sanitary examination: materials of the II International scientific-practical conference of teachers and students (Dnipro, June 1–2, 2017). *Dnipro*, 97–98 (in Ukrainian).
- Scarampella, F., Zanna, G., Peano, A., Fabbri, E., & Tosti, A. (2015). Dermoscopic features in 12 cats with dermatophytosis and in 12 cats with self-induced alopecia due to other causes: an observational descriptive study. *Vet. Dermatol*, 26(4), 282–e63. DOI: 10.1111/vde.12212.
- Sharma, R., De Hoog, S., Presber, W., & Graser, Y. (2007). A virulent genotype of *Microsporum canis* is responsible for the majority of human infections. *J Med Microbiol*, 56, 1377–1385. DOI: 10.1099/jmm.0.47136-0.
- Skrypnyk, V. (2005). Rol hipsovydnogo trykhofitona (*Trichophyton mentagrophytes*) v epizootolohii trykhofitii tvaryn. Scientific and Technical Bulletin of the Institute of Animal Biology and the State Research Control Institute of Veterinary Drugs and Feed Additives, 6(3,4), 356–360 (in Ukrainian).
- Sparkes, A., Robinson, A., MacKay, A., & Shaw, S. E. (2000). A study of the efficacy of topical and systemic therapy for the treatment of feline *Microsporum canis* infection. *J Feline Med Surg*, 2(3), 135–142. DOI: 10.1053/jfms.2000.0093.
- Stull, J. W., & Stevenson, K. B. (2015). Zoonotic disease risks for immunocompromised and other high-risk clients and staff: promoting safe pet ownership and contact. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 45(2), 377–392. DOI: 10.1016/j.cvsm.2014.11.007.
- Weitzman, I., & Summerbell, R. C. (1995). The dermatophytes. *Clin. Microbiol. Rev.*, 8(2), 240–259. DOI: 10.1128/CMR.8.2.240.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10504

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.084.52:636.598.261.7

Effectiveness of mineral supplementing productivity and hematological parameters of meat quails

J. M. Poberezhets¹✉, B. V. Gutyj², O. S. Yaremchuk¹, R. A. Chudak¹, T. V. Farionik¹, O. P. Razanova¹, O. I. Skoromna¹

¹Vinnitsia National Agrarian University, Vinnitsia, Ukraine

²Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

Article info

Received 11.01.2022

Received in revised form

14.02.2022

Accepted 15.02.2022

Vinnitsia National Agrarian
University, Soniachna Str., 3,
Vinnitsya, 21000, Ukraine.
Tel.: +38-098-224-88-56
E-mail: julia.p08@ukr.net

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.

Poberezhets, J. M., Gutyj, B. V., Yaremchuk, O. S., Chudak, R. A., Farionik, T. V., Razanova, O. P., & Skoromna, O. I. (2022). Effectiveness of mineral supplementon productivity and hematological parameters of meat quails. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 23–29. doi: 10.32718/nvlvet10504

The mineral elements contained in poultry feed do not fully meet their needs. Therefore, the elements that are lacking in the diet are introduced into the feed or feed mixtures to ensure mineral integrity. The aim of the experiment was to research the cobalt chelate complex effect on live weight, weight gain, slaughter quality and hematological parameters of Pharaoh quails. Scientific studies of the cobalt chelate complex effect on quail productivity were conducted on a research farm of Vinnitsia National Agrarian University. Two 20-bird groups were formed on the principle of analogues. The experiment lasted for 42 days, i.e., equalization period lasted for five days, and the main period lasted for 37 days. Control slaughter was performed at the end of the experiment, four heads from each group were slaughtered to determine the main indicators of slaughter and blood. The quails additionally fed by the cobalt chelate complex outnumbered their control counterparts in life weight, i.e., females by 8.5 % ($P \geq 0.001$) and males by 7.9 % ($P \geq 0.001$). Feeding supplements increases the absolute increase by 8.5 % ($P \geq 0.001$) in female quails and by 8.1 % ($P \geq 0.001$) in male quails of group II than in the control group. Due to the action of the cobalt chelate complex in group II, feed consumption per 1 kg of growth is reduced in females by 6.62 % and males by 6.12 % relative to control counterparts. In group II, the pre-slaughter live weight of quails increased by 7.7 % ($P \geq 0.05$), the gutted carcass increased by 8.1 % ($P \geq 0.05$) and the gizzard weight increased by 7.8 % ($P \geq 0.05$) than the control indicator. The cobalt chelate complex application increases the weight of the breast by 12.1 % ($P \geq 0.01$) and thigh by 14.3 % ($P \geq 0.05$) in group II relative to control analogues. In group II quails of the amount of hemoglobin increases by 7.2 % ($P \geq 0.05$) under the action of the researched supplement in comparison with the control sample.

Key words: quails, feed supplement, productivity, slaughter, muscle, blood.

Ефективність впливу мінеральної добавки на продуктивність та гематологічні показники м'ясних перепелів

Ю. М. Побережець¹✉, Б. В. Гутий², О. С. Яремчук¹, Р. А. Чудак¹, Т. В. Фаріонік¹, О. П. Разанова¹, О. І. Скоромна¹

¹Вінницький національний аграрний університет, м. Вінниця, Україна

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Мінеральні елементи, що містяться в кормах для птиці, не повною мірою забезпечують їх потреби. Тому для забезпечення мінеральної повноцінності до складу комбікормів або кормосумішей вводять елементи, яких не вистачає в раціоні. Тому метою дослідів було вивчити вплив хелатного комплексу Кобальту на живу масу, прирости, забійні якості та гематологічні показники перепелів м'ясної породи "Фараон". Наукові дослідження з впливу хелатного комплексу кобальту на продуктивність перепелів проводили в умовах науково-дослідної ферми Вінницького національного аграрного університету. За принципом аналогів було сформовано дві групи птиці по 20 голів у кожній. Дослідження тривали 42 доби, з них 5 днів зрівняльний період, 37 днів – основний. У кінці дослідів був проведений контрольний забій – по 4 голови з кожної групи та визначали основні показники забою та крові. Встановлено, що перепели, які додатково використовували хелатний комплекс Кобальту, переважили за живою масою своїх ровесників з контролю, самиці на 8,5 % ($P \geq 0,001$) та самці на 7,9 % ($P \geq 0,001$). Застосування кормової добавки підвищує у перепелів 2-ї групи абсолютний приріст у самиць на 8,5 % ($P \geq 0,001$) та у самців на 8,1 % ($P \geq 0,001$), проти контрольної групи. Виявлено, що у птиці 2-ї групи за дії хелатного комплексу кобальту знижуються витрати корму на 1 кг приросту самиць на 6,62 % та самців на 6,12 % щодо контрольних ровесників. Зафіксовано, що за дії досліджуваної добавки збільшується передзабійна жива маса перепелів 2-ї групи на 7,7 % ($P \geq 0,05$), патранної тушки на 8,1 % ($P \geq 0,05$) та маса м'язового шлунку на 7,8 % ($P \geq 0,05$) щодо контрольного показника. Виявлено, що застосування хелатного комплексу Кобальту в перепелів 2-ї групи підвищує масу грудних на 12,1 % ($P \geq 0,01$) та стегнових на 14,3 % ($P \geq 0,05$) щодо контрольних аналогів. За дії досліджуваної добавки у перепелів 2-ї групи збільшується кількість гемоглобіну на 7,2 % ($P \geq 0,05$) щодо контрольного зразка.

Ключові слова: перепели, кормова добавка, продуктивність, забійні показники, м'язи, кров.

Вступ

На сучасному етапі досягнення високих показників у птахівництві можливе лише за умови максимального забезпечення біологічних потреб птиці, бо тільки здорова і високопродуктивна сільськогосподарська птиця може бути основою рентабельності галузі. Все це тісно пов'язане з розробкою нових, ефективних методів ведення птахівництва, які забезпечують оптимальний ріст і розвиток, високу природну резистентність і імунологічну реактивність організму птиці. Тому науковцями ведеться пошук використання нових кормових добавок природного походження у годівлі тварин (Shevchenko et al., 2017; Razanova, 2017; 2018; Chudak et al., 2019; Cherniy et al., 2021; Nadziakiewicz et al., 2021; Poberezhets et al., 2021).

Біологічна доступність речовин в організмі тварин визначається за інтенсивністю їх всмоктування і залежить від хімічної та фізичної форми елементу, розміру часток корму, збалансованості раціону за поживними, мінеральними та іншими речовинами, наявності хелатувальних агентів тощо, а також за співвідношенням та взаємодією елементів у процесі обміну. Вивчення особливостей взаємодії між речовинами дає змогу спрямувати обмін речовин у бажаному напрямі, забезпечуючи ефективне використання кормів (Gutyj et al., 2017; Ibatullin & Otchenashko, 2017; Martyshuk et al., 2021; Shnurenko et al., 2021; Mylostyvyi et al., 2021; Krempa et al., 2021; Slobodian et al., 2021).

Хелатні сполуки, або хелати, належать до комплексних сполук, які утворюються внаслідок з'єднання катіона (іона металу) з двома і більше атомами молекули комплексону (ліганду). Встановлено, що хелати практично ідентичні природній структурі і можуть проникати крізь клітинні мембрани, що визначає їхню високу біодоступність. Особливої уваги заслуговують

роботи з використання хелатних сполук Кобальту (Heorhyevskiy, 1970).

Кобальт стимулює гемопоєз у кістковому мозку і перехід депонованого заліза до складу гемоглобіну (Lantin et al., 2013; Chimeh et al., 2018). Важлива фізіологічна роль Кобальту як невід'ємного компонента вітаміну B_{12} , його недостатня кількість може спричинити нестачу вітаміну B_{12} , а підвищені дози Кобальту для птиці не токсичні (Georgievskiy, 1990).

Метою дослідів було вивчити вплив хелатного комплексу Кобальту на живу масу, прирости, забійні якості та гематологічні показники перепелів породи "Фараон".

Матеріал і методи досліджень

Наукові дослідження з впливу хелатного комплексу Кобальту на продуктивність перепелів проводили в умовах науково-дослідної ферми Вінницького національного аграрного університету. За принципом аналогів було сформовано дві групи птиці по 20 голів у кожній (Ibatullin et al., 2017).

Експериментальні дослідження проводили відповідно до Закону України "Про захист тварин від жорстокого поводження" від 28.03.2006 р. та правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р.

Раціон годівлі для молодняку та дорослих перепелів складали згідно з нормами комбікормом торгової марки "Мультигейн" з урахуванням його віку, статі та продуктивності птиці. Випоювання перепелів дослідної групи проводили хелатним комплексом Кобальту з розрахунку 0,2 кг на тонну води протягом 37 днів згідно зі схемою дослідів (табл. 1).

Таблиця 1

Схема дослідів з визначення впливу хелатного комплексу Кобальту на відгодівлі перепелів

Група	Тривалість періоду, днів		Кількість, гол.		Умови дослідів
	зрівняльний	основний	самці	самки	
1 дослідна			10	10	Основний раціон
2 дослідна	5	37	10	10	0,2 кг хелатного комплексу Кобальту на тонну води

Дослідження тривали 42 доби, з них 5 діб зрівняльний період, 37 діб – основний.

Наприкінці досліду провели контрольний забій – по 4 голови з кожної групи та визначали основні показники забою. Забійні якості та морфологічний склад тушок перепелів визначали шляхом анатомічного розтину за загальноприйнятою методикою.

Біометричну обробку результатів досліджень проводили за допомогою MS EXCEL та програми Statistica 6.0. Достовірність різниці між групами були

встановлені такі критерії: $P < 0,05$; $P^{**} < 0,01$; $P^{***} < 0,001$ (Rudenko, 2012). Для визначення гематологічних показників у дослідної птиці в кінці забою було взято зразки крові (Levchenko et al., 2002).

Результати та їх обговорення

Додаткове згодовування халатного комплексу кобальту з комбікормом справило позитивний вплив на живу масу піддослідних перепелів (табл. 2).

Таблиця 2

Жива маса та збереженість перепелів, г ($M \pm m$, $n = 20$)

Вік перепелів, діб		Група	
		1 – контрольна	2 – дослідна
	1	$8,5 \pm 0,16$	$8,6 \pm 0,12$
	7	$20,5 \pm 0,34$	$21,1 \pm 0,37$
	14	$50,8 \pm 0,86$	$51,2 \pm 1,18$
	21	$95,7 \pm 1,74$	$97,4 \pm 1,74$
	28	$152,5 \pm 2,36$	$158,4 \pm 2,68$
35	самиці ($n = 10$)	$246,4 \pm 3,75$	$257,8 \pm 2,85^*$
	самці ($n = 10$)	$198,6 \pm 2,86$	$200,6 \pm 2,23$
42	самиці ($n = 10$)	$288,0 \pm 3,47$	$312,7 \pm 2,65^{***}$
	самці ($n = 10$)	$240,5 \pm 2,48$	$259,5 \pm 2,82^{***}$
Збереженість, %	самиці ($n = 10$)	98	100
	самці ($n = 10$)	98	100

За вирощування від 7- до 28-добового віку суттєвих розбіжностей у живій масі перепелів між групами не виявлено.

Починаючи з 35 доби, у перепілок 2-ої групи жива маса на 4,6 % ($P \geq 0,05$), більша, ніж у контрольних аналогів.

На 42 добу перепели, що додатково споживали халатний комплекс Кобальту, переважили за живою масою – самиці на 8,5 % ($P \geq 0,001$) та самці на 7,9 % ($P \geq 0,001$) щодо контрольних аналогів.

Під час досліджень також вивчали середньодобові та абсолютні прирости перепелів за дії досліджуваної добавки (рис. 1).

Встановлено, птиця, яка споживала досліджувану добавку, переважала своїх аналогів з контролю за середньодобовими приростами у 2 групі самиць на 8,8 % та самців на 8,1 %.

Додаткове використання халатного комплексу Кобальту в годівлі перепелів 2-ї групи сприяє підвищенню абсолютного приросту в самиць на 8,5 % ($P \geq 0,001$) та у самців на 8,1 % ($P \geq 0,001$) проти контрольної групи.

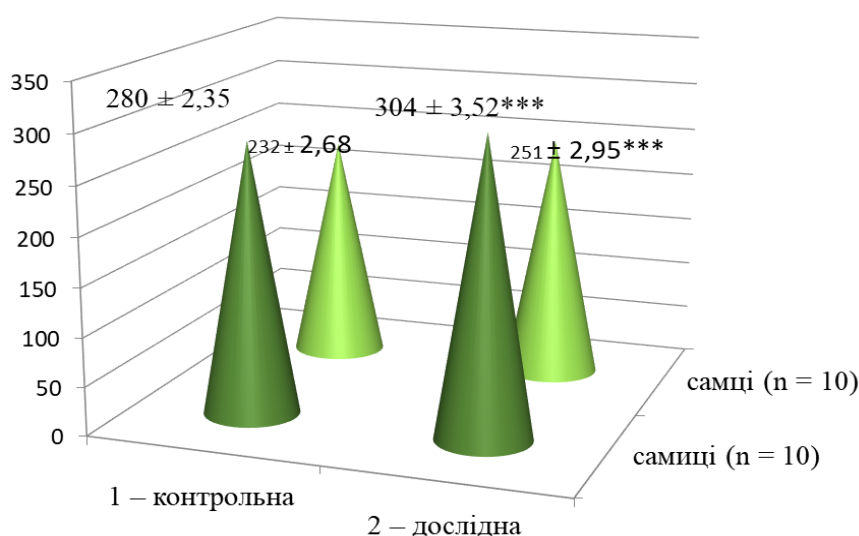


Рис. 1. Абсолютний приріст живої маси перепелів за весь період досліджу, г ($M \pm m$, $n = 10$)

Крім того, досліджували вплив кормової добавки на витрати корму птицею (табл. 3). Встановлено, що у птиці 2-ї групи за дії халатного комплексу Кобальту знижуються витрати корму на 1 кг приросту самиць на 6,62 % та самців – на 6,12 % щодо контрольних ровесників.

Подібні дослідження проводили інші вчені (Golubev et al., 2016; Ibatullin & Otchenashko, 2017) та

спостерігали збільшення продуктивності птиці та зменшення витрат корму за використання у їх годівлі мінеральних кормових добавок.

Встановлено, що додаткове застосування халатного комплексу Кобальту справляє позитивний вплив на забійні показники перепелів (табл. 4).

Таблиця 3

Витрати кормів у перепелів, кг

Група		Витрати кормів, кг					
		за період досліді		на одну голову		на 1 кг приросту	
		всього	± до контролю	всього	± до контролю	всього	± до контролю
1 – контрольна	самиці (n = 10)	14,8	-	1,48	-	5,28	-
	самці (n = 10)	14,4	-	1,44	-	6,20	-
2 – дослідна	самиці (n = 10)	15,0	+0,2	1,50	+0,02	4,93	-0,35
	самці (n = 10)	14,7	+0,3	1,47	+0,03	5,85	-0,35

Таблиця 4

Маса внутрішніх органів піддослідної птиці, г (M ± m, n = 4)

Показник	Група	
	1 – контрольна	2 – дослідна
Печінка	5,2 ± 0,29	5,4 ± 1,26
Жовчний міхур	0,18 ± 0,034	0,20 ± 0,042
Підшлункова залоза	0,70 ± 0,132	0,72 ± 0,186
Селезінка	0,16 ± 0,025	0,18 ± 0,074
Нирки	1,1 ± 0,16	1,2 ± 0,25
Серце	2,1 ± 0,08	2,2 ± 0,14
Легені	1,8 ± 0,15	2,0 ± 0,21

За додаткового споживання кормової добавки у перепелів 2-ї групи спостерігається тенденція до збільшення внутрішніх органів, зокрема печінки на 3,8 %, жовчного міхура на 11,1 %, підшлункової залози на 2,8 % та селезінки на 12,5%, проте їх вірогідних змін з контролем не встановлено.

Крім того, вивчали масу органів травлення за дії халатного комплексу Кобальту (табл. 5). Встановлено, що використання у годівлі халатного комплексу Кобальту в перепелів 2-ї групи підвищується маса м'язового шлунку на 7,8 % (P ≥ 0,05) щодо контрольного показника.

Таблиця 5

Маса органів травлення перепелів, г (M ± m, n = 4)

Орган травлення		Група	
		1 – контрольна	2 – дослідна
Тонкий кишечник	Стравохід	1,5 ± 0,31	1,7 ± 0,34
	М'язовий шлунок	3,8 ± 0,11	4,1 ± 0,14*
	Залозистий шлунок	0,7 ± 0,15	0,8 ± 0,12
	дванадцятипала кишка	1,8 ± 0,24	2,1 ± 0,26
	порожня кишка	2,0 ± 0,52	2,3 ± 0,35
Товстий кишечник	клубова кишка	2,2 ± 0,68	2,4 ± 0,24
	права сліпа кишка	0,78 ± 0,306	0,80 ± 0,214
	ліва сліпа кишка	0,66 ± 0,248	0,68 ± 0,142
	пряма кишка	4,6 ± 1,02	5,2 ± 0,58

У ході досліджень вивчали лінійні проміри органів травлення (табл. 6). Виявлено, що за використання халатного комплексу Кобальту в перепелів 2-ї групи лінійні проміри органів травлення вірогідно не відрізняються від контролю.

За результатами забою встановлено, що збільшується передзабійна жива маса перепелів 2-ї групи на 7,7 % (P ≥ 0,05) та маса патраної тушки на 8,1 % (P ≥ 0,05) проти контролю (табл. 7).

Таблиця 6

Лінійні проміри органів травлення перепелів, см ($M \pm m$, $n = 4$)

Орган травлення		Група	
		1 – контрольна	2 – дослідна
Довжина стравоходу		6,4 ± 0,56	6,5 ± 0,78
Проміри	довжина	1,5 ± 0,27	1,8 ± 0,16
залозистого	ширина	0,8 ± 0,52	1,0 ± 0,14
шлунка	третій промір	0,6 ± 0,08	0,6 ± 0,05
Проміри	довжина	2,4 ± 0,16	2,5 ± 0,09
м'язового	ширина	2,3 ± 0,14	2,4 ± 0,18
шлунка	третій промір	1,0 ± 0,05	1,1 ± 0,10
Тонкий кишечник	дванадцятипала кишка	14,8 ± 0,68	16,6 ± 1,71
	порожня кишка	22,4 ± 0,74	24,7 ± 1,28
	клубова кишка	26,5 ± 3,58	28,2 ± 3,64
Товстий кишечник	права сліпа кишка	9,2 ± 1,48	10,6 ± 0,72
	ліва сліпа кишка	8,3 ± 1,37	9,3 ± 0,64
	пряма кишка	7,5 ± 0,53	8,0 ± 0,82

Таблиця 7

Забійні якості перепелів, г ($M \pm m$, $n = 4$)

Показник	Група	
	1 – контрольна	2 – дослідна
Передзабійна жива маса	265,5 ± 6,34	286,2 ± 5,28*
Маса непатраної тушки	252,5 ± 5,18	265,4 ± 4,36
Маса напівпатраної тушки	228,6 ± 5,22	234,5 ± 6,25
Маса патраної тушки	184,6 ± 4,24	199,6 ± 4,86*
Вихід патраної тушки	69,5 ± 1,68	69,7 ± 1,54
Маса окремих їстівних частин		
грудні м'язи	46,8 ± 1,32	52,5 ± 1,27**
стегнові м'язи	28,5 ± 1,11	32,6 ± 1,15*

Варто зазначити, що за дії халатного комплексу Кобальту в перепелів 2-ї групи підвищується маса грудних на 12,1 % ($P \geq 0,01$) та стегнових м'язів на 14,3 % ($P \geq 0,05$) щодо контрольних аналогів.

Чимало вчених вивчали позитивний вплив мінеральних добавок на забійні показники птиці та якість м'яса, що узгоджується з нашими дослідженнями (Sobolev et al., 2021; Elsayed et al., 2021).

Від загальної картини крові залежать обмінні процеси в організмі, що значною мірою впливає на продуктивність тварин. Зберігаючи сталість свого складу,

кров є достатньо лабільною системою, яка швидко реагує на патологічні зміни, що відбуваються в організмі. Тому в дослідженнях широко використовують гематологічні показники крові для діагностики захворювань.

Під час контрольного забою птиці відбирали зразки крові. Досліджено, що достовірних змін у біохімічних показниках крові не виявлено. Відзначається тенденція до підвищення рівня загального білка, альбумінів та глобулінів у перепелів 2-ї групи порівняно з контрольним зразком (табл. 8).

Таблиця 8

Біохімічні показники крові піддослідних перепелів ($M \pm m$, $n = 4$)

Показник	Група	
	1 – контрольна	2 – дослідна
Загальний протеїн, г/л	35,3 ± 2,76	38,4 ± 4,91
Альбуміни, г/л	16,8 ± 1,89	19,1 ± 2,65
Глобуліни, г/л	18,5 ± 2,65	19,3 ± 1,58
АлАТ, од./л	4,8 ± 1,39	5,1 ± 1,84
АсАТ, од./л	195,6 ± 12,45	190,7 ± 24,34
Білірубін загальний, мкмоль/л	4,1 ± 0,37	3,3 ± 0,45
Лужна фосфатаза, од./л	1138,5 ± 107,18	1124,2 ± 164,32
Холестерол, ммоль/л	3,6 ± 0,75	3,5 ± 0,82
Тригліцериди, ммоль/л	3,4 ± 0,46	3,6 ± 0,54
Глюкоза, ммоль/л	5,5 ± 0,35	6,3 ± 1,18
Креатинін, мкмоль/л	6,8 ± 2,58	7,0 ± 3,49
Сечовина, ммоль/л	1,4 ± 0,25	1,5 ± 0,32
Кальцій, ммоль/л	2,9 ± 0,11	3,0 ± 0,14

Водночас вивчали морфологічні показники крові птиці (табл. 9). Встановлено, що за дії досліджуваної добавки у перепелів 2-ї групи збільшується вміст гемоглобіну на 7,2 % ($P \geq 0,05$), проти контрольного показника.

Таблиця 9

Морфологічні показники крові птиці ($M \pm m$, $n = 4$)

Показник	Група	
	1 – контрольна	2 – дослідна
Лейкоцити, Г/л	$32,5 \pm 1,48$	$33,6 \pm 1,64$
Еритроцити, Т/л	$2,4 \pm 0,18$	$2,6 \pm 0,27$
Гемоглобін, г/л	$112,8 \pm 2,65$	$121,0 \pm 2,45^*$
ШОЕ, мм/год	$1,6 \pm 0,27$	$1,5 \pm 0,52$

Висновки

Встановлено, що перепели, які споживали халатний комплекс Кобальту, мали більшу живу масу: самиці на 8,5 % ($P \geq 0,001$) та самці на 7,9 % ($P \geq 0,001$) проти аналогів з контролю. За дії досліджуваної мінеральної добавки збільшується передзабійна жива маса перепелів 2-ї групи на 7,7 % ($P \geq 0,05$), патраної тушки на 8,1 % ($P \geq 0,05$) та маса м'язового шлунка на 7,8 % ($P \geq 0,05$) щодо контрольного значення. Додаткове згодовування халатного комплексу Кобальту збільшує рівень гемоглобіну в перепелів 2-ї групи на 7,2 % ($P \geq 0,05$) порівняно з контрольною групою.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі планується провести дослідження щодо впливу халатного комплексу Кобальту на несучість та якість яєць перепілок.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

Cherniy, N., Skvortsova, I., Gutj, B., Mylostyvyi, R., & Voronyak, V. (2021). Influence of probiotic additive "Evitalia" on growth and blood indices of quails. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(104), 55–59. DOI: 10.32718/nvlvet10409.

Chimeh, U., Zimmerman, M. A., Gilyazova, N., & Li, P. A. (2018). B355252, A novel small molecule, confers neuroprotection against cobalt chloride toxicity in mouse hippocampal cells through altering mitochondrial dynamics and limiting autophagy induction. *Int J Med Sci.*, 15, 1384–1396. DOI: 10.7150/ijms.24702.

Chudak, R. A., Poberezhets, Y. M., Vozniuk, O. I., & Dobronetska, V. O. (2019). Echinacea pallida extract effect on quails meat quality. *Ukrainian journal of ecology*, 9(2), 151–155. URL: <https://www.ujecology.com/articles/echinacea-pallida-extract-effect-on-quails-meat-quality.pdf>.

El-Kholy, M. S., El-Hindawy, M. M., Alagawany, M., El-Hack, M. A., El-Gawad, S. A., & El-Sayed, E. A. (2017). Dietary Supplementation of Chromium Can

У своїх дослідях з використання мінеральних добавок у перепелівництві науковці (El-Kholy et al., 2017; Elsayed et al., 2021) встановили, що досліджувані кормові добавки позитивно впливають на продуктивність птиці та їх показники крові.

Alleviate Negative Impacts of Heat Stress on Performance, Carcass Yield, and Some Blood Hematology and Chemistry Indices of Growing Japanese Quail. *Biological Trace Element Research*, 179(1), 148–157. DOI: 10.1007/s12011-017-0936-z.

Elsayed, A. A., Abol-Ela, S. S., Askar, A. A., Mohamed, L. A., El-Sayed, S. A., Ahmed, S. Y., Moustafa, A. A., & Alagawany, M. S. (2021). Supplementation of different zinc sources to low-CP diets and its effect on performance, carcass traits, liver and kidney functions, immunological, and antioxidant parameters of quail chicks. *Poultry Science*, 100(1), 1–9. DOI: 10.1016/j.psj.2021.101463.

Georgievskiy, V. I. (1990). *Physiology of farm animals*. M.: Agropromizdat (in Russian).

Golubev, M. I., Sychev, M. Yu., & Makhno, K. I. (2016). Effects of dietary chromium on growth performance of growing quails. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural Sciences*, 18(1), 21–26. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/agriculture/article/view/3494>.

Gutj, B., Martyschuk, T., Bushueva, I., Semeniv, B., Parchenko, V., Kaplaushenko, Magrelo, N., Hirkovyy, A., Musiy, L., & Murska, S. (2017). Morphological and biochemical indicators of blood of rats poisoned by carbon tetrachloride and subject to action of liposomal preparation. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(2), 304–309. DOI: 10.15421/021748.

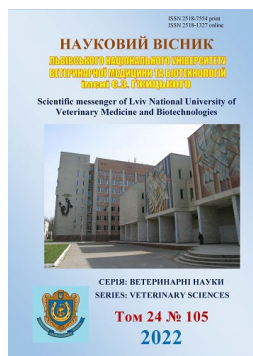
Heorhyevskiy, V. Y. (1970). *Mineral'noe pitanie sel'skookhozyajstvennoj pticy*. M.: Kolos (in Russian).

Ibatullin, I. I. & Otchenashko, V. V. (2017). Efektyvnist vyroshchuvannya perpeliv za rehulivannya norm kaltsiivoho i fosforного zhyvlennia. *Naukovyi visnyk NUBiP Ukrainy. Seriya: Tekhnolohiia vyrobnytstva i pererobky produktii tvarynnystva*, 236, 64–76 (in Ukrainian).

Ibatullin, I. I., Zhukorskyi, O. M. & Bashchenko, M. I. (2017). *Metodolohiia ta orhanizatsiia naukovykh doslidzen u tvarynnystvi*. Kyiv: Ahrar. nauka (in Ukrainian).

Krempa, N. Y., Kozenko, O. V., Chornyj, M. V., Gutj, B. V., & Martyschuk, T. V. (2021). Immune status of young pigs different methods of their breeding using means Globigen® Pig Doser and Globigen® Jump

- Start. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 23(104), 23–29. DOI: 10.32718/nvlvet10404.
- Lantin, A. C., Vermeulen, J., Mallants, A., Vanoverschelde, J.L., Speybroeck, N., Swennen, B., Hoet, P., & Lison, D. (2013). Occupational exposure to cobalt is not associated with incipient signs of dilated cardiomyopathy in a Belgian refinery. *Occup Environ Med*, 70, 386–392. DOI: 10.1136/oemed-2012-100930.
- Levchenko, V. I., Vlizlo, V. V., & Kondrakhin, I. P. (2002). *Veterinary clinical biochemistry*. BilaTserkva (in Ukrainian).
- Martyshuk, T. V., Gutyj, B. V., & Khalak, V. I. (2021). System of antioxidant protection of the body of piglets under the action of feed additive “Butaselmavit-plus”. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 4(2), 38–43. DOI: 10.32718/ujvas4-2.07.
- Mylostyvyi, R., Sejian, V., Izhboldina, O., Kalinichenko, O., Karlova, L., Lesnovskay, O., Begma, N., Marenkov, O., Lykhach, V., Midyk, S., Cherniy, N., Gutyj, B., & Hoffmann, G. (2021). Changes in the Spectrum of Free Fatty Acids in Blood Serum of Dairy Cows during a Prolonged Summer Heat Wave. *Animals*, 11(12), 3391. DOI: 10.3390/ani11123391.
- Nadziakiewicz, M., Lis, M. W., & Micek, P. (2021). The Effect of Dietary Halloysite Supplementation on the Performance of Broiler Chickens and Broiler House Environmental Parameters. *Animals*, 11(7), 20–40. DOI: 10.3390/ani11072040.
- Poberezhets, J., & Kupchuk, I. (2021). Effectiveness of the use of probiotics in the diet of broiler chickens. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, 17(4), 9–16.
- Poberezhets, J., Chudak, R., Kupchuk, I., Yaropud, V., & Rutkevych, V. (2021). Effect of probiotic supplement on nutrient digestibility and production traits on broiler chicken. *Agraarteadus*, 32(2), 7. DOI: 10.15159/jas.21.28.
- Razanova, O. P. (2017). Kaltsiieviy obmin v orhanizmi perepeliv miasnoi porody za zghodovuvannia apivitu. *Ahrarna nauka ta kharchovi tekhnolohii VNAU*, 1, 84–89 (in Ukrainian).
- Razanova, O. P. (2018). Increasing meat quality quails fed by biological active additives based on submerged bees. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 631–636. DOI: 10.15421/2018_259.
- Rudenko, V.M. (2012). *Matematychna statystyka*. Center for Educational Literature: Kyiv, Ukrainian (in Ukrainian).
- Shevchenko, L. V., Yaremchuk, O. S., & Mykhalska, V. M. (2017). Productivity and nonspecific resistance of broiler chickens under the influence of beta-carotene. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(3), 90–95. URL: <https://www.ujecology.com/articles/productivity-and-nonspecific-resistance-of-broiler-chickens-under-the-influence-of-carotene.pdf>.
- Shnurenko, E. O., Studenok, A. A., Karpovskiy, V. I., Trokoz, V. O., Gutyj, B. V., Torzhash, A. Y., & Radchikov, V. F. (2021). Autonomous regulation of antioxidant protection and protein exchange in chickens. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 23(103), 43–50. DOI: 10.32718/nvlvet10307
- Slobodian, S., Gutyj, B., Shalovylo, S., Yaroshovych, T., Kurylas, L., Chajkovska, O. I., Stadnytska, O., Garnazhenko, J., Shnaider, V., & Bezpalyy, I. (2021). Influence of Metisevit Plus feed additive on the activity of the glutathione system of the body of bulls under conditions of man-caused load. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(104), 84–89. DOI: 10.32718/nvlvet10414.
- Sobolev, O. I., Gutyj, B. V., Soboliev, S. V., Borshch, O. O., Liskovich, V. A., Prystupa, O. I., Demus, N. V., Paladiychuk, O. R., Fedorovych, O. V., Fedorovych, E. I., Khariv, I. I., Vasiv, R. O., Levkivska, N. D., Leskiv, K. Y., & Guta, Z. (2019). Chemical composition, energy and biological value of broiler chicken meat caused by various doses of selenium. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(4), 622–627. URL: <http://socrates.vsau.org/repository/card.php?lang=uk&id=23539>.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10505

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.09:001.893:[57.083.32;613.26/28:577.2]

Efficiency of the disinfectant which based on lactic acid during aerosol disinfection in presence of the birds

V. Kovalenko¹, O. Chechet², O. Haidei², O. Krushelnyska³✉

¹State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kyiv, Ukraine

²State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

³Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

Article info

Received 14.01.2022

Received in revised form

17.02.2022

Accepted 18.02.2022

State Scientific Control Institute
Biotechnology and Strains of
Microorganisms, Donetsk Str., 30,
Kyiv, 03151, Ukraine.
Tel.: +38-067-756-86-44
E-mail: kovalenkodoktor@gmail.com

State Scientific and Research
Institute of Laboratory Diagnostics
and Veterinary and Sanitary
Expertise, Donetsk Str., 30,
Kyiv, 03151, Ukraine.

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-713-07-28
E-mail: olenakrushelnyska@gmail.com

Kovalenko, V., Chechet, O., Haidei, O., & Krushelnyska, O. (2022). Efficiency of the disinfectant which based on lactic acid during aerosol disinfection in presence of the birds. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 30–36. doi: 10.32718/nvlvet10505

In the industrial production of broiler meat, the productivity and quality of meat are important. To increase their productivity and meat quality, they create optimal housing conditions. It depends on many factors, especially the technology of poultry farming. The main way to maintain the natural resistance of poultry in production conditions – the use of quality and safe disinfectants. Experimental laboratory investigations have found modes of disinfection of poultry air in the presence of broiler chickens, when using a disinfectant “Biolaid” based on hydrogen peroxide, lactic acid and lactic acid. The reduction of microbial indoor air pollution and the increase of poultry productivity have been set up, which has made it possible to get economic efficiency of production. According to the results of research, the optimal regime of aerosol disinfection of poultry houses with the use of 0.2 % disinfectant “Biolaid” – 50 ml/m³ of the room at an exposure of 60 minutes is recommended. Disinfection of the premises in the presence of poultry during the rearing of broilers in the period before planting and processing every 6 days in the period from 6 to 41 days of age reduces the microbial background of indoor air. It was found that before the experiment the total bacterial air pollution in the experimental group was 191.0 ± 12.7 thousand CFU/cm³. After disinfection with Biolaid disinfectant, the bacterial air pollution of the room was 320.0 ± 7.1 CFU/cm³, which is almost 100 % and confirms its effectiveness. It was found that the body weight of chickens at 6 weeks of age increased by 225 g compared to the control group. Aerosol treatment of air is non-toxic and has no negative influence on the physiological state, which is confirmed by researches of morphological indices of poultry blood.

Key words: quails, feed supplement, productivity, slaughter, muscle, blood.

Ефективність препарату на основі молочної кислоти за аерозольної дезінфекції у присутності птиці

В. Л. Коваленко¹, О. М. Чечет², О. С. Гайдей², О. В. Крушельницька³✉

¹Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ, Україна

²Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ, Україна

³Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

У промисловому виробництві м'яса курчат-бройлерів важливу роль відіграє продуктивність та якість м'яса. Для підвищення їхньої продуктивності та якості м'яса створюють оптимальні умови утримання. Це залежить від безлічі факторів, особливо від технології вирощування птиці. Основний спосіб підтримання природної резистентності птахів в умовах виробництва – застосування якісних та безпечних дезінфікуючих препаратів. Експериментальними лабораторними дослідженнями встановлено режими дезінфекції повітря птичників у присутності курчат-бройлерів під час використання дезінфікуючого засобу “Біолайд” на основі перекису водню, надмолочної кислоти та молочної кислоти. Встановлено зменшення мікробного забруднення повітря в приміщеннях, підвищення продуктивності птахів, що дало можливість отримати економічну ефективність виробництва. За результатами досліджень рекомендується оптимальний режим аерозольної дезінфекції приміщень птичників з використанням 0,2 % дезінфікуючого засобу “Біолайд” – 50 мл/м³ приміщення за експозиції 60 хв. Дезінфекція приміщення в присутності птахів під час вирощування бройлерів у період до посадки та обробки кожні 6 днів в період з 6- до 41-добового віку знижує мікробний фон повітря в приміщеннях. Встановлено, що до початку дослідів загальна бактеріальна забрудненість повітря приміщення в дослідній групі становила $191,0 \pm 12,7$ тис. КУО/см³. Після проведення дезінфекції дезінфікуючим препаратом “Біолайд” бактеріальна забрудненість повітря приміщення становила $320,0 \pm 7,1$ КУО/см³, що складає майже 100 % та підтверджує його ефективність. Встановлено, що підвищилася маса тіла курчат в 6-тижневого віку на 225 г порівняно з контрольною групою. Аерозольна обробка повітря не токсична та не має негативного впливу на фізіологічний стан, що підтверджено дослідженнями морфологічних показників крові птиці.

Ключові слова: дезінфікуючий засіб “Біолайд”; аерозольна дезінфекція, курчата-бройлери, токсичність, імунітет.

Вступ

Велику роль у виробництві якісних продуктів харчування відіграють професійно проведені ветеринарно-санітарні заходи. Ветеринарна медицина забезпечує комплекс заходів, які спрямовані на захист птиківництва від занесення та поширення інфекційних збудників хвороб, зменшення втрат від них, і як результат – зростання економічної ефективності вирощування птиці (Kucheruk & Zasiakin, 2020).

Важливим фактором у вирішенні даного завдання є поліпшення генетики поголів'я; постійний контроль за станом здоров'я птахів батьківського поголів'я, моніторинг показників напруженості імунітету до інфекційних бактеріальних та вірусних захворювань; розробка оптимальних зоогігієнічних умов утримання птахів; збалансована годівля; використання якісного інкубаційного матеріалу; підвищений контроль за дотриманням режиму інкубації (Dudar, 2013; Kucheruk et al., 2017; Sobolev et al., 2021; Kyryliv et al., 2021).

Робота фахівців у галузі птиківництва зобов'язує враховувати особливості збудників, їх розповсюдження, стійкість до дезінфікуючих засобів, шляхи потрапляння в організм, патогенез, стійкість організму птиці, стан її імунної системи, наявність засобів специфічної профілактики та ефективність препаратів (Bezus & Antoniuk, 2011; Zasiakin et al., 2011; Karkach et al., 2017; Borges et al., 2019; Bashchenko et al., 2021; Bilyy et al., 2021; Brezvyin et al., 2021).

Якісна та безпечна дезінфекція птиківничих приміщень у присутності птиці має важливе значення. Для дотримання ветеринарно-санітарних заходів необхідно використовувати високоефективні екологічно безпечні препарати, що володіють бактерицидною та пролонгованою дією. На даний час актуальна для сучасного промислового птиківництва розробка нових дезінфікуючих засобів. Вони мають бути прості у застосуванні, нетоксичні, не канцерогенні, з широким спектром протимікробної дії та не впливати на стійкість мікрофлори, забезпечуючи постійну бактерицидну дію у присутності птахів, дезінфекцію та дезодорацію повітря, зв'язування аміаку тощо (Kovalenko et al., 2012; Kucheruk & Zasiakin, 2019; Kovalenko et al., 2020).

Останнім часом виробники пропонують низькотоксичні дезінфікуючі, які виправдовують очікувані

результати низькомолекулярних органічних кислот, гуанідинів та поверхнево-активних речовин. Проте вони не завжди відповідають очікуваним результатам через зниження активності в процесі зберігання, формування резистентності мікроорганізмів, канцерогенної дії, мають різну спрямованість і механізм дії на мікробну клітину (Kovalenko, 2008; Otchenashko, 2012; Maertens et al., 2017; Demchyshyn et al., 2018).

Під час вивчення схеми ротації дезінфікуючих засобів щодо конкретних збудників необхідно враховувати способи застосування у різних виробничих ситуаціях. Наприклад, встановлено, що додавання 0,5 % органічних кислот (молочна, оцтова або мурашина кислота) у питну воду перед транспортуванням птиці призводить до зменшення рівня забруднення курячих туш мікроорганізмами *Salmonella* та *Campylobacter* при їхній переробці (Byrd et al., 2001; Van Immerseel et al., 2006).

Препарати, до складу яких входять органічні кислоти, під час потрапляння в організм птахів збільшують затримку азоту, це пов'язано з більшою проліферацією епітеліальних клітин у шлунково-кишковому тракті (Smulikowska et al., 2009). Органічні кислоти, які потрапляють в організм птиці з кормом, легко перетравлюються, де проявляється дисоціація кислот у шлунку, та допомагають проявляти їхню біологічну активність у дистальних відділах кишечника та ефективно модулювати його мікрофлору і морфологію слизової оболонки у курчат (Hu & Guo, 2007).

Антимікробна здатність та безпечність препаратів на основі молочної кислоти, дозволяють використовувати засіб для дезінфекції приміщення у присутності птахів. Відповідно спрощується процедура знезараження і виключається необхідність додаткових витрат для звільнення приміщення від птахів.

Отримані результати попередніх досліджень на лабораторних тваринах препарату на основі молочної кислоти дозволяє застосування його у птиківництві.

Мета роботи: дослідити ефективність препарату “Біолайд”, розробленого фахівцями Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, у вигляді 0,2 % аерозолі в умовах віварію для санації повітря приміщення у присутності курчат-бройлерів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження якості дезінфекції аерозольним способом дезінфікуючого препарату “Біолайд” (містить перекис водню, надмолочну та молочну кислоти), у присутності курчат-бройлерів проводили на базі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи. Дослід тривав 42 доби.

Групи курчат-бройлерів формували за методом груп аналогів. З відібраної птиці сформували дві групи (контрольна та дослідна) по 50 голів у кожній. Під час досліджень контролювали стан та поведінку птиці, основні зоотехнічні та гігієнічні показники її утримання. Курчат бройлерів кросу COBB-500 утримували в умовах віварію. Птахи були розміщені таким чином, щоб на 1 м² припадало максимум 14 голів. Приміщення постійно утримували в чистоті, перед посадкою птиці стіни й підлога були добре очищені та вимиті. Перед початком експерименту санації піддавали годівниці, напувалки, освітлювальні прилади, термометри. Як підстилку використовували тирсу. Рацион годівлі для бройлерів був стандартним, залежно від віку. Дезінфекцію проводили методами аерозольної обробки, протирання, зрошення, обприскування, замочування, занурення. Для порівняння використовували в окремому приміщенні без присутності птахів дезінфікуючий засіб 2,0 % розчин натрію гідроксиду.

Аерозольну дезінфекцію повітря приміщення пташника проводили 0,2 % розчином препарату “Біолайд” у період до посадки птиці та обробки кожні 6 діб у період з 6- до 41-добового віку вирощування бройлерів аерозольним генератором холодного туману “Dyna-FogTornado” (модель 2897, тип конструкції – ULV-розпилювач електричний, фірма-виробник “CurtisDyna-Fog, Ltd.”, США) в дозі 50,0 см³ на 1 м³ за експозиції 60 хв.

Усі втручання та забій птиці проводили із дотриманням вимог (Yevropeiska konventsia..., 1986) із дозволу комісії з біоетики Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Під час проведення досліджень вивчали мікробну забрудненість повітря в пташниках. Дезінфекцію приміщень проводили у вигляді аерозолі з розміром частинок від 5 до 25 мкм. Контроль якості дезінфекції проводили седиментаційним методом. Посів здійснювали на відкриті чашки Петрі з м'ясопептонним агаром (для визначення кількості бактерій) і окремо з агаром Сабура (для визначення кількості грибів-мікроміцетів). Інкубацію посівів проводили у термостаті за 37 °C протягом 24 годин, після чого підраховували колонії мікроорганізмів. Посіви на агарі Сабура інкубували за температури 22 °C протягом 5 діб (Vandepitte et al., 2003; Standart DIN EN 1656:2010-03; Harkavenko et al., 2019).

На 1, 7, 14, 21, 28, 35 та 42 добу птицю зважували, відбирали кров на дослідження. Кров досліджували на показники кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну, бактерицидної та лізоцимної активності сироватки крові, фагоцитарної активності лейкоцитів. Гематоло-

гічні, біохімічні та імунологічні показники крові досліджували загальноприйнятими методами (Vlizlo, 2012). Вміст гемоглобіну в крові визначали гемоглобінціанідним методом, кількість еритроцитів та лейкоцитів пробірковим методом у камері з сіткою Горяєва (Kotsiumbas et al., 2006; Kotsiumbas, 2009; 2013), гемоглобіну – на колориметрі ФЕК-М. Для визначення бактерицидної активності сироватки крові використовували добову бульйонну культуру *E. coli*, серовар O26, вирощену на бульйоні Хотінгера за методом Смирновой О. В., Кузьминой Т. А. (Smirnova & Kuzmina, 1966). Визначення лізоцимної активності сироватки крові проводили фотонейлометричним методом за В. Г. Дорофейчуком (Dorofejchuk, 1968). Для дослідження використовували тест-культуру *Micrococcus lysodeikticus*, штам 2665. Фагоцитарну активність лейкоцитів крові досліджували в стабілізованій гепарином крові, із використанням добової бульйонної культури *E. coli* (штам BKM) за методикою (Vandepitte et al., 2003; Ponomarenko et al., 2017; Polozniuk & Ushakova, 2019).

Протягом періоду вирощування птиці звертали увагу на масу тіла, загинь, розвиток внутрішніх органів згідно зі стандартними методами, а також витрати кормів (Kotsiumbas et al., 2006; Kotsiumbas, 2009; 2013).

Статистичний аналіз отриманих експериментальних даних проводили, використовуючи програму Excel (Microsoft, USA). Експериментальні дані були оброблені з використанням однобічного дисперсного аналізу. Різницю $P < 0,05$ вважали достовірною.

Результати та їх обговорення

З метою вивчення впливу дезінфікуючого препарату “Біолайд” на показники приросту живої маси курчат-бройлерів здійснювали контрольне зважування протягом усього періоду вирощування. Середня жива маса добових курчат на початку досліді в усіх групах становила 37–41 г. Встановлено, що на 7 добу у курчат дослідної групи вага була більшою на 9,2 г, ніж у контрольній, і становила 168,3 г. На 14 добу спостерігали у курчат дослідної групи збільшення живої маси до 495,1 г порівняно з контролем – 375,4 г. Середня жива маса курчат на 21 добу була більшою у дослідній групі на 217,1 г, ніж у контрольній групі. При зважуванні на 28 добу встановлено, що вага у контрольній групі була на 231 г меншою, ніж у дослідній групі. У віці 35 діб оброблена препаратом група курчат характеризувалася загалом досить високою енергією зростання до моменту закінчення вирощування, була більшою за масу курчат контрольної групи на 228 г. На 42 добу середня жива маса перевищувала контроль у дослідній групі на 225 г (табл. 1).

Максимальний середньодобовий приріст реєстрували на 28 добу віку в курчат-бройлерів у першій дослідній групі. З отриманих даних видно, що дезінфікуючий препарат “Біолайд” позитивно впливає на приріст живої маси курчат-бройлерів, за рахунок зменшення мікробного фону та комфортного мікроклімату приміщення.

Щоденний облік спожитих кормів здійснювали протягом усього періоду вирощування курчат-бройлерів. При аналізі спожитих кормів та результатів контрольних зважувань встановлено, що за час досягнення 42-добового віку спожито майже однаково кількість корму, але рівень віддачі був різним. Разом з цим зменшилась витрата кормів на 1 кг при-

росту маси тіла бройлерів. На отримання 1 кг приросту в контролі було витрачено 1970 г корму, в досліді – 1674 г. Різниця склала 296 г, або 15 %. Забійний вихід чистого м'яса в дослідній групі становив 1746 г, у контрольній – 1489 г, різниця – 257 г. Вихід чистого м'яса у відсотках відрізнявся й становив відповідно у дослідній групі – 79 %, у контролі – 75 %.

Таблиця 1

Показники приросту живої маси курчат-бройлерів під час застосування препарату “Біолайд” аерозольним методом ($M \pm m$)

Групи	Середня жива маса курчат-бройлерів, г					
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба	35 доба	Забій 42 доба
Дослідна	168,3 $\pm$ 3,21*	495,1 $\pm$ 5,42	971,5 $\pm$ 7,25	1401,0 $\pm$ 9,26*	1798,0 $\pm$ 10,12	2210,0 $\pm$ 12,23
Контроль	159,1 $\pm$ 2,95	375,4 $\pm$ 5,01	754,4 $\pm$ 6,86	1170,0 $\pm$ 8,53	1570,0 $\pm$ 9,78	1985,0 $\pm$ 11,36

Примітка: рівень достовірності * – $P < 0,05$ порівняно з контролем

При дослідженні природної резистентності у бройлерів контрольної та дослідної груп на 1, 4, 8, 11, 15, 28, 37 та 42 добу вирощування відбирали зразки крові.

При дослідженні крові встановлено незначне збільшення лейкоцитів у бройлерів дослідної групи у межах фізіологічної норми після проведення дезінфекції. Кількість еритроцитів також відповідала нормі в експериментальній та контрольній групі птиці (табл. 2). За результатами досліджень встановлено достовірне збільшення кількості гемоглобіну у межах фізіологічної норми, що корелює з показниками ерит-

роцитів в дослідній групі порівняно з контрольною групою.

У досліді встановлено достовірне підвищення лізоцимної ($51,8 \pm 0,36$ проти $41,3 \pm 0,14$ %) активності сироватки крові птиці за рахунок лізоциму, який секретується фагоцитами та є неспецифічним фактором імунної системи. Бактерицидна активність сироватки крові дослідної групи птиці зросла ($56,1 \pm 2,33$ проти $45,2 \pm 2,23$ %), що підтверджує здатність пригнічувати і знешкоджувати мікробні агенти.

Таблиця 2

Вікові зміни морфологічних показників крові курчат-бройлерів дослідної і контрольної груп ($n = 100$)

Показник, одиниці вимірювання, дослід/контроль	Вік птиці (доба)							
	1	4	8	11	15	28	37	42
Лейкоцити, Г/л	22,4 $\pm$ 0,25	22,5 $\pm$ 0,21	22,8 $\pm$ 0,56	23,3 $\pm$ 0,25	24,8 $\pm$ 0,28	25,6 $\pm$ 0,82*	26,5 $\pm$ 0,91*	30,1 $\pm$ 0,83*
	21,9 $\pm$ 0,12	21,4 $\pm$ 0,15	22,4 $\pm$ 0,41	23,1 $\pm$ 0,15	24,1 $\pm$ 0,32	21,1 $\pm$ 0,53	20,1 $\pm$ 0,52	22,5 $\pm$ 0,57
Еритроцити, Т/л	3,68 $\pm$ 0,16	3,29 $\pm$ 0,36	3,31 $\pm$ 0,15	3,49 $\pm$ 0,36	3,54 $\pm$ 0,15	3,65 $\pm$ 0,74	3,77 $\pm$ 0,86*	3,85 $\pm$ 0,78*
	3,13 $\pm$ 0,24	3,21 $\pm$ 0,25	3,25 $\pm$ 0,41	3,19 $\pm$ 0,19	3,23 $\pm$ 0,35	3,31 $\pm$ 0,45	3,51 $\pm$ 0,46	3,51 $\pm$ 0,32
Гемоглобін, г/л	85,2 $\pm$ 0,45*	91,8 $\pm$ 0,12	93,4 $\pm$ 0,45	96,1 $\pm$ 0,23*	99,8 $\pm$ 0,52*	104,1 $\pm$ 0,54*	105,3 $\pm$ 0,58*	108,1 $\pm$ 0,78*
	89,1 $\pm$ 0,63	92,3 $\pm$ 0,14	91,3 $\pm$ 0,47	92,1 $\pm$ 0,36	90,3 $\pm$ 0,23	91,1 $\pm$ 0,46	92,3 $\pm$ 0,63	92,5 $\pm$ 0,68
Фагоцитарна активність, %	41,9 $\pm$ 0,12	42,5 $\pm$ 1,35	44,3 $\pm$ 1,25	46,2 $\pm$ 1,36	48,0 $\pm$ 1,0	49,1 $\pm$ 1,25	50,1 $\pm$ 1,26	50,9 $\pm$ 1,78
	40,8 $\pm$ 1,32	42,2 $\pm$ 1,68	43,3 $\pm$ 1,47	45,1 $\pm$ 1,71	46,9 $\pm$ 1,21	46,5 $\pm$ 1,89	46,2 $\pm$ 1,14	46,1 $\pm$ 1,16
Лізоцимна активність, %	39,2 $\pm$ 0,23	39,8 $\pm$ 0,13	40,2 $\pm$ 0,51	41,1 $\pm$ 0,20	43,8 $\pm$ 0,45*	49,5 $\pm$ 0,23*	51,2 $\pm$ 0,85*	51,8 $\pm$ 0,36*
	38,1 $\pm$ 0,35	38,7 $\pm$ 0,02	38,8 $\pm$ 0,47	39,2 $\pm$ 0,58	40,3 $\pm$ 0,75	41,5 $\pm$ 0,36	41,5 $\pm$ 0,15	41,3 $\pm$ 0,14
Бактерицидна активність, %	38,6 $\pm$ 1,02	38,8 $\pm$ 1,23	39,0 $\pm$ 2,11	40,5 $\pm$ 1,56	42,5 $\pm$ 1,50	45,2 $\pm$ 1,52*	53,4 $\pm$ 1,25*	56,1 $\pm$ 2,33*
	37,1 $\pm$ 1,12	38,3 $\pm$ 1,14	38,8 $\pm$ 1,47	38,9 $\pm$ 1,25	41,0 $\pm$ 1,85	44,5 $\pm$ 1,26	46,3 $\pm$ 2,31	45,2 $\pm$ 2,23

Примітка: верхній рядок – дослід, нижній – контроль; * – ($P < 0,05$) – порівняно з контрольною групою; норми показників у птиці: еритроцити – 3–4 тис./л; лейкоцити – 20–40 г/л; гемоглобін – 80–120 г/л; фагоцитарна активність – 40–60 %; лізоцимна активність – 30–35 %; бактерицидна активність – 40–60 %

Аерозольна дезінфекція препаратом “Біолайд” в 0,2 % концентрації забезпечувала ефективну санацію повітря приміщення. Встановлено, що до початку досліді загальна бактеріальна забрудненість повітря приміщення в контрольній – $207,1 \pm 15,42$ тис. КУО/см³ та дослідній групах становила $191,0 \pm 12,7$ тис. КУО/см³. Після проведення дезінфекції дезінфікуючим препаратом “Біолайд” бактеріальна забрудненість повітря при-

міщення становила $320,0 \pm 7,1$ КУО/см³, що складає майже 100 % та підтверджує його ефективність.

Від 6- до 41-ї доби в приміщенні після аерозольної дезінфекції спостерігали бактерицидний ефект щодо мікроорганізмів 0,2 % розчином “Біолайд” за експозиції 60 хв. Ефективність обробки натрію гідроксидом в 2,0 % концентрації за 60 хв становила 92,6 %. Результати підтверджені відсутністю росту мікрооргані-

змів на поживних середовищах, які були в приміщеннях після дезінфекції.

Таким чином, попередньо визначена концентрація препарату в лабораторних дослідах є рекомендованою для проведення ефективної аерозольної дезінфекції приміщень. Результати досліджень препарату “Біолайд” підтвердили попередні дослідження щодо застосування дезінфікуючого засобу у присутності пти-

ці. Встановлена певна кореляція показників резистентності птиці до дезінфектантів та їхній вплив на мікроорганізми в приміщенні (Ponomarenko et al., 2021).

Для аерозольної дезінфекції у присутності птиці автори рекомендують окремі дезінфектанти (Nechyporenko et al., 2020), інші засоби рекомендують безпосередньо в органічному птахівництві (Kucheruk et al., 2019).

Таблиця 3

Режими та контроль якості дезінфекції дослідними засобами

Дезінфікуючий засіб	Концентрація, %	Експозиція, хв	До дезінфекції, тис. КУО/см ³	Після дезінфекції, КУО/см ³	Ефективність знезараження, %
“Біолайд”	0,2	60	191,0 ± 12,7	320,0 ± 7,1	99,8
Контроль: натрій гідроксид	2,0	60	207,1 ± 15,42	15200,0 ± 134,0	92,6

Використання аерозольної дезінфекції забезпечує зменшення витрат дезінфектантів порівняно з вологою дезінфекцією. Дезінфікуючі засоби при розпилюванні мають найдрібніші частинки, за рахунок цього збільшується їхня активність та підвищується ефективність (Yakubchak, 2010). Аерозольна дезінфекція дає можливість одночасного проведення аерозольної дезінсекції, що також позитивно впливає на епізоотичний стан господарства, а маючи велику проникну здатність, санує разом з поверхнею приміщення і повітряне середовище в ньому.

Таким чином, отримані результати досліджень свідчать про позитивний вплив аерозольної дезінфекції повітря препаратом “Біолайд” у присутності птахів на їхній ріст і розвиток. Дезінфекція сприяє зниженню патогенних мікроорганізмів у повітрі пташника, що впливає на організм птиці. Як результат – збільшення маси тіла птиці, забійного виходу, підвищення метаболізму організму і резистентності.

Висновки

За дезінфекції повітря приміщення 0,2 % розчином препарату “Біолайд” у дозі 50 см³ на 1 м³ повітря за експозиції 60 хвилин у присутності курчат-бройлерів встановлена висока бактерицидна ефективність. За клінічними показниками організму птахів та морфологічними показниками крові препарат – не токсичний.

Перспективами подальших досліджень є випробування препарату “Біолайд” на курчатах-бройлерах у виробничих умовах.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

Bashchenko, M. I., Boiko, O. V., Honchar, O. F., Gutyj, B. V., Lesyk, Y. V., Ostapyuk, A. Y., Kovalchuk, I. I., & Leskiv, Kh. Ya. (2020). The effect of milk thistle, metiphen, and silimevit on the protein-synthesizing

function of the liver of laying hens in experimental chronic cadmium toxicosis. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(6), 164–168. DOI: 10.15421/2020_276.

Bezus, R. M., & Antoniuk, H. Ya. (2011). Rynok orhanichnoi produktsii v Ukraini: problemy ta perspektyvy. *Ekonomika APK*, 6, 47–52 (in Ukrainian).

Bilyy, O., Kotsyumbas, I., Kushnir, I., Grechukh, T., Hnatysh, S., Maslovska, O., Gutyj, B., & Kushnir, V. (2021). Light-scattering properties of microorganisms *Desulfuromonas acetoxidans* by influence of silver. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 4(1), 7–11. DOI: 10.32718/ujvas4-1.02.

Borges, C. A., Tarlton, N. J., & Riley, L. W. (2019). *Escherichia coli* from Commercial Broiler and Backyard Chickens Share Sequence Types, Antimicrobial Resistance Profiles, and Resistance Genes with Human Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*. *Foodborne Pathog Dis*, 16(12), 813–822. DOI: 10.1089/fpd.2019.2680.

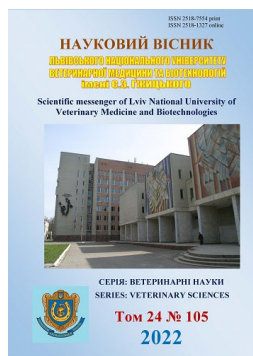
Brezvyn, O. M., Guta, Z. A., Gutyj, B. V., Fijalovych, L. M., Karpovskiy, V. I., Shnaider, V. L., Farionik, T. V., Dankovych, R. S., Lisovska, T. O., Bushuieva, I. V., Parchenko, V. V., Magrelo, N. V., Slobodjuk, N. M., Demus, N. V., & Leskiv, Kh. Ya. (2021). The influence of HamekoTox on the morphological and biochemical indices of the blood of laying hens in spontaneous fumonisin toxicosis. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(2), 249–253. DOI: 10.15421/2021_107.

Byrd, J. A., Hargis, B. M., Caldwell, D. J., Bailey, R. H., Herron, K. L., McReynolds, J. L., Brewer, R. L., Anderson, R. C., Bischoff, K. M., Callaway, T. R., & Kubena, L. F. (2001). Effect of lactic acid administration in the drinking water during pre-slaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broilers. *Poultry Sci.*, 80(3), 278–283. DOI: 10.1093/ps/80.3.278.

Demchyshyn, O. V., Kukhtyn, M. D., & Perkii, Yu. B. (2018). Toksychnist ta biolohichna tsinnist miasa kurchat-broileriv za vypoivuvannya pidkysliuvacha “Akvasan”. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterinarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Gzhytskoho*, 20(92), 94–97. DOI: 10.32718/nvlvet9218 (in Ukrainian).

- Dorofejchuk, V. G. (1968). Opredelenie lizocimnoj aktivnosti syvorotki krovi nefelometricheskim metodom. *Laboratornoe delo*, 1, 28–31 (in Russian).
- Dudar, O. (2013). Kontseptualni osnovy rozvytku orhanichnoho ahrovyrobnystva v Ukraini. *Visnyk TNEU*, 1, 56–66. URL: <http://dspace.wunu.edu.ua/bitstream/316497/8873/1/Дудар%20О..pdf> (in Ukrainian).
- Harkavenko, T. O., Kovalenko, V. L., Horbatiuk, O. I., Pinchuk, N. H., Kozytska, T. H., Harkavenko, V. M., & Ordynska, D. O. (2019). Metodychni rekomendatsii z vyznachennia bakterytsydnoi aktivnosti ta kontroliu vidсутnosti bakteriostatychnoho efektu dezinfikuiuchykh zasobiv. *DNDILDVSE*. Kyiv (in Ukrainian).
- Hu, Z., & Guo, Y. (2007). Effects of dietary sodium butyrate supplementation on the intestinal morphological structure, absorptive function and gut flora in chickens. *Animal Feed Sci. Technol.*, 132(3-4), 240–249. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2006.03.017.
- Karkach, P. M., Mashkin, Yu. O., & Bilkevych, V. V. (2017). Innovatsiini tekhnolohii vyrobnystva produktsii ptakhivnystva u prysadybnykh i fermerskykh hospodarstvakh. *Suchasne ptakhivnystvo*, 5-6, 25–30 (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, I. Ia. (2009). Kompleksna otsinka vplyvu veterynarykh preparativ na morfofunktsionalnyi stan imunnoi systemy: Metodychni rekomendatsii. Lviv (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, I. Ia. (2013). Klinichni doslidzhennia veterynarykh preparativ ta kormovykh dobavok. Lviv: TOV Vydavnytstvo dim SAM (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, I. Ya., Malyk, O. H., Patereha, I. P. ta in. (2006). Doklinichni doslidzhennia veterynarykh likarskykh zasobiv. Lviv: Triada plus (in Ukrainian).
- Kovalenko, V. L. (2008). Aktualni problemy zastosuvannia dezinfikuiuchykh preparativ. *Vet. biutekhnolohii: biul.*, 12, 78–90 (in Ukrainian).
- Kovalenko, V. L., Garkavenko, V. M., Ponomarenko, G. V., Ponomarenko, O. V., Kukhtyn M. D., & Kovalenko, P. L. (2018). Effectiveness and safety of “Barez” drug for aerosol treatment of premises in the presence of animals. *Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC*, 6(1), 46–51 (in Ukrainian).
- Kovalenko, V. L., Hnatenko, A. V., & Ponomarenko, H. V. (2012). Porivnialne vyznachennia toksychnosti bakterytsydneykh zasobiv za pokaznykamy hostroi toksychnosti ta alternatyvnykh metodiv. *Problemy zoonzhenerii ta veterynarnoi medytyny*, 25(2), 169–173 (in Ukrainian).
- Kovalenko, V. L., Ponomarenko, G. V., Kukhtyn, M. D., Paliy, A. P., Bodnar, O. O., Rebenko, H. I., Kozytska, T. G., Makarevich, T. V., Ponomarenko O. V., & Paliy A. P. (2020). Evaluation of acute toxicity of the “Orgasept” disinfectant. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(4), 273–278. DOI: 10.15421/2020_1982.
- Kucheruk, M. D., & Zasiiekin, D. A. (2019). Vplyv mikroklimatu ptashnykiv na zberezhenist pytsi za orhanichnoho vyroshchuvannia. *Suchasne ptakhivnystvo*, 1-2(194-195), 5–16. URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Ptakhivnystvo/article/view/13595> (in Ukrainian).
- Kucheruk, M. D., & Zasiiekin, D. A. (2020). Orhanichne ptakhivnystvo Ukrainy: veterynarno-sanitarne zabezpechennia tekhnolohii: monohrafiia. Kyiv (in Ukrainian).
- Kucheruk, M. D., Zasiiekin, D. A., & Dymko, R. O. (2019). Vykorystannia kompozytsii nanorozchyniv sribla ta molochnoi kysloty dlia veterynarnoi dezinfektsii. *Nanosystemy, nanomaterialy, nanotekhnolohii*, 17(4), 609–619 (in Ukrainian).
- Kucheruk, M. D., Zasiiekin, D. A., Dymko, R. O., & Shcherbina, O. A. (2017). Sanitarно-higienichni umovy utrymannia pytsi za orhanichnoho vyroshchuvannia yak chynnyk produktyvosti. *Bioresursy i pryrodokorystuvannia Ukrainy*, 9(5–6), 116–125. DOI: 10.31548/bio2017.05.015 (in Ukrainian).
- Kyryliv, B. Ya., Hunchak, A. V., Ratysh, I. B., & Gutyj, B. V. (2021). Influence of alimentary factors on the absorption of feed nutrients and poultry productivity. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural sciences*, 23(95), 3–14. DOI: 10.32718/nvlvet-a9501.
- Maertens, H., De, R. K., Van, W. S., Van, C. E., Meyer, E., Van, M. H., & Dewulf, J. (2017). Evaluation of the hygienogram scores and related data obtained after cleaning and disinfection of poultry houses in Flanders during the period 2007 to 2014. *Poult. Sci.*, 97(2), 620–627. DOI: 10.3382/ps/pex327.
- Nechyporenko, O. L., Berezovskyi, A. V., & Shkromada, O. I. (2020). Vyznachennia parametriv hostroi toksychnosti dezinfikuiui-choho zasobu ADG. *Naukovi horyzonty*, 04(89), 108–114 (in Ukrainian).
- Otchenashko, V. V. (2012). Vykorystannia molochnoi kysloty u tvarynnytsvi: naukovo-praktychni rekomendatsii. Kyiv (in Ukrainian).
- Polozhiuk, O. N., & Ushakova, T. M. (2019). *Gematologija: uchebnoe posobie*. Donskoj GAU (in Russian).
- Ponomarenko, G. V., Kovalenko, V. L., Balatskiy, Y. O., Ponomarenko, O. V., Paliy, A. P., & Shulyak, S. V. (2021). Bactericidal efficiency of preparation based on essential oils used in aerosol disinfection in the presence of poultry. *Regul. Mech. Biosyst.*, 12(4), 635–641. DOI: 10.15421/022187.
- Ponomarenko, G. V., Kovalenko, V. L., Ponomarenko, O. V., & Balackiy, Yu. O. (2017). Effects of microbicide based on lactic acid and metal nanoparticles on laboratory animals. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(4), 482–485. URL: <https://www.ujecology.com/articles/effects-of-microbicide-based-on-lactic-acid-and-metal-nanoparticles-on-laboratory-animals.pdf>.
- Smirnova, O. V., & Kuzmina, T. A. (1966). Opredelenie baktericidnoj aktivnosti syvorotki krovi metodom fetonefelometrii. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*, 4, 20–22 (in Russian).
- Smulikowska, S., Czerwiński, J., Mieczkowska, A., & Janowski, J. (2009). The effect of fat-coated organic acid salts and a feed enzyme on growth performance, nutrient utilization, microflora activity, and morphology of the small intestine in broiler chickens. *J. Animal Feed Sci.*, 18, 478–489. DOI: 10.22358/jafs/66422/2009.
- Sobolev, O. I., Lisohurska, D. V., Pyvovar, P. V., Topolnytskyi, P. P., Gutyj, B. V., Sobolieva, S. V.,

- Borshch, O. O., Liskovich, V. A., Verkholiuk, M. M., Petryszak, O. Y., Kuliaba, O. V., Golodiuk, I. P., Naumjuk, O. S., Petryszak, R. A., & Dutka, H. I. (2021). Modeling the effect of different dose of selenium additives in compound feed on the efficiency of broiler chicken growth. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(2), 292–299. DOI: 10.15421/2021_113.
- Standart DIN EN 1656:2010-03 “Khimichni dezinfektsiini ta antyseptychni zasoby – kilkisnyi suspenziyni test dlia vyznachennia bakterytsydoi aktyvnosti khimichnykh i antyseptychnykh zasobiv, yaki zastosovuiutsia v haluzi veterynarii – Metod vyznachennia ta vymohy (faza 2, krok 1)” (in Ukrainian).
- Van Immerseel, F., Russell, J. B., Flythe, M. D., Gantois, I., Timbermont, L., Pasmans, F., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2006). The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. *Avian. Pathol*, 35(3), 182–188. DOI: 10.1080/03079450600711045.
- Vandepitte, J., Verhaegen, J., Engbaek, K., Rohner, P., Piot, P., & Heuck, C. C. (2003). *Basic laboratory procedures in clinical bacteriology*. 2nd ed. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 188 p.
- Vlizlo, V. V. (2012). *Laboratorni metody doslidzhennia u biolohii, tvarynnytstvi ta veterynarii medytsyni: dovidnyk* Lviv: Spolom (in Ukrainian).
- Yakubchak, O. M. (2010). *Veterynarna dezinfektsiia*. Kyiv: Kompaniia Bioprom (in Ukrainian).
- Yevropeiska konventsia pro zakhyst khrebetnykh tvaryn, shcho vykorystovuiutsia dlia doslidnykh ta inshykh naukovykh tsilei. Strasburh, 18 bereznia 1986 roku. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137 (in Ukrainian).
- Zasiekin, D. A., Diachenko, S. V., & Kucheruk, M. D. (2011). Shchodo mikrobnoho zabrudnennia povitrianooho seredovyshcha ptashnykiv. *Zbirnyk naukovykh prats VNAU. Seria: s.-h. nauky*, 8(48), 132–134. URL: <http://81.30.162.23/repository/card.php?lang=uk&id=4923> (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10506

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 637.12.04/.07:636.2.034.083

Influence of technological factors on milk quality indicators

V. M. Sokoliuk^{1✉}, V. B. Dukhnytsky², T. V. Krupelnytsky¹, I. P. Ligomina¹, A. S. Revunets¹, V. M. Prus¹

¹Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

²National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Article info

Received 14.01.2022

Received in revised form

17.02.2022

Accepted 18.02.2022

Polissia National University,
Sary Boulevard, 7, Zhytomyr,
10008, Ukraine.
Tel.: +38-097-891-18-40
E-mail: vmsokoluk@gmail.com

National University of Life and
Environmental Sciences of
Ukraine, Heroyiv Oborony Str., 15,
Kyiv, 03041, Ukraine.

Sokoliuk, V. M., Dukhnytsky, V. B., Krupelnytsky, T. V., Ligomina, I. P., Revunets, A. S., & Prus, V. M. (2022). Influence of technological factors on milk quality indicators. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 37–43. doi: 10.32718/nvlvet10506

The article presents a study of the organization of milk production technology on the farm with tethered and tethered-boxing of cows. It has been established that one of the departments uses Dairy Plan C21 herd management software. This makes it possible to obtain comprehensive data on milk productivity, health, and behavior of each cow, group of animals, and the herd. Pre- and post-milking treatment of cows' teats with means based on a probiotic culture of *Bacillus subtilis*, Forticept® Udder Wash, and Zooprotect. According to the research results, data on production and sales were obtained, and indicators of quality and safety of whole raw milk from two departments were analyzed. Gross milk production for the year at section 1 with free-range boxing of cows was 1875.4 tons, the average annual yield per cow – 7381 kg, milk marketability – 96.3 %. The production figures for section № 2 with tethered animals were – 1324.2 tons, 7333 kg, and 96.5 %, respectively. The study found that the average annual amount of MAFANM in milk from cows at tethered housing was $37 \pm 3.6 \times 10^4$ thousand CFU/cm³; loose-box – $35 \pm 4.1 \times 10^4$ thousand CFU/m³; the number of somatic cells is 327.8 ± 28.73 and 332.1 ± 29.91 thousand cm³, respectively. In the milk of cows from section № 2 the protein content was 3.19 ± 0.067 %, fat – 3.78 ± 0.106 %, fat/protein ratio – 1.18 : 1. Slightly higher values were obtained when studying cows' milk from the sections № 1 – 3.22 ± 0.033 ; 3.88 ± 0.093 %, and 1.21 : 1, respectively. According to normative indicators, the fat/protein ratio is 1.2–1.4 : 1. It should be noted that deviations from these indicators indicate a violation of metabolic processes in cows. Indicators of acidity and density in cow's milk were within the normative values. According to research, no heavy metals, pesticides, radionuclides, or inhibitors have been detected in whole raw milk. Therefore, analyzing the data obtained, it should be noted that the milk produced on the farm and sold to processing enterprises meets the requirements for quality milk. According to the national standard, it is suitable for producing quality and safe products.

Key words: technology, dairy cows, productivity, udder hygiene, milk quality, bacterial contamination, somatic cells.

Вплив технологічних чинників на показники якості молока

В. М. Соколюк^{1✉}, В. Б. Духницький², Т. В. Крупельницький¹, І. П. Лігоміна¹, А. С. Ревунець¹, В. М. Прус¹

¹Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

²Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

У статті наведено дослідження організації технології виробництва молока в господарстві за прив'язного і безприв'язно-боксного утримання корів. Встановлено, що на одному з відділків використовують програмне забезпечення управління стадом Dairy Plan C21. Це дає можливість отримувати комплексні дані щодо молочної продуктивності, стану здоров'я і поведінки, як кожної окремої корови, групи тварин так і стада в цілому. Вивчено, що перед-і після доїльної обробки шкіри дійок корів проводять засобами на основі пробіотичної культури *Bacillus subtilis*, препаратами Forticept® Udder Wash і Зоопротект. За результатами досліджень отримано дані щодо виробництва і реалізації, проаналізовано показники якості і безпечності сирого збірного молока з

двох відділків. Валове виробництво молока за рік на відділку № 1 з безприв'язно-боксовим утриманням корів становило 1875,4 тонн, середньорічний надій на одну корову – 7381 кг, товарність молока – 96,3 %. Виробничі показники на відділку № 2 з прив'язним утриманням тварин були – 1324,2 тонн, 7333 кг і 96,5 % відповідно. Дослідженням встановлено, що середньорічні показники кількості МАФАНМ у молоці корів за прив'язного утримання становили $37 \pm 3,6 \times 10^4$ тис. КУО/см³; безприв'язно-боксівого – $35 \pm 4,1 \times 10^4$ тис. КУО/см³; кількість соматичних клітин $327,8 \pm 28,73$ і $332,1 \pm 29,91$ тис./см³ відповідно. У молоці корів відділення № 2 вміст білку становив $3,19 \pm 0,067$ %, жиру – $3,78 \pm 0,106$ %, співвідношення жир/білок – $1,18 : 1$. Деяко вищі показники були отримані за дослідження молока корів відділення № 1, які становили – $3,22 \pm 0,033$, $3,88 \pm 0,093$ % та $1,21 : 1$ відповідно. Відповідно, за нормативного показника, відношення жир/білок $1,2-1,4 : 1$. Слід відзначити, що відхилення від цих показників свідчить про порушення метаболічних процесів в організмі корів. Показники кислотності та густини молока корів знаходилися в межах нормативних значень. За результатами досліджень у сирому збірному молоці не виявлено важких металів, пестицидів, радіонуклідів та інгібувальних речовин. Отже, аналізуючи отримані дані слід відмітити, що молоко, яке виробляється в господарстві і реалізується на переробні підприємства відповідає вимогам до якісного молока. Згідно національного стандарту воно є придатним для виготовлення якісної і безпечної продукції.

Ключові слова: технологія, дійні корови, продуктивність, гігієна вимені, якість молока, бактеріальне обсіменіння, соматичні клітини.

Introduction

The dairy industry is an essential part of agricultural production, both in terms of labor and material resources and the cost of production. Dairy farming is developing in almost all agricultural enterprises of Ukraine. This is facilitated by relatively favorable conditions in the agricultural sector, large areas of onions on farms, and a developed structure of forage crops in crop rotation (Petrichenko, 2017; Radko & Bidula, 2017).

Stable high milk productivity of cows can be achieved due to the corresponding genetic potential and analytical technologies for feeding and keeping cattle (Evink & Endres, 2016; Petrov et al., 2016). The milk production process should be ensured by fulfilling the main tasks on the farm: increasing the productivity of animals and continuing their economic use, reducing the cost of production and its high quality, and ensuring the environmental safety of production.

The primary link where milk quality is formed is a farm or complex that works on specific technologies. Nevertheless, regardless of the production components, the product must have quality characteristics due to the composition properties of nutritional, biological, and energy value. That is why the milk quality management system should focus on technological production processes and its primary processing (Paliy et al., 2020; Lopreiato et al., 2020; Rajola-Schultz et al., 2021).

Reserves to increase the production of high-quality products are determined in the comprehensive analysis of technologies used in the economy. In this regard, there is a need for a comprehensive study of the state and directions of development of milk production, identifying the main ways of rational use of technology and increasing their efficiency.

The work aims to analyze the milk quality and the sales level depending on the technology of its production in the LLC “Agroholding 2012” Khmelnytsky region.

Materials and methods

In the course of the work, the analysis of the existing technologies of milk production, indicators of its quality, and level of realization in the conditions of LLC “Agroholding 2012” during 2021 was carried out. Determination of milk quality indicators was carried out in Khmelnytsky

Regional State Laboratory of the State Service for Food Safety and Consumer Protection, Dunayevets Interdistrict State Laboratory of the State Food and Consumer Service, and Test Laboratory of SmartBioLab LLC (Kharkiv).

The material for the study was 320 dairy cows of the black-spotted breed. The stall system with tethered maintenance is used on the dairy farm of department № 2, where there are 136 cows, milking cows twice, in the milk line. H 12 and Z 2 products based on the probiotic culture of *Bacillus subtilis* are used to treat cows' udders before and after milking. These are clear, oily, odorless liquids. According to the instructions for use, the concentrate was diluted in water at a temperature of 40 °C and kept for 6–8 hours near a heat source. The working solution was applied using a sprayer, which allows disinfection of both the teats' surface and the udder's skin.

All experimental interventions were carried out in compliance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Scientific Purposes (Strasbourg, 1985) and the decisions of the First National Congress on Bioethics (Kyiv, 2001).

On the dairy farm of department № 1, year-round stable free-range and boxing of animals are used. The department keeps 184 dairy cows, milking three times, carried out in the milking parlor. Forticept® Udder Wash is used to treat the skin of teats and udders of cows before milking. It is a safe and effective disinfectant containing natural ingredients. It contains benzalkonium chloride (0.13 mg/ml), chamomile extracts, and yarrow. The working solution is prepared by diluting the drug in water (1 : 3). It has detergent, disinfectant, and foaming properties. The tool is applied with glass by immersing the udder teats for 15 seconds. The tool is used by complete immersion of the udder teats in the working solution of the drug for 15 seconds. The first streams of milk are milked, and the udder is thoroughly dried with a disposable napkin. To preserve the udder of cows after milking, teats are treated with Zooprotect (Sanvet, Ukraine). The product is ready to use and contains iodine, organic acids, and anti-inflammatory components. It has bactericidal and fungicidal properties and has anti-inflammatory and regenerating effects. This ensures fast and effective skin disinfection and creates reliable protection for teats.

Based on the reporting documentation, the analysis of quality and realization of milk depending on production

technologies within 12 months was carried out. The amount of sold milk in physical mass and terms of essential milk (kg) and mass fraction of fat (%) was taken into account during the research. The characteristics of milk that form its grade were also determined. The national standard DSTU 3662: 2018 was used as the normative value of milk grade. “Specifications” (DSTU 3662:2018). Samples of whole raw milk were taken to comply with DSTU ISO 707: 2002. Bacteriological studies were performed following DSTU IDF 100B-2003; the total number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic organisms (MAFAnM) was determined following DSTU 7557: 2013; the number of somatic cells – DSTU 7672: 2014. Studies of physico-chemical parameters of milk included: determination of protein content – DSTU ISO 8968-1: 2005; fat content – DSTU ISO 1211: 2002; densities – DSTU 6082: 2009; acidity – GOST 3642: 92. The inhibitory substances assessed milk's safety – DSTU 8397: 2015; radionuclides – GH-6.6.1.1-130-2006; pesticides – MB 3222-85; heavy metals: arsenic – MU GRG-107-2005; mercury – MV-04-06; lead, cadmium – GOST 3078-96.

Statistical processing of the obtained data was performed using Microsoft Excel 2017. The arithmetic mean (M) and its error (m) were determined.

Results and discussion

According to the developed scheme at the beginning of the study, the analysis of milk production technology

on the farm was carried out. It is established that it meets the existing requirements.

Thus, the reconstruction of livestock premises with cows kept on a dairy farm on the № 2 dairy farm improved the conditions for cattle. Due to the relatively small investment, this has become an attractive alternative to free-range boxing.

In Ukraine, according to the Association of Milk Producers, the share of cows on a leash is about half of the total herd. The main requirement for cows to be tethered is their suitability for machine milking (Popko, 2020). Distribution of fodder on the farm is mechanized, carried out twice with the help of a feed distributor brand “Bpvkun”. The feeding of cows is carried out according to the established norms, according to rations for each technological group–watering animals – from automatic drinkers. Next to the drinkers are special containers for feed additives. Milking of cows is carried out by the milking unit “Braclav company” (Ukraine). Milk is transported in a container for primary processing and temporary storage. Cows are harvested on playgrounds with canopies, and there is also a fodder table. Free-range boxing of cows on rubber mats, which is used on a dairy farm, department № 1 is considered more progressive (Fig. 1). Cows are fed on mixed rations. Distribution of feed twice, using a feed mixer brand “Ermes”. Keeping animals close to natural conditions provides them with well-being; high biological activity increases the body's resistance and improves reproductive capacity (Cronin et al., 2014).



a



b

Fig. 1. Free-range keeping of cows: a – premises, b – feeding grounds

Milking of cows is carried out in the milking parlor with a “Yalinka” type unit for 24 places (Fig. 2). The machines are equipped with milking machines and other means to control and control the process of milking and animal care.

In current conditions, for the successful conduct of dairy farming at the professional level, it is necessary to consider the primary factors and control their dynamics. Detailed information is needed to plan activities, monitor

milk production and livestock reproduction, and control the feeding and health of cows. The obtained data are analyzed and quickly integrated into the existing herd management system (Dersk et al., 2014). The department uses Dairy Plan C21 herd management software. Identification of cows is carried out during milking with the help of respondents. Information from the digital chip built into the collar is transferred to the file (Fig. 3).

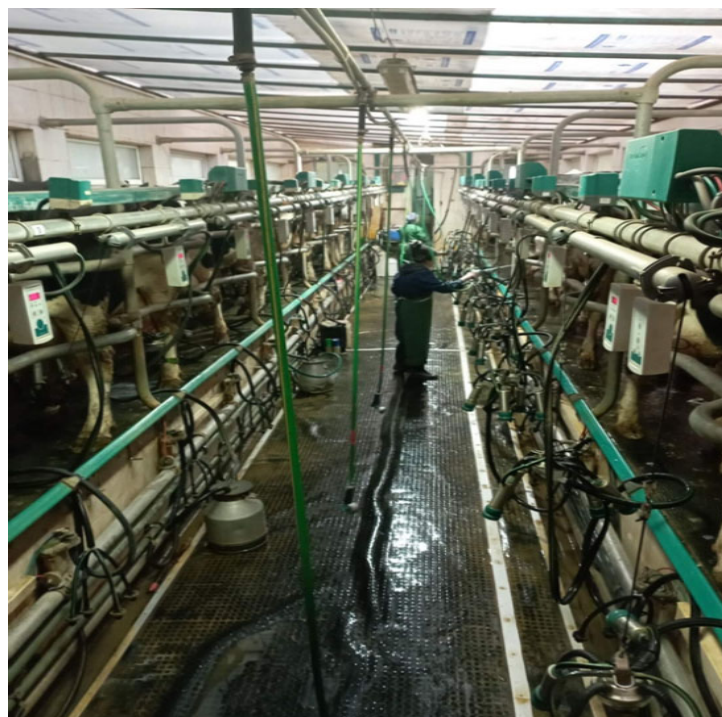


Fig. 2. Milking machine type “Pine tree”



Fig. 3. Cows with a responder

Electronic animal recognition is necessary for automated registration and data processing of all cows. We get a comprehensive picture of each animal's milk productivity, health, and behavior. The availability of reliable indicators for each individual cow, group of animals, and the herd is the basis of the daily activities of the farm.

Our research analyzed the milk productivity of cows on the farm and the sale of products to processing plants. A total of 21.176 tons of milk was produced during the

year. The average annual yield per cow on the farm was 7.158 kg of milk. Gross milk production per year on a dairy farm with loose and box maintenance was 1875.4 tons, the average annual yield per cow – was 7381 kg, and marketability was 96.3 % (Table 1). The production figures for tethered maintenance were 1324.2 tons, 7333 kg, and 96.5 %, respectively. The fat content of milk sold on the farm of department № 1 was – 3.88 % and № 2 – 3.78 %, respectively.

Table 1

Production and sale of milk on the farm

Indicators	Department № 1 Loose-fitting boxing	Department № 2 Tethered hold
Average annual milking per cow, kg	7381	7333
Gross milk production per year, t	1875.4	1324.2
Sales of milk by physical weight, t	1630.9	1181.6
Mass fraction of fat in milk, %	3.88	3.78
Marketability of milk, %	96.3	96.5

The increased bacterial contamination of milk results from non-compliance with sanitary and hygienic requirements during production and storage. High bacterial contamination leads to poor taste, the reduced nutritional value of raw milk and products made from it, and significantly reduced shelf life. Processing plants that use modern technologies cannot use such raw materials and produce high-quality and safe products (Dugdill et al., 2013).

Analyzing the indicators of bacterial contamination of milk obtained by different production technology, it should be noted that they differed slightly in departments (table 2).

The indicators of bacterial contamination of milk obtained from cows of different departments differed slightly, which, in our opinion, is due to different technologies of its production.

The average annual indicators of the amount of MAFAnM in raw milk from a dairy farm with tethered and untethered boxing content were $37 \pm 3.6 \times 10^4$ and $35 \pm 4.1 \times 10^4$ thousand CFU/cm³, respectively. Bacterial insemination of milk is significantly increased mastitis in cows. The quantitative and species composition of bacteria found in cows' milk with mastitis depends on the form of mastitis, its course, and the type of pathogens (Pyz-Lukasik et al., 2015).

Table 2

Number of MAFAnM and somatic cells in whole raw milk

Indicators	Department № 1 Loose-fitting boxing		Department № 2 Tethered hold	
	MAFAnM, thousand. CFU/cm ³	Amount of somatic cells, thousand/cm ³	MAFAnM, thousand CFU/cm ³	Amount of somatic cells, thousand/cm ³
Lim	$1.7 \times 10^5 - 4.9 \times 10^5$	205–397	$2.0 \times 10^5 - 4.9 \times 10^5$	254–451
M ± m	$35 \pm 4.1 \times 10^4$	327.8 ± 28.73	$37 \pm 3.6 \times 10^4$	332.1 ± 29.91

An essential indicator of milk quality and its suitability for processing is the number of somatic cells. The latter are dead cells of the mammary ducts and alveoli, which are involved in milk secretion. They are constantly in the milk. This indicator is essential for the manufacturer and is a valuable tool that cares about the quality of raw materials. However, to use it properly, you need to understand what level is considered normal and what indicates its increase (Silanikove et al., 2014).

The milk of cows with mastitis significantly increases the number of somatic cells. They are characteristic of the inflammatory process – leukocytes, epithelial cells of the breast, erythrocytes, bacteria. Milk with high somatic cell content is technologically defective. According to the European Union standard, the content of somatic cells is allowed not more than 250 thousand/cm³, and according to the Ukrainian – 500 thousand/cm³ (Paliy et al., 2019).

In the collective milk of cows of department № 1, the number of somatic cells was slightly lower than in department № 2, with the number of somatic cells in the milk of cows of division № 2 amounted to 327.8 ± 28.73 against 332.1 ± 29.91 thousand/cm³ in accordance. These indicators meet the requirements of the highest grade.

Modern milk processing technologies place high demands on the quality of raw materials, which is primarily

determined by their physicochemical and technological properties.

Academician I. P. Pavlov called milk a “wonderful food” prepared by nature itself. He determined that the human body completely absorbs this product. Milk is synthesized in the breast from components that come from the blood. Passing blood through the alveoli, there is an active transformation of absorbed substances into milk components. The chemical composition of milk and its properties depend on many factors (breed, lactation stage, productivity, feeding, season, health, etc. (Shkromada et al., 2019).

The results of studies of physicochemical properties of milk obtained from cows of different departments are shown in table 3.

In general, we note the low level of protein in the milk of cows of compartment № 2 ($3.1 - 3.3$; $3.19 \pm 0.067\%$), fat – medium ($3.6 - 3.9$; $3.78 \pm 0.106\%$). Higher protein content was observed in the milk of cows of compartment № 1 ($3.1 - 3.3$; $3.22 \pm 0.033\%$), fat - satisfactory ($3.6 - 4.2$; $3.88 \pm 0.093\%$).

Low protein in milk indicates a lack of energy in the diet, and high – is an excessive amount. A high percentage of fat and low protein means that cows do not get enough energy from feed, and the body is actively breaking down fat. This is one of the symptoms of subclinical ketosis (Dersk et al., 2013).

Table 3

Physico-chemical parameters of raw milk

Indicators	Fat content, %	Protein content, %	Density, kg/m ³	Acidity, °T
<i>Department № 1 (Loose-fitting boxing)</i>				
Lim	3.6–4.2	3.1–3.3	1027–1029	17.0–17.5
M ± m	3.88 ± 0.093	3.22 ± 0.033	1028.3 ± 0.39	17.2 ± 0.18
<i>Department № 2 (Tethered hold)</i>				
Lim	3.6–3.9	3.1–3.3	1027–1029	17.2–18.0
M ± m	3.78 ± 0.106	3.19 ± 0.067	1028 ± 0.38	17.5 ± 0.15

The supply of dairy cows with carbohydrates and protein is controlled by determining and analyzing the fat/protein ratio in milk, the typical values of which are 1.2–1.4 : 1. In dairy cows from departments № 2 and № 1, the fat/protein ratio was 1.18 : 1 and 1.21 : 1, respectively.

Reducing this value to 1: 1 indicates the need for a detailed analysis of the main parameters of the diet, and its increase over 1.4 indicates the course of ketosis in cows (Vovkotrub, 2018). The content of fiber, starch, and fat in the diet's dry matter must correspond to their norm. Thus, the content of starch did not exceed 28 %, crude fat – 7 %, and fiber was at least 16 % of the diet's dry matter.

One of the indicators of milk quality is titrated acidity, which characterizes the freshness of the product obtained from healthy animals. The acidity of fresh milk is 16–18 °T. In our studies, this indicator was within the normative values.

The density of milk is determined by the dry matter content and characterizes the product's naturalness. Its value in milk ranges from 1.027 to 1.032 kg/m³. It should be noted that during the research period, whole milk from both departments was sold with a density of 10.27–10.28 kg/m³. According to such safety indicators as the content of heavy metals, pesticides, radionuclides – milk should not exceed the maximum allowable values according to the standard's requirements. As a result of research, it was found that the content of heavy metals (lead, cadmium, mercury, arsenic) was within the maximum allowable levels. The content of pesticide residues and radionuclides in the studied milk samples did not exceed the normative values.

Milk is not allowed to contain inhibitory substances (detergents, preservatives, formaldehyde, sodium bicarbonate, hydrogen peroxide). Their entry may be due to non-compliance with the requirements for the concentration of detergents and disinfectants and violation of the washing regime of milking equipment (Kitikov & Romaniuk, 2017).

After milking, hygienic products for udder treatment should not show inhibitory properties, dry quickly, and be removed entirely. The use of antibiotics in dairy farming should be regulated by appropriate instructions and guidelines (Persson et al., 2016). The studies did not establish the presence of inhibitory substances in the milk of cows in both departments. Milk produced on the farm and sold to processing enterprises meets the requirements for quality milk suitable for the production of dairy products.

Conclusion

The use of various milk production technologies in dairy cattle breeding should create comfortable housing conditions, a proper level of feeding, and a high organization of milking cows. Programmed herd management provides control of animal health and milk production and optimizes dairy farms' productivity.

It was found that the physicochemical parameters of milk obtained from cows on loose housing differed slightly, namely: there was a higher protein content (3.1–3.3; 3.22 ± 0.033 %), fat – satisfactory (3.6–4.2; 3.88 ± 0.093 %), against low protein levels (3.1–3.3; 3.19 ± 0.067%), fat – medium (3.6–3.9 3.78 ± 0.106 %) compared with the milk of cows obtained by tethering. The research results indicate the prospects for implementing organizational and technological measures to increase production and improve the quality and safety of raw milk in the economy.

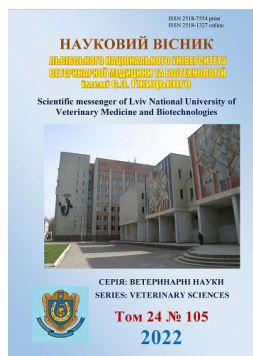
Information about conflicts of interest

The authors state that there is no conflict of interest.

References

- Cronin, G. M., Rault, J. L., & Glatz, P. C. (2014). Lessons learned from past experience with intensive livestock management systems. *Revue Scientifique Et Technique (International Ofce of Epizootics, 33(1), 139–151. DOI: 10.20506/rst.33.1.2256.*
- Derks, M., Werven, T., Hogeveen, H., & Kremer, W. D. (2013). Veterinary herd health management programs on dairy farms in the Netherlands: use, execution, and relations to farmer characteristics. *Journal Dairy Sci., 96(3), 1623–1637. DOI: 10.3168/jds.2012-6106.*
- Derks, M., Werven, T., Hogeveen, H., & Kremer, W. D. (2014). Associations between farmer participation in veterinary herd health management programs and farm performance. *Journal Dairy Sci., 97(3), 1336–1347. DOI: 10.3168/jds.2013-6781.*
- DSTU 3662:2018. “Moloko-syrovyna koroviyache. Tekhnichni umovy”. K.: DP “UkrNDND”. URL: [http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=77350_\(in_Ukrainian\).](http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=77350_(in_Ukrainian))
- Dugdill, B., Bennett, A., Phelan, J., & Scholten, B. A. (2013). Dairy-industry development programmes: their role in food and nutrition security and poverty reduction. In: Muehlhoff E, Bennett A & McMahon D (eds.) *Milk and Dairy Products in Human Nutrition*. FAO, Rome, Italy. URL: <https://www.fao.org/3/CA0289EN/ca0289en.pdf>.

- Evink, T. L., & Endres, M. I. (2016). Management, operational, animal health, and economic characteristics of large dairy herds in 4 states in the Upper Midwest of the United States. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 9466–9475. DOI: 10.3168/jds.2016-12179.
- Kitikov, V., & Romaniuk, W. (2017). The influence natural and industrial factors on the efficiency of the dairy industry. *De Gruyter open. Agricultural Engineering*, 21(2), 91–100. DOI: 10.1515/agriceng-2017-0019.
- Lopreiato, V., Mezzetti, M., Cattaneo, L. et al. (2020). Role of nutraceuticals during the transition period of dairy cows: a review. *J Animal Sci Biotechnol*, 11, 96. DOI: 10.1186/s40104-020-00501-x.
- Paliy, A. P. (2019). Research of technological methods for preparing highly productive cows for milking. *Scientific and Technical Bulletin*, 121, 181–190. DOI: 10.32900/2312-8402-2019-121-181-190.
- Paliy, A. P., Mihalchenko, S. A., Chechui, H. F., Reshetnichenko, A. P., Rozum, Y. E., Bredykhin, V. V., Bogomolov, O. V., Denicenکو, S. A., Mitashkina, T. Y., Sychoy, A. I., Savchenko, V. B., & Levkin, D. A. (2020). Milking and udder health assessment in industrial farming. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(2), 375–381. URL: <https://www.ujecology.com/articles/milking-and-udder-health-assessment-in-industrial-farming.pdf>.
- Persson Waller, K., Hardemark, V., Nyman, A. K., & Duse, A. (2016). Veterinary treatment strategies for clinical mastitis in dairy cows in Sweden. *Vet Rec.*, 178, 240. DOI: 10.1136/vr.103506.
- Petrichenko, O. A. (2017). Organization and evaluation of cow milking technologies in the context of milk competitiveness. *Efficient economy*, 11, 115–122. URL: <http://www.economy.nayka.com.ua/?op=1&z=5865>.
- Petrov, P., Zhukova, Y., & Yuriy, D. (2016). The Effects of Dairy Management on Milk Quality Characteristics. *Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology*, 4(9), 782. DOI: 10.24925/turjaf.v4i9.782-786.745.
- Popko, O. (2020). Identification of problems and forecasting trends in the development of the Ukrainian dairy market. *Innovative Technologies and Scientific Solutions for Industries*, 1(11), 68–79. DOI: 10.30837/2522-9818.2020.11.068.
- Pyz-Lukasik, R., Paszkiewicz, W., Tatara, M. R., Brodzki, P., & Bełkot, Z. (2015). Microbiological quality of milk sold directly from producers to consumers. *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4294–4301. DOI: 10.3168/jds.2014-9187.
- Radko, V. I., & Bidula, P. P. (2017). Improving the quality of raw milk - the basis for increasing the export potential of dairy enterprises in Ukraine. *Agrosvit*, 23, 45–49. URL: <http://www.agrosvit.info/?op=1&z=2517&i=6>.
- Rajola-Schultz, P., Nodtvedt, A., Halasa, T., & Persson Waller, K. (2021). Prudent Use of Antibiotics in Dairy Cows: The Nordic Approach to Udder Health. *Journal Frontiers in Veterinary Science*, 8, 623998. DOI: 10.3389/fvets.2021.623998.
- Shkromada, O., Skliar, O., Paliy, A., Ulko, L., Gerun, I., Naumenko, O., Ishchenko, K., Kysterna, O., Musiienko, O., & Paliy, A. (2019). Development of measures to improve milk quality and safety during production. *Eastern-European Journal of Enterprise technologies (Technology and equipment of food production)*, 3/11(99), 30–39. DOI: 10.15587/1729-4061.2019.168762.
- Silanikove, N., Merin, U., Shapiro, F., & Leitner, G. (2014). Milk metabolites as indicators of mammary gland functions and milk quality. *Journal of Dairy Research*, 81(3), 358–363. DOI: 10.1017/S0022029914000260.
- Vovkotrub, N. V. (2018). Management of dairy cows as a basis for prevention of high productivity diseases. *Scientific Bulletin of Veterinary Medicine*, 1, 18–25.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10507

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 637.074

The Study of the 17 β -estradiol content in raw milk during the lactation period

V. Salata¹✉, H. Kochetova²

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

²State Scientific and Research Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

Article info

Received 14.01.2022

Received in revised form

17.02.2022

Accepted 18.02.2022

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-728-89-33
E-mail: salatavolod@ukr.net

State Scientific and Research
Institute of Laboratory Diagnostics
and Veterinary and Sanitary
Expertise, Donetsk Str, 30, Kyiv,
0315, Ukraine.

Salata, V., & Kochetova, H. (2022). The Study of the 17 β -estradiol content in raw milk during the lactation period. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 44–49. doi: 10.32718/nvlvet10507

There is a large number of different contaminants that can affect the safety of milk consumption. In particular, the biological nature of pollution is provided by microorganisms, while the chemical pollution is controlled by heavy metal salts, inhibitory substances, hormones, etc. Recent studies report the delivery of milk and other livestock products for processing with a high content of steroidal estrogenic hormones of synthetic and natural origin. The aim of this study was to determine the content of 17 β -estradiol in raw milk during lactation and estrous cycle. The amount of 17 β -estradiol in raw milk was determined by using enzyme-linked immunosorbent assay through the RIDASCREEN®17 β - α stradiol test system (Art-Biopharm / R-Biopharm, Darmstadt, Germany). During cow gestation observed on two farms, it was found that the 17 β -estradiol concentration in raw milk gradually increased, as indicated by probable changes compared to the first month of pregnancy. In particular, during the first three months of pregnancy, the amount of 17 β -estradiol did not exceed 100 pg/ml of milk with an average ranging between 42.4 ± 7.7 to 68.3 ± 7.8 pg/ml. From the fourth month onwards, the amount of steroid hormone increased on an average of 139.4 ± 11.8 pg/ml, which is 3.2, 2.7 and 2.0 times ($P < 0.05$) more, compared to the first, second and third months of pregnancy, respectively. The dynamics of growth of 17 β -estradiol in the following months of pregnancy was even more significant. Importantly, on the fifth month the amount of hormones was estimated at 497.3 ± 36.7 pg/ml, which is 3.5 times ($P < 0.05$) more than in the fourth month and almost 10 times more than in the first month of pregnancy. Before the end of the seventh and eighth month of pregnancy, the maximum concentration of 17 β -estradiol in milk was detected – 1105.3 ± 78.5 and 1209.8 ± 82.4 pg/ml, respectively. The results indicate that the lowest amount of content of 17 β -estradiol hormone in raw milk was during the first seven days of the study with a concentration of 57.1 to 65.6 pg/ml. during the estrous cycle in cows. Starting from the 15th to the 19th day of the estrous cycle, the amount of 17 β -estradiol ranged from 365.5 to 391.3 pg/ml. However, the highest amount of 17 β -estradiol was recorded in milk on the 19th day with a content of 407.3 ± 39.5 pg/ml. Thus, milk obtained at the end of lactation and estrous cycle is significantly enriched with estrogenic hormones that end up in dairy milk products and organisms of final consumers.

Key words: raw milk, 17 β -estradiol, gestation, estrous cycle.

Дослідження вмісту 17 β -естрадіолу у молоці сирому протягом лактаційного періоду

В. З. Салата¹✉, Г. С. Кочетова²

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ, Україна

Відома досить велика кількість різних забруднювачів молока, які можуть вплинути на його безпечність. Зокрема, біологічної природи – це забруднення мікроорганізмами, хімічної – забруднення солями важких металів, інгібувальними речовинами, гормонами, тощо. Недавні дослідження повідомляють про можливість надходження на переробку молока і тваринницької продукції зі значним вмістом стероїдних естрогенів синтетичного і природного походження. Метою роботи було визначити вміст 17β -естрадіолу в молоці сирому протягом лактаційного періоду та протягом естрального циклу. Кількість 17β -естрадіолу в молоці сирому визначали методом імуноферментного аналізу за допомогою тест-системи RIDASCREEN® 17β -estradiol (Art-Biopharm/R-Biopharm, Darmstadt, Germany). Встановлено, що протягом тільності концентрація 17β -естрадіолу в молоці сирому поступово зростала, про що вказують вірогідні зміни при порівнянні із першим місяцем тільності на двох фермах. Зокрема протягом перших трьох місяців тільності кількість 17β -естрадіолу не перевищувала 100 пг/мл молока та в середньому коливалася в межах від $42,4 \pm 7,7$ до $68,3 \pm 7,8$ пг/мл. Починаючи з четвертого місяця тільності кількість стероїдного гормону, в середньому зростала до $139,4 \pm 11,8$ пг/мл, що в 3,2, 2,7 та 2,0 рази ($P < 0,05$) більше, проти першого, другого і третього місяця тільності, відповідно. Динаміка зростання 17β -естрадіолу в наступні місяці тільності була ще більш суттєва. Зокрема, на п'ятому місяці кількість гормону становила $497,3 \pm 36,7$ пг/мл, що в 3,5 рази ($P < 0,05$) більше, ніж на четвертому місяці і практично в 10 разів більше, проти першого місяця тільності. Перед запуском – кінець сьомого і восьмого місяця тільності, виявляли максимальну кількість 17β -естрадіолу в молоці – $1105,3 \pm 78,5$ та $1209,8 \pm 82,4$ пг/мл, відповідно. При дослідженні вмісту 17β -естрадіолу у сирому молоці протягом естрального циклу у корів встановлено, що найменша кількість гормону була протягом перших сім днів дослідження від 57,1 до 65,6 пг/мл. З 15 по 19 добу естрального циклу кількість 17β -естрадіолу знаходилася в межах від 365,5 до 391,3 пг/мл. Однак, найбільшу кількість 17β -естрадіолу реєстрували у молоці на 19 добу естрального циклу $407,3 \pm 39,5$ пг/мл. Отже, молоко отримане в кінці лактації та на закінчення естрального циклу є значним джерелом естрогенів гормонів, які з молочними продуктами надходять в організм споживачів.

Ключові слова: молоко сире, 17β -естрадіол, тільність корів, естральний цикл

Вступ

Відповідно до звіту Продовольчої та сільськогосподарської організації (FAO) за 2017 рік, в середньому споживання молока та молочних продуктів на душу населення в розвинутих країнах становило 100 кг/рік (FAO, 2017). Це свідчить про те, що молоко та молочні продукти займають значну частину раціону в харчовій піраміді людей. Тому оцінка безпечності молока є важливим завданням для забезпечення населення корисними повноцінними молочними продуктами (Kukhtyn, 2010; Lialyk et al., 2019). Відома досить велика кількість різних забруднювачів молока, які можуть вплинути на його безпечність і бути ризиком для споживачів. Зокрема, біологічної природи – це забруднення мікроорганізмами (Kasianchuk et al., 2006), хімічної – забруднення солями важких металів (Kukhtyn et al., 2021), інгібувальними речовинами (Du et al., 2019), гормонами, тощо (Snoj et al., 2018; Tripathy et al., 2019). Недавні дослідження повідомляють про можливість надходження на переробку молока і тваринницької продукції зі значним вмістом стероїдних естрогенів синтетичного і природного походження (Xiao et al., 2017; Kukhtyn et al., 2020).

У молоці виявляють групу естрогенів гормонів природного походження (17β -естрадіол, 17α -естрадіол, естріол і естрон), які в організмі впливають на ряд важливих функцій (синтез білка, передачі сигналів між рецепторами тощо), в тому числі і регуляцію репродукції (Malekinejad & Rezabakhsh, 2015), відповідно певна їх кількість завжди буде присутня у молочній сировині (Hirpessa et al., 2015). Гормони штучного походження наявні у молоці при лікуванні репродуктивної системи тварин, а також при свідомому застосуванні для збільшення отримання продукції (Snoj et al., 2018).

Споживання молочних продуктів, що містять високі рівні естрогенів викликає занепокоєння у науковців різного профілю через те, що існує пряма залежність між хронічним впливом естрогенів і поширеніс-

тю різного виду раку молочної залози, яєчників, матки, сім'яників (Ganmaa et al., 2012; Zhang et al., 2013; Wang et al., 2015; Xiao et al., 2017; Tat et al., 2017). Дослідники стверджують (Pape-Zambito et al., 2010), що відповідно до Європейського раціону з молоком та молочними продуктами надходить приблизно 60–70 % усіх естрогенів. Водночас, повідомляється, що вміст 17β -естрадіолу у молоці сирому здорових корів залежить від багатьох чинників, які пов'язані з фізіологічним станом організму (період тільності, тічки), від складу кормів раціону, породи, віку тварин (Antignac et al., 2003). Наводяться дані про вміст 17β -естрадіолу в молоці від 5,6 до 922,3 пг/мл (Malekinejad et al., 2006; Nili-Ahmadabadi et al., 2021). Результатів досліджень щодо вмісту 17β -естрадіолу у молоці сировині та молочних продуктах виготовлених в Україні в оглянутій доступній літературі нами не виявлено. Водночас відповідно до вимог Комісії Codex Alimentarius максимальна кількість зовнішнього (синтетичного) естрадіолу, що надходить в організм разом з продуктами харчування, не повинна перевищувати 50 000 пг/кг/добу (EU 2003; Codex Alimentarius Commission 2015). Аналіз українських нормативних документів виявив, що контроль молока сирого, що поступає на переробку за вмістом 17β -естрадіолу не передбачено.

Отже, проведення системних досліджень, які направлені на визначення рівня вмісту 17β -естрадіолу в молоці сировині отриманого на українських фермах із з'ясуванням впливу на кількість даного гормону різних фізіологічних чинників, дозволить на науковій основі визначити максимальну допустиму кількість даного природного гормону у молоці.

Метою роботи було визначити вміст 17β -естрадіолу в молоці сирому протягом лактаційного періоду та протягом естрального циклу.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на двох фермах Західного регіону України протягом 2021 року. Молоко на пер-

шій фермі отримують переважно від корів української чорно-рябої породи, а на другій від корів голштинської породи. Проби молока відбирали від окремих корів та заморожували до температури $-15 \pm 2^\circ\text{C}$ і доставляли в сумці-холодильнику для дослідження в Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (м. Київ).

Кількісне визначення 17β -естрадіолу в зразках молока корів'ячого проводили методом імуноферментного аналізу з використанням тест-системи RIDASCREEN® 17β -östradiol (R-Biopharm, Darmstadt, Німеччина). Перед використанням тест-систему витримали 20–30 хв при температурі $20\text{--}25^\circ\text{C}$, реагенти готували відповідно до протоколу виробника. Для побудови калібрувальної кривої використали стандартні розчини 17β -естрадіолу з концентраціями 0; 50; 200; 800; 3200; 12800 пг/мл. Перед дослідженням проби молока підігрівали в термостаті до температури $20\text{--}25^\circ\text{C}$ та гомогенізували за допомогою гомогенізатора ІКА (Т 18 Basic), для забезпечення однорідності. У лунки мікротитрувального планшету, сенсibilізованого антитілами до 17β -естрадіолу, внесли по 20 мкл стандартних розчинів та досліджуваних зразків, і по 50 мкл розведеного препарату антитіл та кон'югату 17β -естрадіолу. Інкубували планшет протягом 2 год. при температурі $20\text{--}25^\circ\text{C}$. Після чого, на приладі для промивання планшетів (BIORAD PW 40), промили лунки планшету дистильованою водою. В

кожну лунку внесли по 50 мкл розчину субстрату та хромогену і знову інкубували 30 хв при $20\text{--}25^\circ\text{C}$. Після інкубації у лунки додали по 100 мкл стоп-реагенту. Оптичну густину виміряли на імуноферментному рідері Sunrise (Австрія) при довжині хвилі 450 нм. Для комп'ютерної обробки результатів вимірювань використали спеціалізоване програмне забезпечення RIDA®Soft.

Отримані дані піддавалися статистичним обрахункам з використанням комп'ютерної програми Statistica 9.0 (StatSoft Inc., USA). Різницю отриманих даних вважали вірогідною за $P < 0,05$.

Результати досліджень

Враховуючи те, що концентрація 17β -естрадіолу у молоці сирому величина, яка зазнає певних коливань під впливом різних чинників (вміст жиру, термін тільності, годівля, порода, тощо), тому для визначення максимально можливого періоду вмісту гормону під час лактації було проведено дослідження на двох фермах. При цьому на першому етапі метою дослідження було з'ясувати, як змінюється концентрація 17β -естрадіолу в молоці тільних корів від першого місяця і до запуску. Для цього на двох фермах відібрано дві групи тільних корів ($n = 10$) по 5 у кожній, молоко, яких досліджували щомісяця. Результати досліджень наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Вміст 17β -естрадіолу у сирому молоці протягом лактації, пг/мл, $n = 80$

Номер ферми, порода корів	Місяці (доби тільності)	Кількість досліджених проб	Мінімальна кількість	Максимальна кількість	Середня кількість $M \pm m$
№1 (чорно-ряба)	1 (15–20 доба)	$n = 5$	18,2	63,5	$42,4 \pm 7,7$
	2 (45–50)	$n = 5$	27,1	77,3	$51,6 \pm 7,0$
	3 (75–80)	$n = 5$	52,4	92,6	$68,3 \pm 7,8$
	4 (115–120)	$n = 5$	123,7	156,4	$139,4 \pm 11,8^*$
	5 (145–150)	$n = 5$	339,1	581,5	$489,2 \pm 37,1^*$
	6 (175–180)	$n = 5$	607,0	1107,1	$836,7 \pm 61,2^*$
	7 (205–210)	$n = 5$	912,5	1316,5	$1105,3 \pm 78,5^*$
	8 (230–235 доба)	$n = 5$	1133,7	1475,2	$1209,8 \pm 82,4^*$
№2 (гол-штинська)	1 (15–20 доба)	$n = 5$	24,3	65,2	$49,3 \pm 7,2$
	2 (45–50)	$n = 5$	32,5	81,3	$58,9 \pm 7,4$
	3 (75–80)	$n = 5$	57,1	98,5	$76,4 \pm 7,5$
	4 (115–120)	$n = 5$	138,4	177,3	$151,8 \pm 12,6^*$
	5 (145–150)	$n = 5$	349,6	603,4	$497,3 \pm 36,7^*$
	6 (175–180)	$n = 5$	697,8	1132,8	$885,2 \pm 62,1^*$
	7 (205–210)	$n = 5$	954,7	1375,6	$1127,6 \pm 77,3^*$
	8 (230–235 доба)	$n = 5$	1162,1	1506,4	$1268,1 \pm 85,9^*$

Примітка: * – $P < 0,05$ – порівняно з вмістом 17β -естрадіолу у молоці відібраного в перший, другий та третій місяць тільності

З даних табл. 1 видно, що протягом тільності концентрація 17β -естрадіолу в молоці сирому поступово зростала, про що вказують вірогідні зміни при порівнянні із першим місяцем тільності на двох фермах. Зокрема на фермі № 1 протягом перших трьох місяців тільності кількість 17β -естрадіолу не перевищувала 100 пг/мл молока та в середньому коливалася в межах від $42,4 \pm 7,7$ до $68,3 \pm 7,8$ пг/мл. Починаючи з четвертого місяця тільності кількість стероїдного гормону, в середньому зросла до $139,4 \pm 11,8$ пг/мл, що в 3,2, 2,7

та 2,0 раза ($P < 0,05$) більше, проти першого, другого і третього місяця тільності, відповідно. Динаміка зростання 17β -естрадіолу в наступні місяці тільності була ще більш суттєва. Зокрема, на п'ятому місяці кількість гормону становила $497,3 \pm 36,7$ пг/мл, що в 3,5 раза ($P < 0,05$) більше, ніж на четвертому місяці і практично в 10 разів більше, проти першого місяця тільності. На закінчення терміну лактації, тобто перед запуском – кінець сьомого і восьмого місяця тільності, виявляли максимальну кількість 17β -естрадіолу в

молоці – $1105,3 \pm 78,5$ та $1209,8 \pm 82,4$ пг/мл, відповідно. Дана кількість гормону в 21,4–28,5 раза ($P < 0,05$) більша за початкову кількість, яка була в молоці на першому та другому місяці тільності. Дослідження динаміки зміни 17β -естрадіолу в молоці голштинської породи корів (на другій фермі) не виявило вірогідних змін, порівняно з його вмістом у молоці першої ферми отриманого від чорно-рябої породи корів.

Отже, з проведених досліджень випливає, що протягом лактації вміст 17β -естрадіолу у молоці, істотно залежить від місяця тільності корів. Найменша кількість 17β -естрадіолу виявляється на початку тільності (протягом перших трьох місяців), а найбільша на

завершення лактації перед запуском. Це дає підставу вважати, що молоко, яке отримане в останні три місяці тільності буде набагато більшим джерелом 17β -естрадіолу для споживачів молочних продуктів, порівняно з молоком перших місяців тільності, що очевидно необхідно враховувати при виробництві молочних продуктів в цілому.

Наступними дослідженнями необхідно було з'ясувати динаміку вмісту 17β -естрадіолу у сирому молоці протягом естрального циклу у корів. Дослідження проведено на двох фермах на двох породах корів. Результати наведено в табл. 2.

Таблиця 2

Вміст 17β -естрадіолу у сирому молоці протягом естрального циклу, пг/мл, $n = 60$

Номер ферми	Час дослідження (доба)	Кількість досліджених проб	Мінімальна кількість	Максимальна кількість	Середня кількість $M \pm m$
№1	3–4	$n = 5$	46,3	72,5	$57,1 \pm 6,8$
	6–7	$n = 5$	52,5	81,8	$65,6 \pm 7,3$
	9–10	$n = 5$	73,4	97,5	$87,4 \pm 7,8$
	13–14	$n = 5$	183,6	236,6	$198,7 \pm 12,3^*$
	15–16	$n = 5$	328,7	501,4	$365,5 \pm 31,1^*$
№2	19	$n = 5$	387,5	433,7	$407,3 \pm 39,5^*$
	3–4	$n = 5$	48,2	77,9	$60,3 \pm 7,0$
	6–7	$n = 5$	55,6	92,3	$72,5 \pm 6,7$
	9–10	$n = 5$	79,1	108,1	$97,8 \pm 8,6$
	13–14	$n = 5$	196,5	243,5	$211,6 \pm 14,5^*$
	15–16	$n = 5$	341,4	536,7	$391,3 \pm 33,4^*$
	19	$n = 5$	381,0	479,8	$427,6 \pm 36,1^*$

Примітка: * – $P < 0,05$ – порівняно з вмістом 17β -естрадіолу у молоці відібраного в перші десять днів естрального циклу

З таблиці 2 видно, що під час періоду естрального циклу в корів величина вмісту 17β -естрадіолу у молоці зазнавала істотних змін у двох дослідних групах. Зокрема, виявлено, що найменша кількість гормону була протягом перших сім днів дослідження від $57,1 \pm 6,8$ до $65,6 \pm 7,3$ пг/мл. Починаючи з 10 доби естрального циклу кількість 17β -естрадіолу в молоці вірогідно збільшувалася, порівнюючи з вмістом в перші сім днів. Так, на 13–14 добу кількість 17β -естрадіолу становила $198,7 \pm 12,3$ пг/мл, що в 3,5 раза ($P < 0,05$) більша, проти кількості в молоці на третю-четверту добу та в 3,0 раза ($P < 0,05$), порівнюючи з вмістом на шосту-сьому добу. З 15 по 19 добу естрального циклу кількість 17β -естрадіолу знаходилася в межах, які не мали вірогідного значення. Однак, найбільшу кількість 17β -естрадіолу реєстрували у молоці у двох групах корів на 19 добу естрального циклу $407,3 \pm 39,5$ пг/мл, що практично в 7,1 раза ($P < 0,05$) більше, ніж у молоці на третю-четверту добу. При порівнянні кількості 17β -естрадіолу у молоці корів чорно-рябої і голштинської породи протягом усього періоду естрального циклу встановлено дещо більшу кількість гормону в молоці від голштинських корів, проте даний вміст не мав вірогідної різниці.

Отже, отримані дані дослідження вказують, що вміст 17β -естрадіолу у молоці корів протягом естрального циклу вірогідно збільшується, порівнюючи з першими днями циклу. Найбільша його кількість виявлялася починаючи з 15 доби циклу. Це дає під-

ставу вважати, що молоко у даний період може суттєво впливати на величину гормону у молочних продуктах виготовлених із даного молока. При цьому виявлено, що кількість 17β -естрадіолу у молоці чорно-рябої і голштинської породи корів не має вірогідної різниці.

Обговорення

Молочним продуктам відводиться значне місце в забезпеченні споживачів необхідними поживними речовинами. Однак, багато останніх публікацій ставлять під сумнів їх безпечність через наявність у них різного роду забруднювачів (Kasianchuk et al., 2006; Kukhtyn et al., 2021) та високого рівня природних і штучних гормонів естрогенної групи (Snoj et al., 2018; Tripathy et al., 2019). Метою даного дослідження було визначити вміст 17β -естрадіолу в молоці сирому протягом лактаційного періоду та протягом естрального циклу. Адже з високим вмістом 17β -естрадіолу в молоці та молочних продуктах пов'язують ризик виникнення різного роду онкологічних захворювань у споживачів та порушення розвитку статеві і центральної нервової системи у дітей препубертатного віку (Ganmaa et al., 2012; Zhang et al., 2013; Wang et al., 2015; Xiao et al., 2017; Tat et al., 2017). Нами встановлено, що протягом лактації вміст 17β -естрадіолу у молоці, істотно залежить від місяця тільності корів. Найменша кількість 17β -естрадіолу виявлялася на початку тільності (протягом перших трьох місяців) в

межах від $42,4 \pm 7,7$ до $68,3 \pm 7,8$ пг/мл. Водночас, найбільшу кількість даного стероїдного гормону виявляли на завершенні лактації перед запуском $1105,3 \pm 78,5$ та $1209,8 \pm 82,4$ пг/мл – початок сьомого та восьмого місяця. Отримані нами дані узгоджуються з дослідженнями (Tong et al., 2018), які повідомляють, що кількість 17β -естрадіолу у молоці сирому залежить від терміну вагітності корів. Зокрема, дослідники (Malekinejad et al., 2006) виявляли в 27 раз більший вміст даного гормону на третьому триместрі тільності, порівняно з першим триместром. У іншому дослідженні японські вчені повідомляють (Farlow et al., 2009), що кількість 17β -естрадіолу була, в середньому в 33 рази більша на останніх місяцях тільності, ніж на перших. Незважаючи на те, що на переробку надходить молоко з ферм збірно від корів на різних термінах тільності і найвища концентрація гормону у збірній пробі малоймовірна. Проте за нашими даними більшість запусків у корів припадає на зимові місяці, тому у цей період можлива значно більша кількість 17β -естрадіолу у молоці загального надою від ферми, що ймовірно необхідно враховувати при виробництві молочних продуктів, особливо високо жирних, так як естрогені гормони вважаються ліпофільними, тобто концентруються у жировій фазі (Pape-Zambito et al., 2010).

При дослідженні вмісту 17β -естрадіолу у сирому молоці протягом естрального циклу у корів встановлено, що найменша кількість гормону була протягом перших сім діб дослідження від $57,1$ до $65,6$ пг/мл. Починаючи з 10 доби естрального циклу кількість 17β -естрадіолу в молоці вірогідно збільшувалася, порівнюючи з вмістом в перші сім діб. З 15 по 19 добу естрального циклу кількість 17β -естрадіолу знаходилася в межах від $365,5$ до $391,3$ пг/мл. Однак, найбільшу кількість 17β -естрадіолу реєстрували у молоці у двох групах корів на 19 добу естрального циклу $407,3 \pm 39,5$ пг/мл, що практично в 7,1 раза ($P < 0,05$) більше, ніж у молоці на третю-четверту добу. Отримані нами дані узгоджуються з результатами (Narendran et al., 1979), які вказують, що протягом естрального циклу кількість 17β -естрадіолу поступово зростає. За їхніми даними середня кількість 17β -естрадіолу зростає з 200 пг/мл до 360 пг/мл. Ми також вважаємо, що молоко на закінчення естрального циклу є також більшим джерелом естрогенних гормонів, які з молочними продуктами будуть надходити в організм споживачів.

Отже, підсумовуючи наші дослідження можна відзначити, що під час лактаційного періоду у корів відбувається значна зміна рівня естрогенного гормону – 17β -естрадіолу у молоці. Зокрема, в кінці лактаційного періоду (третій триместр тільності) їх кількість суттєво зростає та також збільшується під час естрального циклу. Встановлена дана динаміка накопичення 17β -естрадіолу у молоці дає можливість виявляти і прогнозувати виробництво молочних продуктів з мінімальним вмістом естрогенів природного походження. Крім того, враховуючи те, що естрогені гормони синтетичного походження можуть надходити з іншими продуктами тваринного походження за умови

їх застосування для стимулювання приростів, молочні продукти у виявлені фізіологічні терміни можуть бути додатковим значним джерелом надходження 17β -естрадіолу в організм споживачів.

Висновки

1. Протягом лактації вміст 17β -естрадіолу у молоці, істотно залежить від місяця тільності корів. Найменшу кількість 17β -естрадіолу виявляли на початку тільності (протягом перших трьох місяців) від $42,4 \pm 7,7$ до $68,3 \pm 7,8$ пг/мл, а найбільшу на завершення лактації перед запуском – $1105,3 \pm 78,5$ та $1209,8 \pm 82,4$ пг/мл.

2. Вміст 17β -естрадіолу у молоці корів протягом естрального циклу вірогідно збільшується, порівнюючи з першими днями циклу. Найбільшу його кількість виявляли починаючи з 15 доби циклу від $365,5$ до $407,3$ пг/мл, що практично в 7,1 раза ($P < 0,05$) більше, ніж у молоці на третю-четверту добу.

Отже, молоко отримане в кінці лактації та на закінчення естрального циклу є значним джерелом 17β -естрадіолу, який з молочними продуктами надходить в організм споживачів.

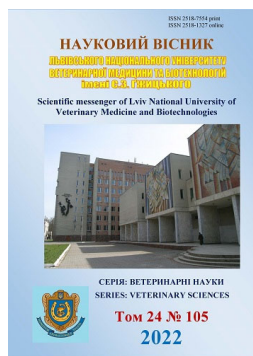
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Antignac, J. P., Cariou, R., Le Bizec, B., Cravedi, J. P., & Andre, F. (2003). Identification of phytoestrogens in bovine milk using liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 17(12), 1256–1264. DOI: 10.1002/rcm.1052.
- Codex Alimentarius Commission (2015) Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods: CAC/MRL 2-2015. Updated as at the 37th session of the Codex Alimentarius Commission (July 2014).
- Du, B., Wen, F., Guo, X., Zheng, N., Zhang, Y., Li, S., ... & Wang, J. (2019). Evaluation of an ELISA-based visualization microarray chip technique for the detection of veterinary antibiotics in milk. *Food Control*, 106, 106713. DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.106713.
- EU (2003) Hormones in meat—food safety. URL: https://ec.europa.eu/food/safety/chemical_safety/meat_hormones_en.
- Farlow, D. W., Xu, X., & Veenstra, T. D. (2009). Quantitative measurement of endogenous estrogen metabolites, risk-factors for development of breast cancer, in commercial milk products by LC–MS/MS. *Journal of Chromatography B*, 877(13), 1327–1334. DOI: 10.1016/j.jchromb.2009.01.032.
- FAO (2017). Gateway to Dairy Production and Products. Milk and Milk Products, FAO, Rome, Italy.
- Ganmaa, D., Cui, X., Feskanich, D., Hankinson, S. E., & Willett, W. C. (2012). Milk, dairy intake and risk of endometrial cancer: a 26-year follow-up. *International*

- journal of cancer, 130(11), 2664–2671. DOI: 10.1002/ijc.26265.
- Hirpessa, B. B., Ulusoy, B. H., & Hecer, C. (2020). Hormones and hormonal anabolics: residues in animal source food, potential public health impacts, and methods of analysis. *Journal of Food Quality*, 2020, 1–12. DOI: 10.1155/2020/5065386.
- Kasianchuk, V., Berhilevych, O., Kryzhanivskyi, Ya., & Kukhtyn, M. (2006). Orhanizatsiia veterynarno-sanitarnoho kontroliu vyrobnytstva moloka koroviyachoho na fermi vidpovidno do vymoh SOT. *Veterynarna medytsyna Ukrainy*, 7, 38–40 (in Ukrainian).
- Kukhtyn, M. D. (2010). Kontseptsiia rozrobky ta zastosuvannia normatyviv dlia vyrobnytstva syroho moloka gatunku “ekstra” za vmistom mikroorhanizmiv. *Veterynarna medytsyna Ukrainy*, 10, 42–43 (in Ukrainian).
- Kukhtyn, M., Salata, V., Horiuk, Y., Kovalenko, V., Ulko, L., Prosyanyi S., Shuplyk, V., & Kornienko, L. (2021). The influence of the denitrifying strain of *Staphylococcus carnosus* No. 5304 on the content of nitrates in the technology of yogurt production. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 15, 66–73. DOI: 10.5219/1492.
- Kukhtyn, M., Salata, V., Pelenyo, R., Selskyi, V., Horiuk, Y., Boltyk, N., Ulko, L., & Dobrovolsky, V. (2020). Investigation of zeranol in beef of Ukrainian production and its reduction with various technological processing. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 14, 95–100. DOI: 10.5219/1224.
- Lialyk, A., Pokotylo, A., & Kukhtyn, M. (2019). Microbiological parameters of cheese paste with the content of flaxseed oil at different storage temperatures. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Food Technologies*, 21(91), 124–129. DOI: 10.32718/nvlvet-f9121.
- Malekinejad, H., & Rezaabakhsh, A. (2015). Hormones in dairy foods and their impact on public health-a narrative review article. *Iranian journal of public health*, 44(6), 742–758. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4524299>.
- Malekinejad, H., Scherpenisse, P., & Bergwerff, A. A. (2006). Naturally occurring estrogens in processed milk and in raw milk (from gestated cows). *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(26), 9785–9791. DOI: 10.1021/jf061972e.
- Narendran, R., Hacker, R. R., Smith, V. G., & Lun, A. (1979). Estrogen and progesterone concentrations in bovine milk during the estrous cycle. *Theriogenology*, 12(1), 19–25. DOI: 10.1016/0093-691X(79)90054-2.
- Nili-Ahmadabadi, A., Rezaei, F., Heshmati, A., Ranjbar, A., & Larki-Harchegani, A. (2021). Steroid Hormone Exposure as a Potential Hazard in Milk Consumers: A Significant Health Challenge in Iran. *Journal of Food Quality*, 2021. DOI: 10.1155/2021/5595555.
- Pape-Zambito, D. A., Roberts, R. F., & Kensinger, R. S. (2010). Estrone and 17 β -estradiol concentrations in pasteurized-homogenized milk and commercial dairy products. *Journal of dairy science*, 93(6), 2533–2540. DOI: 10.3168/jds.2009-2947.
- Snoj, T., Zuzek, M. C., Cebulj-Kadunc, N., & Majdic, G. (2018). Heat treatment and souring do not affect milk estrone and 17 β -estradiol concentrations. *Journal of dairy science*, 101(1), 61–65. DOI: 10.3168/jds.2017-13205.
- Tat, D., Van Blarigan, E., Kenfield, S. A., Broering, J., Cowan, J. E., Carroll, P., & Chan, J. M. (2017). Milk and other dairy foods in relation to prostate cancer progression: Data from the Cancer of the Prostate Strategic Urologic Research Endeavor (CAPSURE), 78, 32–39. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.5_suppl.168.
- Tong, J. J., Thompson, I. M., Zhao, X., & Lacasse, P. (2018). Effect of 17 β -estradiol on milk production, hormone secretion, and mammary gland gene expression in dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(3), 2588–2601. DOI: 10.3168/jds.2017-13353.
- Tripathy, V., Sharma, K. K., Yadav, R., Devi, S., Tayade, A., Sharma, K., ... & Shakil, N. A. (2019). Development, validation of QuEChERS-based method for simultaneous determination of multiclass pesticide residue in milk, and evaluation of the matrix effect. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 54(5), 394–406. DOI: 10.1080/03601234.2019.1574169.
- Wang, J., Cheng, C., & Yang, Y. (2015). Determination of estrogens in milk samples by magnetic-solid-phase extraction technique coupled with high-performance liquid chromatography. *Journal of Food Science*, 80(12), C2655–C2661. DOI: 10.1111/1750-3841.13113.
- Xiao, L., Zhang, Z., Wu, C., Han, L., & Zhang, H. (2017). Molecularly imprinted polymer grafted paper-based method for the detection of 17 β -estradiol. *Food chemistry*, 221, 82–86. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.10.062.
- Zhang, J., Wang, L., & Han, Y. (2013). Preparation of 17 β -estradiol surface molecularly imprinted polymers and their application to the analysis of biological samples. *Journal of separation science*, 36(21–22), 3486–3492. DOI: 10.1002/jssc.201300850.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10508

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.99:591.69:636.294

Parasitofauna of farm red deer (*Cervus elaphus*) in Western Polissya of Ukraine

Yu. R. Hunchak¹, I. D. Yuskiv¹, B. V. Gutyj^{1✉}, A. V. Hunchak², V. V. Parchenko³

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

²Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

³Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine

Article info

Received 14.01.2022

Received in revised form

17.02.2022

Accepted 18.02.2022

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-068-136-20-54
E-mail: bvh@ukr.net

Institute of Animal Biology NAAS,
Vasyl Stus Str., 38, Lviv, 79034,
Ukraine.

Zaporizhzhia State Medical
University, Majakovskogo, Str., 26,
Zaporizhzhia, 69035, Ukraine.

Hunchak, Yu. R., Yuskiv, I. D., Gutyj, B. V., Hunchak, A. V., & Parchenko, V. V. (2022). Parasitofauna of farm red deer (*Cervus elaphus*) in Western Polissya of Ukraine. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 50–58. doi: 10.32718/nvlvet10508

The formation of the parasite fauna of wild ungulates and control of diseases caused by them is an essential veterinary measure in the breeding of deer. The study aimed to conduct monitoring studies on the infestation of red deer parasites (*Cervus elaphus*) during commercial cultivation during acclimatization in the Western Polissya of Ukraine. Faecal samples ($n = 30$) were taken from females of four ecotypes of the Eastern European breed, English, Hungarian, F1 crossbreed (Eastern European x Western European breed), and males of different ecotypes. The research was performed between May and September 2020 at the Department of Parasitology and Ichthyopathology, Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv. Eggs and larvae from nine species of helminths were found in the faeces of parasitic deer at Amila Farm: *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia ostertagia*, *Cooperia oncophora*, *Haemonchus contortus*, *Chabertia ovina*, *Murisillo capides* (*Capillaria bovis*), *Dicrocoelium dendriticum*, including eight species of nematodes and one species of trematodes, as well as oocysts of two species of protozoa: *Eimeria ellipsoidalis*, *Eimeria brasiliensis*. Intensity of *Trichostrongylus nematode*, *Ostertagia*, *Coperia*, *Hemonhus*, *Habertia*, *Aonhoteca* (capillary), *strongyloides* and *mulleria* larvae on the scale of invasiveness (up to 100 EGF/LGF) in May and September was low, and *dicrocelia* trematodes eggs – low and medium (1–10, 11–100 EGF) in September, indicating the subclinical course of helminthiasis and their constant release during this period into the environment. The intensity of parasitic protozoan infestation was also low (1–10 OGF) in May and relatively high (11–100 OGF) in September. The intensity of parasitic protozoan infestation was also low (1–10 OGF) in May and relatively high (11–100 OGF) in September.

Key words: *Cervus elaphus*, deer, parasitofauna, faecal analyzes, invasion, helminths, eimeria, prevalence, extensiveness, intensity.

Паразитофауна фермерських благородних оленів (*Cervus elaphus*) у Західному Поліссі України

Ю. Р. Гунчак¹, І. Д. Юськів¹, Б. В. Гутий^{1✉}, А. В. Гунчак², В. В. Парченко³

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

³Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, Україна

Формування паразитофауни диких копитних та контроль за спричинюваними ними захворюваннями є важливим ветеринарним заходом при вирощуванні оленів. Метою дослідження було проведення моніторингових досліджень на ураженість паразитами благородних оленів (*Cervus elaphus*) за промислового вирощування під час акліматизації у Західному Поліссі України. Проби

фекалій ($n = 30$) були відібрані від самок чотирьох екотипів виду східно-європейської породи, англійської, угорської, кроссбрід F_1 (східно-європейської х західно-європейської породи) та самців різних екотипів. Дослідження виконані упродовж травня та вересня 2020 року на кафедрах паразитології та іхтіопатології і фармакології та токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. За паразитологічного дослідження благородних оленів, на фермерському господарстві “Аміла”, у фекаліях були виявлені яйця та личинки від дев'яти видів гельмінтів: *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia ostertagia*, *Cooperia oncophora*, *Haemonchus contortus*, *Chabertia ovina*, *Muellerius capillaris*, *Strongyloides papillosus*, *Aonchothesa bovis* (*Capillaria bovis*), *Dicrocoelium dendriticum*, у тому числі вісім видів нематод і один вид трематод, а також ооцисти двох видів найпростіших: *Eimeria ellipsoidalis*, *Eimeria brasiliensis*. Інтенсивність інвазії яйцями нематоди тріхостронгілюса, остертагії, коперії, аонхотеси, хабертії, аонхотеки (капілярії), стронгілоїдеса та личинками мюллерії за шкалою інвазивності (до 100 EGF/LGF) у травні і вересні була низькою, а яйцями трематоди дикроцелії – низькою і середньою (1–10, 11–100 EGF) у вересні, що свідчить про субклінічний перебіг гельмінтозів і про їх постійне виділення в цей період у навколишнє середовище. Інтенсивність інвазії паразитичними найпростішими еймеріями теж була низькою (1–10 OGF) у травні та відносно високою (11–100 OGF) у вересні.

Ключові слова: *Cervus elaphus*, олень, паразитофауна, faecal analyses, інвазія, гельмінти, еймерія, поширеність, екстенсивність, інтенсивність.

Вступ

В останні роки кількість ферм із вирощування оленів (*Cervus elaphus*) у світі, в тому числі і в Україні буде зростати як альтернатива сучасному тваринництву, а також як невід’ємна складова частина функціонування сільського зеленого туризму із тваринами та етичного мисливства (Mattiello, 2009). При цьому, основним завданням за вирощування оленів є виробництво м’яса, продаж живих тварин, трофеїв тощо (Ramanzin et al., 2010; Demartini et al., 2018).

Фактори, які визначають становлення фауни груп тварин, можна розподілити на дві великі категорії – природні та антропогенні, при цьому останні набувають рік від року все більшого значення (Govorka et al., 1988). Паразитологічні дослідження свідчать, що саме географічні і кліматичні фактори визначають склад паразитофауни благородного оленя. Внаслідок формування ферм із вирощування оленів та їх акліматизації зникають завезені види паразитів і з’являються так звані місцеві, що пов’язано із господарською діяльністю людини, наприклад випасанням худоби, овець, кіз (Rehbein & Haupt, 1994; Drózd & Malczewski, 1997; Chintoan-Uta et al., 2014).

Благородні олені частіше заражаються паразитами свійських тварин, ніж навпаки. Найбільш небезпечними паразитогами для оленів є стронгілятози травного каналу та дихальних шляхів жуйних тварин, імагінальні та ларвальні цестоидози, трематодози та інші (Shimalov & Shimalov, 2003; Demiaszkiewicz, 2005; Alberly et al., 2018).

Аналіз фауни гельмінтозів жуйних як диких, так і домашніх, які населяють окремі регіони, показують спільність її для різних видів господарів. В умовах конкретних районів або окремих мисливських господарств виявляється не більше 25–30 видів гельмінтів, що уражають всіх жуйних, диких і домашніх, що населяють цю територію (Govorka et al., 1988; Hora et al., 2017; Ten Doesschate et al., 2017).

В залежності від виду паразита хвороботворна дія його на організм оленя може проявлятися по-різному залежно від інтенсивності інвазії збудників життєвого циклу паразитів, з одного боку та імунним статусом, резистентністю, доброякісною годівлею, утриманням – з другого. Залежно від домінуючого впливу однієї із сторін спостерігається клінічний прояв хвороби, або

паразитоносійство (Woodbury et al., 2005; Irvine et al., 2006; Hines et al., 2007).

Огляд літератури (Sugar, 1997; Stien et al., 2002; Davis et al., 2016) свідчить, що зі збільшенням поголів’я оленів різних вікових груп їх загальна кількість на один квадратний метр безпосередньо корелюється з інтенсивністю ураження паразитами і їх передачею до інших тварин та негативно впливає на фізіологічні процеси в період росту і розвитку тварин.

Отже, формування паразитофауни диких копитних та контроль за спричинюваними ними захворюваннями є важливим ветеринарним заходом при вирощуванні оленів. Інвазійні захворювання на оленячих промислових фермах мають значний вплив на продуктивність тварин та якість продукції. Інтереси подальшого промислового розвитку оленячих ферм потребують вирощування тварин, позбавлених паразитів, що свідчить про необхідність подальших досліджень та їх ветеринарний супровід.

Метою дослідження було встановити поширення видової фауни паразитів благородних оленів (*Cervus elaphus*) від чотирьох ліній (східно-європейська порода, англійська, угорська та кроссбрід F_1 (*Cervus elaphus hippelaphus* x *Ce scoticus*)) за промислового вирощування в умовах фермерського господарства “Аміла” в Західному Поліссі України.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження виконані упродовж травня та вересня 2020 року на кафедрах паразитології та іхтіопатології і фармакології та токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Збір матеріалу від благородних оленів (*Cervus elaphus*) для паразитологічного дослідження проводили від самок та самців різних екотипів для вивчення поширення паразитів на природних напіввигульних територіях оленячої ферми площею біля 122 га (фермерське господарство “Аміла” Турійського району Волинської області).

Проби фекалій для дослідження від оленів порціями в кількості 50 г брали в чистий пластмасовий посуд зі щільною кришкою. Для консервування матеріалу використовували 1,5 % розчини детергенту – синтетичний миючий засіб “Лотос” (по масі співвідношення фекалій і

розчину детергенту 1 : 5) і направляли на кафедру паразитології та іхтіопатології (Kotel'nikov, 1983).

Копрологічні методи дослідження для визначення кількості яєць гельмінтів або ооцист найпростіших та личинок гельмінтів проводили за методом М. А. Taylor et al. (2016). Кількість яєць та ооцист в 1 г фекалій вираховується за формулою: $ЯГФ / ОГФ = y \times 15 / x \times 1,2$ (y – кількість підрахованих яєць або ооцист; x – місткість пробірки; 1,2 – коефіцієнт корекції) (Taylor et al., 2016).

Визначення видової належності яєць гельмінтів та найпростіших організмів проводили за допомогою атласів диференціальної діагностики гельмінтозів (Shore, 1939; Levine & Ivens, 1970; Krylov, 1996; Cherepanov et al., 1999; Kharchenko, 2004; Zajac & Conboy, 2012; Hendrix & Robinson, 2016).

Дослідження і мікрофотографування зразків проб проводили методом світлооптичної мікроскопії з використання мікроскопа Leica DM-25000 (Germany) та

фотокамери Leica DFC 450-C і програмного забезпечення Leica Application Suite Version 4.4.

За паразитологічного обстеження поголів'я оленів основними показниками ураження тварин збудниками гельмінтозів та протозоозів були: кількість тварин, уражених паразитами / кількість досліджуваних тварин (N); середня інтенсивність інвазії (П) – кількість яєць / ооцист / личинок в 1 г фекалій (ЯГФ / ОГФ / ЛГФ) (Taylor et al., 2016). Всього досліджено 60 проб фекалій.

Результати досліджень

При паразитологічному дослідженні проб фекалій від східно-європейського екотипу оленів, яких на початку 2020 року завезено з Латвії в фермерське господарство “Аміла” (табл. 1), в травні було виявлено личинки нематоди *Muellerius capillaris*. Інтенсивність інвазії личинками збудника виду *Muellerius capillaris* становила 3,2 личинок у 1 г фекалій (ЛГФ) (рис. 1).



Рис. 1. Личинка *Muellerius capillaris* (Muller, 1889) в фекаліях благородних оленів (*Cervus elaphus*)

У вересні-жовтні, тобто після витримання тварин на природних напіввигульних територіях, вперше в пробах фекалій було виявлено яйця нематод стронгілятозів травного каналу (*Trichostrongylus axei*, *Cooperia oncophora*, *Chabertia ovina* та яйця трематоди збудника дикроцеліозу – *Dicrocoelium dendriticum*. Інтенсивність інвазії яйцями гельмінтів становила: *Trichostrongylus axei* та *Chabertia ovina* – 6,0 яєць у 1 г

фекалій (ЯГФ), *Cooperia oncophora* – 4,8 ЯГФ, а *Dicrocoelium dendriticum* – 3,6 ЯГФ. Дослідженнями також встановлено, що у оленів східно-європейського екотипу інтенсивність інвазії личинками збудника стронгілятозів дихальних шляхів, а саме видом *Muellerius capillaris* становила від 0,6 до 0,9 личинок у 1 г фекалій.

Таблиця 1

Динаміка зараженості оленів східно-європейського екотипу паразитами

Види паразитів	Травень		Вересень	
	N	П	N	П
<i>Trichostrongylus axei</i>			1 / 3	6,0 ЯГФ
<i>Cooperia oncophora</i>			1 / 3	4,8 ЯГФ
<i>Chabertia ovina</i>			1 / 3	6,0 ЯГФ
<i>Muellerius capillaris</i>	1 / 3	3,2 ЛГФ	2 / 3	0,75 ЛГФ
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>			1 / 3	3,6 ЯГФ

За результатами копроскопічних досліджень фекалій в оленів англійського екотипу в період інтродукції (травень) виявлено яйця збудників стронгілятозних інвазій травного каналу з надродини *Trichostrongylidae* (*Cooperia oncophora*, *Ostertagia ostertagia*) та надродини *Strongyloidea* (*Chabertia ovina*). Інтенсивність інвазії яйцями гельмінтів становила від 3,6 до 4,8 яєць у 1 г фекалій (табл. 2).

Дослідження показали, що у вересні в пробах фекалій тварин крім яєць гельмінта *Ostertagia ostertagia* із інтенсивністю інвазії 21,6 ЯГФ, виявлено яйця гельмінта *Strongyloides papillosus* (рис. 2) з надродини *Rhabditoidea* із інтенсивністю інвазії 2,4 ЯГФ, а також ооцисти *Eimeria ellipsoidalis* інтенсивністю інвазії 9,6 ооцист у 1 г фекалій (ОГФ).

Таблиця 2

Динаміка зараженості паразитами оленів англійського екотипу

Види паразитів	Травень		Вересень	
	N	II	N	II
<i>Cooperia oncophora</i>	1 / 3	3,6 ЯГФ		
<i>Ostertagia ostertagia</i>	1 / 3	4,8 ЯГФ	1 / 3	21,6 ЯГФ
<i>Chabertia ovina</i>	1 / 3	3,6 ЯГФ		
<i>Strongyloides papillosus</i>			1 / 3	2,4 ЯГФ
<i>Eimeria ellipsoidalis</i>			1 / 3	9,6 ОГФ

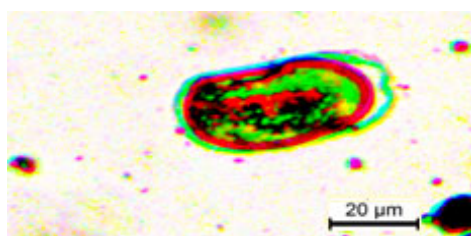


Рис. 2. Яйце *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856) в фекаліях благородних оленів (*Cervus elaphus*)

Дослідження фекалій оленів угорського екотипу на зараженість паразитами показало, що у травні тварини були уражені збудниками стронгілятозних інвазій травного каналу з надродини *Trichostrongylidae* (*Trichostrongylus axei*, *Cooperia oncophora*, *Ostertagia ostertagia*) та надродини *Strongyloidea* (*Chabertia*

ovina) із інтенсивністю інвазії від 0,4 до 4,8 ЯГФ та збудником стронгілятозів дихальних шляхів – видом *Muellerius capillaris* із інтенсивністю інвазії 1,3 ЛГФ. Разом із тим, у пробах фекалій було виявлено паразитичних найпростіших – *Eimeria ellipsoidalis* із інтенсивністю інвазії 1,2 ОГФ (табл. 3).

Таблиця 3

Динаміка зараженості паразитами оленів угорського екотипу

Види паразитів	Травень		Вересень	
	N	II	N	II
<i>Trichostrongylus axei</i>	1 / 3	0,4 ЯГФ	2 / 3	3,6 ЯГФ
<i>Cooperia oncophora</i>	1 / 3	3,6 ЯГФ	1 / 3	3,6 ЯГФ
<i>Ostertagia ostertagia</i>	1 / 3	4,8 ЯГФ	1 / 3	3,6 ЯГФ
<i>Chabertia ovina</i>	1 / 3	3,6 ЯГФ		
<i>Muellerius capillaris</i>	1 / 3	1,3 ЛГФ		
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>			1 / 3	3,6 ЯГФ
<i>Eimeria ellipsoidalis</i>	1 / 3	1,2 ОГФ		

З'ясовано, що восени у фекаліях оленів цього екотипу наявні яйця гельмінтів стронгілятозних інвазій травного каналу з надродини *Trichostrongylidae* (*Trichostrongylus axei*, *Cooperia oncophora*, *Ostertagia ostertagia*) із інтенсивністю інвазії 3,6 ЯГФ. Крім того, виявлено і яйця трематоди *Dicrocoelium dendriticum* із інтенсивністю інвазії 3,6 ЯГФ.

Стосовно оленів кроссбріду у F₁ (табл. 4) то нами вперше в пробах їх фекалій було виявлено яйця гельмінта виду *Aonchotheca bovis*, син. *Capillaria bovis* (рис. 3), який належить до класу *Adenophorea*, надродина *Trichuridae*, родини *Capillaridae* (інтенсивність інвазії 2,4 ЯГФ). Дослідженнями було виявлено яйця гельмінта *Trichostrongylus axei* та також яйця *Ostertagia ostertagia* із інтенсивністю відповідно інвазії 2,4 і 4,8 ЯГФ.

Таблиця 4

Динаміка зараженості паразитами оленів кроссбріду F₁

Види паразитів	Травень		Вересень	
	N	II	N	II
<i>Aonchotheca bovis</i> (<i>Capillaria bovis</i>)	1 / 3	2,4 ЯГФ		
<i>Trichostrongylus axei</i>	1 / 3	2,4 ЯГФ	1 / 3	4,8 ЯГФ
<i>Haemonchus contortus</i>			1 / 3	7,2 ЯГФ
<i>Ostertagia ostertagia</i>	1 / 3	4,8 ЯГФ	1 / 3	4,8 ЯГФ
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>			2 / 3	10,2 ЯГФ
<i>Eimeria ellipsoidalis</i> + <i>Eimeria brasiliensis</i>			2 / 3	24,6 ОГФ

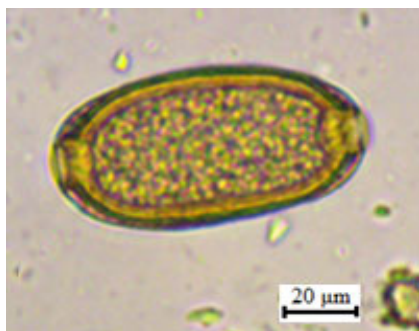


Рис. 3. Яйце *Aonchothea bovis* / *Capillaria bovis* (Schnyder, 1906) в фекаліях благородних оленів (*Cervus elaphus*)

Восени, за дослідження фекалій в оленів цього екотипу, крім яєць гельмінта *Trichostrongylus axei* та *Ostertagia ostertagia* із інтенсивністю інвазії 4,8 ЯГФ було вперше виявлено також яйця збудника гемонхозу – *Haemonchus contortus* із інтенсивністю інвазії 7,2 ЯГФ. При цьому вперше було виявлено також яйця трематоди *Dicrocoelium dendriticum* із інтенсивністю інвазії від 6,0 до 14,4 ЯГФ та ооцисти *Eimeria ellipsoidalis* та *Eimeria brasiliensis* (інтенсивність інвазії 13,2 та 36,0 ЯГФ, відповідно).

За результатами досліджень фекалій від самців різних екотипів благородного оленя (табл. 5) у травні виявляли яйця трихостронгілід (*Trichostrongylus axei*) із інтенсивністю інвазії 4,8 ЯГФ.

Таблиця 5

Динаміка зараженості паразитами самців різних екотипів благородного оленя

Види паразитів	Травень		Вересень	
	N	II	N	II
<i>Trichostrongylus axei</i>	1 / 3	4,8 ЯГФ	1 / 3	7,2 ЯГФ
<i>Haemonchus contortus</i>			1 / 3	7,2 ЯГФ
<i>Chabertia ovina</i>			1 / 3	4,8 ЯГФ
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>			1 / 3	3,6 ЯГФ

При цьому вже восени виявляли яйця стронгілятозних інвазій травного каналу *Chabertia ovina*, *Trichostrongylus axei*, *Haemonchus contortus* із інтенсивністю інвазії від 4,8 до 7,2 ЯГФ. Копроскопічними дослідженнями також виявлено яйця дикроцелії – *Dicrocoelium dendriticum* із інтенсивністю інвазії 3,6 ЯГФ.

Обговорення

Загалом, отримані результати дають змогу зробити висновок, що у фермерських благородних оленів *Cervus elaphus elaphus* (Artiodactyla: Cervidae) в умовах Західного Полісся України після їх інтродукції із Латвії ураженість гельмінтами становила 16,7 % від загальної кількості видів, зареєстрованих у даного виду копитних Східної Європи.

Паразитична фауна благородного оленя добре описана (Kharchenko, 2004). Так, у Європі зареєстровано 161 вид гельмінтів, що зустрічається в копитних, 18 із них вивчені недостатньо або випадкові. Серед 143 встановлених видів більшість становила 114 – нематоди, 17 – трематод, 11 – цестод і 1 – акантоцефал. Поряд з цим у благородного оленя паразитує 78 видів.

За повідомленнями Э. И. Прядко (1976) та Я. Говорка і ін. (1988), всього на європейській частині у благородного оленя було зареєстровано 54 види гельмінтів (Prjanko, 1976; Govorka et al., 1988). Подібні дослідження в різних частинах ареалу демонстрували невисоке видове багатство гельмінтів: в Біловезькій пущі – 16 видів, в Воронезькому заповіднику – 9, в Підмосков'ї – 16, на Кавказі – 15 (на Північному Кавказі – 9 видів, і стільки ж в Азербайджані). В Криму в оленів зареєстровано 43 види паразитичних гельмінтів, при цьому більшість з них – трихостронгіліди (Ruhljadev, 1964; Rykovskij, 1984; Fertikov et al., 1999; Kochko & Jakubovskij, 2000).

Поряд з тим зростає фауна паразитів благородного оленя, їх поширеність та інтенсивність інвазії. Так, у Білорусі найбільш детально в паразитологічному аспекті вивчалася локальна популяція благородного оленя в Національному парку “Біловезька пуща”. За тривалий період досліджень реєстроване видове багатство гельмінтів збільшилася з 12 (Fertikov et al., 1999) до 16 видів (Kochko & Jakubovskij, 2000), що становить 24,6 % від числа зареєстрованих цього виду тварин в Східній Європі. Дослідження, проведені в інших локальних популяціях виявили подібність від 31,7 % до 57,3 % (в середньому, 45,6 %). При цьому один вид гельмінтів реєструвався в 61,5 % біопроб, два види – в 25,6 %, три види – в 9,7 %, чотири – в 1,6 % і п'ять видів – в 1,6 %. На одну біопробу, в середньому, припадало $1,57 \pm 0,86$ виду гельмінтів (Kekshina & Anisimova, 2009; Anisimova, 2016). У оленів Білорусії на початок ХХІ століття зареєстровано 34 гельмінта (Litvinov et al., 2011). Як наголошує Е. І. Анисимова (2007), за переселення тварин (акліматизації чи інтродукції) відбувається розширення ареалу гельмінтів, їхня адаптація до паразитування у нових хазяїв, а також набуття тваринами, які переселяються гельмінтів споріднених видів аборигенної фауни (Anisimova et al., 2007).

За даними Державного комітету лісового господарства України за 2000 рік чисельність благородного оленя становила приблизно 13 066 особин (Kharchenko, 2004). Цей вид копитних інвазований різноманітними паразитами, що представляє особливий інтерес у визначенні становлення фауни паразитів (природної і антропогенної) у кожному ландшафті та залежність фауни паразитів від щільності тварин (Govorka et al., 1988; Davidson et al., 2014). Нами, відповідно до поставленого завдання було досліджено 18,75 % проб фекалій від загальної кількості цього виду тварин у фермерському госпо-

дарстві “Аміла”. Як результат було виявлено вісім видів нематод, а саме: *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia ostertagia*, *Cooperia oncophora*, *Haemonchus contortus*, *Chabertia ovina*, *Muellerius capillaris*, *Strongyloides papillosus*, *Aonchotheca bovis* (*Capillaria bovis*), один вид трематод – *Dicrocoelium dendriticum* та два види найпростіших: *Eimeria ellipsoidalis*, *Eimeria brasiliensis*. Стосовно періоду копроскопічних досліджень то у травні зараженість благородного оленя становила 17,5 % від загального стада. У оленя виявлено шість видів гельмінтів і один вид найпростіших. У нашому дослідженні виявлено 20 відсотків благородних оленів, що виділяли яйця нематоди – *Trichostrongylus axei* та *Ostertagia ostertagia*, 13,3 % – яйця нематоди – (*Cooperia oncophora* та *Chabertia ovina*) і личинки нематоди – *Muellerius capillaris*, а також 6,7 % яйця нематоди – *Aonchotheca bovis* (*Capillaria bovis*). Виявлено незначну поширеність (6,7 % від загальної зараженості) ооцист еймерій *Eimeria ellipsoidalis* у фекаліях за весняного дослідження. При цьому відзначаємо, що інтенсивність інвазії окремих паразитів була низькою, в окремих пробах кількість яєць паразита становила до 4,8 яєць у 1 г фекалій.

Проведені нами паразитологічні дослідження фекалій від оленів різних екотипів у вересні показали, що зараженість тварин становила 23,75 % від загального стада. Виявлено тіж дев'ять видів гельмінтів: *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia ostertagia*, *Cooperia oncophora*, *Haemonchus contortus*, *Chabertia ovina*, *Muellerius capillaris*, *Strongyloides papillosus*, *Aonchotheca bovis*, *Dicrocoelium dendriticum* і два види найпростіших: *Eimeria ellipsoidalis*, *Eimeria brasiliensis*. Домінували нематоди *Trichostrongylus axei* (33,3 %) та *Ostertagia ostertagia* (20 %), а з трематод – *Dicrocoelium dendriticum* (33,3 %).

За промислового вирощування оленів у Західному Поліссі в пробах фекалій встановлено, що 13,3 % благородних оленів виділяли яйця збудників нематод *Cooperia oncophora*, *Chabertia ovina*, *Haemonchus contortus* та личинки нематоди *Muellerius capillaris* від загальної зараженості тварин. Яйця нематоди *Strongyloides papillosus* становили 6,7 %.

Наші дослідження показали, що ендopаразити травного каналу та дихальних шляхів представляють собою певну загрозу для ферми із вирощування оленів. Так, інтенсивність інвазії яйцями нематоди трихостронгілюса, остертагії, коперії, хабертії, гемонхуса, аонхотеки (капілярії), стронгілоїдеса та личинками муллерії у досліджувані періоди є низькою за шкалою інвазованості, а яйцями трематоди дикроцелії – низькою і середньою у вересні. Інтенсивність інвазії паразитичними найпростішими еймеріями за шкалою інвазованості є високою у вересні. У оленів, за дослідження проб фекалій, інтенсивність інвазії яйцями гельмінтів становила до 21,6 яєць в 1 г фекалій, а ооцистами – від 9,6 до 24,6 ооцист в 1 г фекалій.

За паразитологічного обстеження благородних оленів різних екотипів восени (вересень), після перетримки тварин на природних напіввигульних територіях оленячої ферми, у фекаліях тварин встановлено яйця від паразитів видів *Haemonchus contortus*, *Stron-*

gyloides papillosus та *Dicrocoelium dendriticum*, що можливо пов'язано із територією на якій випасалися інші види тварин у попередні роки.

На формування паразитоценозу у диких жуйних найбільше значення справляє екологія тварини і спосіб живлення (чи співпадає біотоп інвазійних личинок гельмінта зі звичайним кормовим біотопом живителя). При утриманні диких жуйних в неволі (зоопарки, вольєри) їх спосіб життя і живлення змінюються, і провідну роль у формуванні паразитарної системи починають відігравати антропогенні фактори (живлення завезеною травною і кормом та зростаючою у вольєрах травною, перевезення тварини із інших регіонів або країн, ветеринарний контроль за живленням і станом тварини та ін.) (Subbotin, 2010; Kaplich et al., 2017).

Оскільки досліджувані нами олені утримувались на напіввигульних культурних пасовищах, вони могли легко заразитися гельмінтами домашніх жуйних тварин *Haemonchus contortus* та *Dicrocoelium dendriticum*.

За проведеного дослідження, найпростіших у фекаліях було виявлено два види – *Eimeria ellipsoidalis*, *Eimeria brasiliensis*, які були присутні у фекаліях тільки 20 % тварин від загальної зараженості благородних оленів, що може бути пов'язано з невеликою кількістю досліджених тварин.

За повідомленнями багатьох науковців у благородного оленя домінують шлунково-кишкові гельмінти, рідше зустрічаються найпростіші (Kaplich et al., 2017). Каплич В. М., Якубовський М. В., Бахур О. В. (2017) відзначають, що екстенсивність інвазії благородного оленя в мисливських угіддях за вольєрного утримання становить від 35,3 % до 67,4 %, за вільного проживання – від 2,3 % до 29 %. Значну роль в циркуляції інвазій, крім розповсюдження інвазійного матеріалу в навколишнє середовище за допомогою проміжних і резервуарних живителів, відіграє механічне розсіювання його пасивним шляхом (з вітром, водою і ін.) або за допомогою різних видів тварин.

Отже, виявлені паразити в благородних оленів різних екотипів характеризуються таксономічними категоріями та наявністю територіального (ландшафтного) паразитофауністичного комплексу із певним складом паразитів, пристосованих до перебування на окремій території та можуть паразитувати у різних видів жуйних.

Результати цього дослідження можуть слугувати основою розробки загальних принципів боротьби з мікстинвазіями благородних оленів в умовах промислового вирощування.

Висновки

1. В результаті паразитологічного обстеження благородних оленів (*Cervus elaphus*) різних екотипів, яких завезено напочатку 2020 року з Латвії для розведення у фермерському господарстві “Аміла” Турійського району Волинської області, встановлено в основному яйця стронгілятозних інвазій травного каналу від видів: *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia ostertagia*,

Cooperia oncophora, (надродина *Trichostrongyloidea*), *Chabertia ovina* (надродина *Strongyloidea*) та личинка стронгілятозних інвазій дихальних шляхів виду *Muellerius capillaris* (надродина *Metastrongyloidea*), що належать до типу *Nematoda* (Rudolphi, 1808), класу *Secernentea* (von. Linstow, 1905; Dougherty, 1958), ряду *Strongylida* (Railliet et Henry, 1913) і є типовими для інших видів копитних.

При цьому в екотипі оленів кроссбріду F₁ (*Cervus elaphus hippelaphus* x *Ce scoticus*) виявлено яйця гельмінта *Aonchotheca bovis* (Schnyder, 1906) / *Capillaria bovis*, що належать до типу *Nematoda* (Rudolphi, 1808) класу *Adenophorea* (von Linstow, 1905; Chitwood, 1958), ряду *Trichurida* (Skrjabin et Schulz, 1928; Spassky, 1954), надродини *Trichuroidea* (Spassky, 1954), а в екотипі оленів угорської породи ооцисти *Eimeria ellipsoidalis*, що належать до типу *Apicomplexa* (Levine, 1979), класу *Conoidasida* (Levine, 1988), ряду *Eimeriina* (Lager, 1911), родини *Eimeriidae* (Minchin, 1903).

2. При паразитологічному обстеженні благородних оленів (*Cervus elaphus*) різних екотипів восени (вересень), після перетримки тварин на природних напіввигульних територіях оленячої ферми, встановлено яйця нематод від видів: *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia ostertagia*, *Cooperia oncophora*, (надродина *Trichostrongyloidea*), *Chabertia ovina* (надродина *Strongyloidea*), личинки виду *Muellerius capillaris* (надродина *Metastrongyloidea*), які також виявляли навесні, та додатково виявлено яйця стронгілятозних інвазій травного каналу від видів: *Haemonchus contortus* (надродина *Trichostrongyloidea*); яйця вугриця *Strongyloides papillosus* (надродина *Rhabditoidea*), що належать до типу *Nematoda* (Rudolphi, 1808), класу *Secernentea* (von. Linstow, 1905; Dougherty, 1958), ряду *Rhabditida* (Chitwood, 1933); яйця трематоди *Dicrocoelium dendriticum* (Родина *Dicrocoeliidae*), що належать до типу *Platyhelminthes* (Gegenbaur, 1859), класу *Trematoda* (Rudolphi, 1808), ряду *Plagiorchiida* (La Rue, 1957).

Поряд з тим, в екотипів оленів англійської породи та кроссбріду у F₁ вперше встановлено непатогенні види ооцист *Eimeria ellipsoidalis* і *Eimeria brasiliensis*.

3. Інтенсивність інвазії яйцями нематоди тріхостронгілюса, остертагії, коперії, хабертії, гемонхуса, аонхотеки (капілярії), стронгілоїдеса та личинками муллерії є низькою за шкалою інвазованості (до 100 EGF / LGF) у травні і вересні, а яйцями трематоди дикроцелії – низькою і середньою (1–10, 11–100 EGF) у вересні, що свідчить про субклінічний перебіг гельмінтозів і про їх постійне виділення у навколишнє середовище. Інтенсивність інвазії паразитичними найпростішими еймеріями є низькою (1–10 OGF) у травні та високою (11–100 OGF) у вересні.

4. В умовах специфічного утримання самок і самців на оленячій фермі “Аміла” восени встановлено додатковий спалах інвазії для окремих видів: *Dicrocoelium dendriticum*, *Haemonchus contortus*, *Chabertia ovina*, *Strongyloides papillosus*, *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia ostertagia*, *Eimeria ellipsoidalis*.

Проведенні моніторингові дослідження на ураженість паразитами благородних оленів (*Cervus elaphus*) під час акліматизації у Західному Поліссі України направлені на вивчення закономірностей формування фауни паразитів на оленячій фермі, впливу акліматизації тварин на паразитофауністичні комплекси, розробку методів терапії та профілактичних заходів за паразитозів.

Відомості про конфлікт інтересів

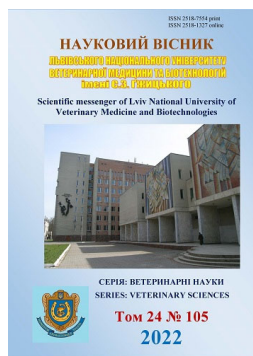
Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Albery, G. F., Kenyon, F., Morris, A., Morris, S., Nussey, D. H., & Pemberton, J. M. (2018). Seasonality of helminth infection in wild red deer varies between individuals and between parasite taxa. *Parasitology*, 145(11), 1410–1420. DOI: 10.1017/S0031182018000185.
- Anisimova, E. I. (2016). Gel'minty dikih kopytnyh na postsovet'skom prostranstve: itogi issledovanij. *Trudy BGU*, 11(1), 64–72. URL: <http://www.bio.bsu.by/proceedings/?act=7&id=488> (in Russian).
- Anisimova, E. I., Shakun, V. V., & Maklakova, L. P. (2007). Introduktsiia i intensifikatsiia soderzhanii piatnistykh olenoi v Belarusi i Rossii [Introduction and intensification of the content of spotted deer in Belarus and Russia]. *Proceedings from the Current issues of wildlife management, game management and fur farming '07: Mezhdunarodnaia nauchno-prakticheskaja konferentsiia (22–25 maia 2007 hoda) – International Scientific and Practical Conference dedicated to the 85th anniversary of All-Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming. Kirov* (in Russian).
- Anisimova, E., I., Poloz, S. V., Verbickaja, O. Je., & Lobanovskaja, P. Ju. (2017). Gel'minty olenja blagorodnogo v razlicnyh populjacijah Belarusi. *Sovremennye problemy ohotovedenija i sohraneniia bioraznoolozija: materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoi konferencii. Minsk: BGUTU*, 19–21. URL: <https://elib.belstu.by/handle/123456789/22035> (in Russian).
- Cherepanov, A. A., Moskvina, A. S., Kotelnikov, G. A., & Hrenov, V. M. (1999). Differencial'naja diagnostika gel'mintozov po morfologicheskoi strukture jaic i lichinok vzbuditelej. *Moskva* (in Russian).
- Chintoan-Uta, C., Morgan, E. R., Skuce, P. J., & Coles, G. C. (2014). Wild deer as potential vectors of anthelmintic-resistant abomasal nematodes between cattle and sheep farms. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences*, 281(1780), 20132985. DOI: 10.1098/rspb.2013.2985.
- Davidson, R. K., Kutz, S. J., Madslie, K. et al. (2014). Gastrointestinal parasites in an isolated Norwegian population of wild red deer (*Cervus elaphus*). *Acta Vet Scand*, 56, 59. DOI: 10.1186/s13028-014-0059-x.
- Davis, N. E., Bennett, A., Forsyth, D. M., Bowman, D. M. J. S., Lefroy, E. C., Wood, S. W., Woolnough, A. P., West, P., Hampton, J. O., & Johnson, C. N. (2016). A

- systematic review of the impacts and management of introduced deer (family Cervidae) in Australia. *Wildlife Research*, 43, 515–532. DOI: 10.1071/WR16148.
- Demartini, E., Vecchiato, D., Tempesta, T., Gaviglio, A., & Viganò, R. (2018). Consumer preferences for red deer meat: a discrete choice analysis considering attitudes towards wild game meat and hunting. *Meat Science*, 146, 168–179. DOI: 10.1016/j.meatsci.2018.07.031.
- Demiaszkiewicz, A. W. (2005). Helminy i wywoływane przez nie helmintozy dzikich przeżuwaczy. *Kosmos. Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika*, 54(1), 61–71.
- Dróżdż, J., A., & Malczewski, A. W. (1997). Demiaszkiewicz, and J. Lachowicz. The helminthofauna of farmed deer (Cervidae) in Poland. *Acta Parasitologica*, 42, 225–229. URL: <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.agro-article-9816d8d8-f93c-43ef-bcb2-62ca85ab730a>.
- Fertikov, V. I., Sonin, M. D., Rykovskij, A. S., & Egorov, A. N. (1999). Gel'minty dikih kopytnyh nacional'nogo parka "Zavidovo" i lesnoj zony Rossii. *Tver' (in Russian)*.
- Govorka, Ja., Maklakova, L. P., Mituh, Ja. i dr. (1988). Gel'minty dikih kopytnyh Vostochnoj Evropy. *jM.: Nauka (in Russian)*.
- Hendrix, C., & Robinson, Ed. (2016). *Diagnostic Parasitology for Veterinary Technicians*. Elsevier Health Sciences. 5th Edition. URL: <https://www.elsevier.com/books/parasitology-for-veterinary-technicians/978-0-323-38982-2>.
- Hines, A. M., Ezenwa, V. O., Cross, P., & Rogerson, J. D. (2007). Effects of supplemental feeding on gastrointestinal parasite infection in elk (*Cervus elaphus*): Preliminary observations. *Veterinary Parasitology*, 148(3-4), 350–355. DOI: 10.1016/j.vetpar.2007.07.006.
- Hora, F. S., Genchi, C., Ferrari, N., Morariu, S. et al. (2017). Frequency of gastrointestinal and pulmonary helminth infections in wild deer from western Romania. *Vet. Parasitology: Regional Studies and Reports*, 8, 75–77. DOI: 10.1016/j.vprsr.2016.12.009.
- Irvine, R. J., Corbishley, H., Pilkington, J. G., & Albon, S. D. (2006). Low-level parasitic worm burdens may reduce body condition in free-ranging red deer (*Cervus elaphus*). *Parasitology*, 133(4), 465–475. DOI: 10.1017/S0031182006000606.
- Kaplich, V. M., Jakubovskij, M. V., & Bahur, O. V. (2017). Gel'mintozy i protozoozy dikih parnokopytnyh zhivotnyh Severnoj i Central'noj lesozastitel'nyh podzon Belorusi. *Sovremennye problemy ohotovedenija i sohraneniya bioraznoobrazija: materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii*. Minsk: BG TU, 111–114 (in Russian).
- Kekshina, A. M., & Anisimova, E. I. (2009). Fauna gel'mintov olenja blagorodnogo (*Cervus elaphus*) razlichnyh populjacij v Belarusi. *Vestnik zoologii*, 23, 49–53 (in Russian).
- Kharchenko, V. O. (2004). Stan vyvchenosti helmintofauny dykykh kopytnykh Ukrainy. *Vestnik zoologii*, 18, 151–153 (in Ukrainian).
- Kochko, Ju. P., & Jakubovskij, M. V. (2000). Gel'minty dikih kopytnyh Belovezhskoj pushhi. *Vesci akad. agrarnykh navuk Belorusi*, 4, 70–79 (in Russian).
- Kotel'nikov, G. A. (1983). *Gel'mintologicheskije issledovanija zhivotnyh i okruzhajushhej sredy: Spravochnik*. Moskva: Kolos (in Russian).
- Krylov, M. V. (1996). *Opredelitel' paraziticheskikh prostejshih (cheloveka, domashnih zhivotnyh i sel'skohozjajstvennyh rastenij)*. S-Pb.: Nauka (in Russian).
- Levine, N. D., & Ivens, V. (1970). *The coccidian parasites (Protozoa, Sporozoa) of ruminants*. University of Illinois Press, Urbana, Chicago and London. URL: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/106102#page/13/mode/1up>.
- Litvinov, V. F., Jatusevich, A. I., & Lipnickij, S. S. (2011). Gel'mintozy i ih differencial'naja diagnostika u dikih mlekopitajushchih Belarusi. *Vitebsk: VGAVM (in Russian)*.
- Mattiello, S. (2009). Welfare issues of modern deer farming. *Ital J Anim Sci.*, 8(1), 205–217. DOI: 10.4081/ijas.2009.s1.205.
- Prijadko, Je. I. (1976). *Gel'minty olenej*. Alma-Ata SSR (in Russian).
- Ramanzin, M., Amici, A., Casoli, C., Esposito, L. et. al. (2010). Meat from wild ungulates ensuring quality and hygiene of an increasing resource. *Ital J Anim Sci.*, 9(e61), 318–331. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.4081/ijas.2010.e61?scroll=top&needAccess=true>.
- Rehbein, S., & Haupt, W. (1994). Possibilities of contagion of gastrointestinal and lung nematode infections of fallow deer for cattle, sheep and goats raised in the same fenced area as fallow deer. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.*, 101(12), 456–460. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7720543>.
- Ruhljadjev, D. P. (1964). *Gel'mintofauna dikih parnokopytnyh zhivotnyh Kryma i Kavkaza v jekologiko-zoograficheskom osveshhenii*. Saratov: Izd-vo Saratovskogo universiteta (in Russian).
- Rykovskij, A. S. (1984). Vlijanie rubok uhoda i pobocznyh pol'zovanij lesami na zarazhennost' gel'mintami promyslovnyh zhivotnyh. *Gel'minty sel'skohozjajstvennyh i ohotnich'e-promyslovnyh zhivotnyh*. Moskva, 76–92 (in Russian).
- Shimalov, V. V., & Shimalov, V. T. (2003). Helminth fauna of cervids in Belorussian Polesie. *Parasitology Research*, 89(1), 75–76. DOI: 10.1007/s00436-002-0700-x.
- Shore, D. A. (1939). Differentiation of eggs of various genera of nematodes parasitic in domestic ruminants in the United States. *Bulletin: Technical Bulletin*. United States Department of Agriculture, 694, 11.
- Stien, A., Irvine, R. J., Ropstad, E., Halvorsen, O. et al. (2002). The impact of gastrointestinal nematodes on wild reindeer: experimental and cross-sectional studies. *Journal of Animal Ecology*, 71, 937–945. DOI: 10.1046/j.1365-2656.2002.00659.x.
- Subbotin, A. M. (2010). *Gel'mintocenozy zhivotnyh Belarusi (parnokopytne i plotojadnye), ih lechenie i vlijanie na mikrobiocenoz organizma hozjajna: monografija*. Vitebsk: VGAVM (in Russian).
- Subbotin, A. M., & Jatusevich, A. I. (2009). *Biologiko-jekologicheskie osnovy profilaktiki parazitov dikih kopytnyh i hishhnyh mlekopitajushchih Belarusi: monografija*. Vitebsk: VGAVM (in Russian).

- Sugar, L. (1997). Deer and their parasites: disease or coexistence? *Parassitologia*, 39(4), 297–301. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9802083>.
- Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (2016). *Veterinary parasitology*. Wiley Blackwell. This edition first published.
- Ten Doesschate, S. J., Pomroy, W. E., Tapia-Escárate, D., Scott, I., Wilson, P. R. (2017). Establishment rate of cattle gastrointestinal nematodes in farmed red deer (*Cervus elaphus*). *Vet. Parasitology*, 243(30), 105–108. DOI: 10.1016/j.vetpar.2017.06.016.
- Woodbury, M. R., Berezowski, J., & Haigh, J. (2005). A retrospective study of the causes of morbidity and mortality in farmed elk (*Cervus elaphus*). *Can. Vet. J.*, 46(12), 1108–1121. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16422063>.
- Zajac, A. M., & Conboy, G. A. (2012). *Veterinary clinical parasitology*. Wiley Blackwell. 8th Edition. URL: <https://www.wiley.com/en-us/Veterinary+Clinical+Parasitology%2C+8th+Edition-p-9780813820538>.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10509

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616-07:616:636.8

Pathomorphological diagnostics of panleukopenia in cats (case description)

O. Rudenko, O. Shehebentovska✉

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

Article info

Received 17.01.2022

Received in revised form

21.02.2022

Accepted 22.02.2022

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-701-81-46
E-mail: shehebentovskaolga@gmail.com

Rudenko, O., & Shehebentovska, O. (2022). Pathomorphological diagnostics of panleukopenia in cats (case description). Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 59–66. doi: 10.32718/nvlvet10509

The article highlights the results of autopsy and histopathological studies of cats diagnosed with panleukopenia (FPV), confirmed by immunochromatographic rapid test. The spread of FPV among cats is declining sharply worldwide due to domestic vaccination of cats. However, the number of deaths among homeless animals is still high. The disease course usually varies from subclinical infection to acute syndrome with sudden death. Typical clinical manifestations are characterized by fever, lethargy, and anorexia. Sick cats suffer from vomiting and subsequent watery or hemorrhagic diarrhea. Homeless animals often die from complications associated with secondary bacterial infection, sepsis, and dehydration. Cats aged four months to one year are the most severely affected. Mortality varies depending on the disease course, the animal's general condition, and timely veterinary care. The autopsy of the dead animals showed signs of catarrhal gastritis, catarrhal and hemorrhagic enterocolitis, splenomegaly, serous lymphadenitis, liver and kidneys' acute congestive hyperemia, and pulmonary edema. Duodenum histological examination revealed villi necrosis, edema of the mucous membrane's stroma, and desquamation of enterocytes into the intestinal lumen. Necrosis of Lieberkühn crypts and viral intracytoplasmic inclusions in enterocytes were very pronounced. Microscopic changes in the stomach and large intestine were characterized by dystrophic and necrotic changes of mainly the epithelial plate of the mucous membrane. Extracapillary glomerulonephritis developed in the kidneys, while focal emphysema and edema occurred in the lungs. Stroma edema, delymphatization and lymphocytic necrosis were observed in the spleen and lymph nodes.

Key words: dehydration, intracytoplasmic inclusion bodies, crypts of Lieberkühn, splenomegaly, lymphocytic necrosis.

Патоморфологічна діагностика панлейкопенії котів. Опис випадку

O. Руденко, О. Щербентівська✉

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

У статті наведені результати патологоанатомічного розтину та патогістологічних досліджень котів з діагнозом панлейкопенія (FPV), підтвердженням імунохроматографічним експрес-тестом. Захворюваність котів на FPV у світі різко зменшується, що пов'язано з проведенням вакцинацій домашніх котів, проте кількість летальних випадків серед безпритульних тварин все ще знаходиться на високому рівні. Перебіг захворювання зазвичай варіабельний від субклінічної інфекції до гострого синдрому з раптовою смертю. Типові клінічні прояви характеризуються лихоманкою, млявістю та анорексією. У хворих котів з'являється блювота, а згодом – водяниста або геморагічна діарея. Безпритульні тварини часто гинуть від ускладнень, пов'язаних із вторинною бактеріальною інфекцією, розвитком сепсису та дегідратації. Найважче хворіють коти віком від 4 місяців до 1 року. Летальність коливається залежно від перебігу захворювання, загального стану організму тварини та вчасно наданої ветеринарної допомоги. У тварин, що загинули, на розтині виявляли ознаки катарального гастриту, катарально-геморагічного ентероколіту, спленомегалії, серозний лімфаденіт, гостру застійну гіперемію печінки та нирок, набряк легень. За гістологічного дослідження дванадцятипалої кишки встановлено некроз ворсинок, набряк стромі власне пластинки слизової оболонки, десквамацію ентероцитів у просвіт кишкового просвіту. Характерним був некроз ліберкюнових крипти та виявлення в ентероцитах вірусних внутрішньоцитоплазматичних тілець-включень. Мікроскопічні зміни в шлунку та товстому відділі кишечника також характеризувались дистрофічними

та некробіотичними змінами, переважно епітеліальної пластинки слизової оболонки. У нирках розвиток екстракапілярного гломерулонефриту. в легенях – вогнищева емфізема та набряк. В селезінці та лімфатичних вузлах набряк стромы, делімфатизація та лімфоцитарний некроз.

Ключові слова: дегідратація, внутрішньоцитоплазматичні тілця-включення, ліберкюнові крипти, спленомегалія, лімфоцитарний некроз.

Вступ

Панлейкопенія котів (*Feline parvovirus* – FPV) – захворювання, яке достатньо широко розповсюджене в природі, є ендемічним серед невакцинованих популяцій домашніх котів та диких тварин з родини котячих. Найбільш вразливими і сприйнятливими до вірусу FPV є кошенята, які з молозивом не отримали достатньої кількості материнських антитіл. У світовій та вітчизняній літературі описані випадки ураження вірусом FPV диких видів тварин: тигрів (*Panthera tigris*), леопардів (*Panthera pardus*), гепардів (*Acinonyx jubatus*), диких кішок (*Felis sylvestris*), рисей (*Lynx lynx*), сервалів (*Leptailurus serval*), тигрових кішок (*Felis tigrina*; *Felis aurata*), оцелотів (*Leopardus pardalis*), левів (*Panthera leo*), леопардових котів (*Felis bengalensis*) (Addie et al., 1998; Cave et al., 2002; Stuetzer & Hartmann, 2014; Wang et al., 2019). Таким чином, можна припустити, що всі члени родини *Felidae* є сприйнятливими до FPV-інфекції (Greene, 2012).

Feline parvovirus – це ДНК-вмісний вірус, який генетично, структурно та антигенно тісно пов'язаний із парвовірусом собак (CPV) і вірусом ентериту норок (MEV) (Poole et al., 1972; Lutz et al., 1995; Kruse et al., 2010; Yang et al., 2010). Через 18–24 год після повітряно-крапельного та/або фекально-орального інфікування вірус реплікується у лімфоїдних тканинах ротоглотки (мигдаликах), віремія триває від 2 до 7 днів з ураженням усіх тканин організму, проте найхарактерніші зміни фіксують у тканинах з найбільшою мітичною активністю. Парвовірус швидко реплікується у криптах слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, кістковому мозку, лімфоїдних органах (тимусі, селезінці, лімфатичних вузлах), клітинах крові та стовбурових клітинах плодів, що призводить до їх функціональної імуносупресії (Breuer et al., 1998). Вірус виділяється з калом, слиною, сечею, блювотою та кров'ю. Є дуже стійким у навколишньому середовищі: в органічному матеріалі (калових масах) вірус може виживати від 5 до 10 місяців, проте висока температура та сухе повітря в літні місяці прискорюють його інактивацію. FPV витримує нагрівання до 56 °C протягом 30 хвилин і залишається життєздатним за тривалого часу при нижчих температурах (Battilani et al., 2011; Cotmore et al., 2014; Awad et al., 2018).

Сезонність захворювання у котів зазвичай виражена і найбільші спалахи реєструють у весняно-літні періоди (пік народження кошенят). Субклінічний перебіг характерний, переважно для старших котів. Важкі клінічні форми захворювання з високою летальністю спостерігають у невакцинованих кошенят у віці від 3 до 5 місяців. Раптову загибель кошенят фіксували також від 4 до 12 місяців. В таких випадках захворювання перебігало в гострій або блискавичній формі з вираженими ознаками анорексії, дегідратації,

кахексії та діареї. В окремих випадках тварина може загинути упродовж 12 годин без виражених клінічних ознак захворювання. Блювота та діарея призводить до прогресуючої слабкості, тварини виснажуються і можуть загинути від ускладнень, пов'язаних із вторинними бактеріальними інфекціями, зневодненням і розвитком ДВС-синдрому (Steinel et al., 2001; Decaro et al., 2008; Stuetzer & Hartmann, 2014).

Серед лікарів ветеринарної медицини поширена думка, що в останні десять років захворюваність на FPV різко зменшилась, що пов'язано з проведенням вакцинацій домашніх котів модифікованими живими вакцинами, які забезпечують стійкий імунітет. Проте кількість летальних випадків серед безпритульних котів все ще знаходиться на високому рівні, що обумовлює актуальність досліджень даного захворювання.

Метою роботи було з'ясувати основні патолого-анатомічні та патогістологічні зміни в організмі котів за спонтанного ураження вірусом *Feline parvovirus* – FPV.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктами дослідження були коти, яких з вираженими клінічними ознаками захворювання привозили працівники громадської організації із захисту безпритульних тварин в клініку “Доктора Маркевича” упродовж 2021 року. Клінічний огляд тварин, проведення імунохроматографічних експрес-тестів на виявлення антигену вірусу панлейкопенії котів (виробник BioTech, Китай), лікування та перетримку тварин здійснювали безпосередньо в клініці “Доктора Маркевича” за адресою м. Львів, вул. Лисинецька 2а. В період з березня по листопад 2021 року в клініці проводили лікування 25 котів із підтвердженим діагнозом на панлейкопенію, з яких 15 – це коти у віці до 1 року та 10 – коти у віці від 1 до 5 років. Летальні випадки фіксували переважно серед молодих котів до 1 року, які потрапляли в клініку з ознаками гіпотермії та кахексії (5 кошенят). Усіх котів, які загинули, піддавали автопсії у секційному залі кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Патогістологічні дослідження проводили у навчально-дослідній лабораторії цієї ж кафедри. Для гістологічного дослідження відбирали фрагменти внутрішніх органів, що фіксували у 10 % водному розчині нейтрального формаліну. Зафіксовані у розчині формаліну тканини промивали протічною водою та зневоднювали у висхідному ряді спиртів із подальшою заливкою у парафін за загальноприйнятою методикою. З парафінових блоків виготовляли гістозрізи товщиною 7 мкм на санному мікромомі MC-2 (Merkulov, 1969; Mulisch & Welsch, 2015). Для світлооптичної мікроскопії депа-

рафіновані зрізи фарбували гематоксиліном Майєра та еозином (Pearse, 1960). Світлову мікроскопію і мікрофотографування отриманих гістопрепаратів здійснювали за допомогою мікроскопа Leica DM-2500 та фотокамери Leica DFC 450C.

Результати та їх обговорення

З анамнестичних даних, отриманих від волонтерів, які доглядали тварин стало відомо, що п'ять котів у віці до 1 року жили в підвальному приміщенні, харчувались сухими кормами, жодних профілактичних вакцинацій тваринам не проводили. Перші клінічні ознаки захворювання, а саме: риніт, кон'юнктивіт, відмову від корму та апатію помітили спершу у двох кошенят. Проте за ветеринарною допомогою одразу не звернулись. Через кілька днів котам стало гірше – з'явились ознаки блювання, пронос із домішками крові. На момент надходження їх у клініку фіксували високу температуру до 40,5 °С, зневоднення, слабкість, блідість видимих слизових оболонок, біль в ділянці живота. При проведенні імунохроматографічного експрес-тесту на виявлення антигену вірусу панлейкопенії котів отримали позитивний результат. Лікувальні заходи виявились неефективними, двоє котів загинули упродовж доби, ще троє – через 3 дні за ускладнення бактеріальною інфекцією.

При проведенні патологоанатомічного розтину у всіх котів були виявлені ознаки ураження кишечника – катаральний гастрит, катарально-геморагічний ен-

тероколіт, серозний лімфаденіт, спленомегалія (рис. 1), гостра застійна гіперемія печінки та нирок (рис. 2, 3), набряк легень. У трьох тварин розвинулась гнійна пневмонія. Макроскопічно в шлунку виявляли незначну кількість слизово-водянистого вмісту сірого кольору з неприємним запахом, слизова оболонка потовщена, гіперемійована з дифузними крапковими крововиливами, в стані катарально-геморагічного запалення. Вміст дванадцятипалої кишки слизистий з домішками крові, легко відділявся від слизової оболонки. Сама слизова оболонка сіро-червоного кольору, тьмяна, витончена з дифузними діapedезними крововиливами. В товстому відділі кишечника, а саме в прямій кишці, виявляли кров'янистий слизоподібний кал неприємного запаху, слизова оболонка в стані катарально-геморагічного запалення (рис. 4). Брижові лімфатичні вузли сіро-червоні, дещо збільшені в розмірах, набряклі, на розрізі вологі, консистенція щільна. Легені повнокровні, пухкі, темно-червоного кольору, на розрізі при натисканні виділялась піниста рідина, в трьох котів – розвинулась гнійна бронхопневмонія з сіро-білого кольору гнійним вмістим. Печінка дещо збільшена, краї заокруглені, ущільнена, темно-коричнево забарвлення, на розрізі виділялась значна кількість крові. Нирки бобоподібної форми, вишневого кольору, капсула знімалась легко, межі між кірковою та мозковою речовинами стерті. Селезінка збільшена із заокругленими краями, темно-вишневого кольору, капсула напружена, зішкріб пульпи значний.



Рис. 1. Спленомегалія



Рис. 2. Гострий венозний застій печінки



Рис. 3. Гострий венозний застій нирок



Рис. 4. Катарально-геморагічний коліт

За гістологічного дослідження дванадцятипалої кишки ворсинки чітко не диференціювались, більшість їх деформована, ентероцити разом із келихоподібними клітинами десквамовані у просвіт кишечнику. Характерним був набряк строми власне пластинки слизової оболонки з незначною клітинною інфільтрацією (рис. 5). Крім того, виявлено системний некроз

ліберкюнових крипт, ядра епітеліальних, келихоподібних клітин та клітин Панета в стані каріолізу (рис. 6). Просвіти крипт деформовані, розширені, подекуди заповнені десквамованим епітелієм. Проте поодинокі в ентероцитах крипт виявляли оксифільну цитоплазму з вірусними внутрішньоцитоплазматичними тільцями-включеннями (рис. 7, 8).

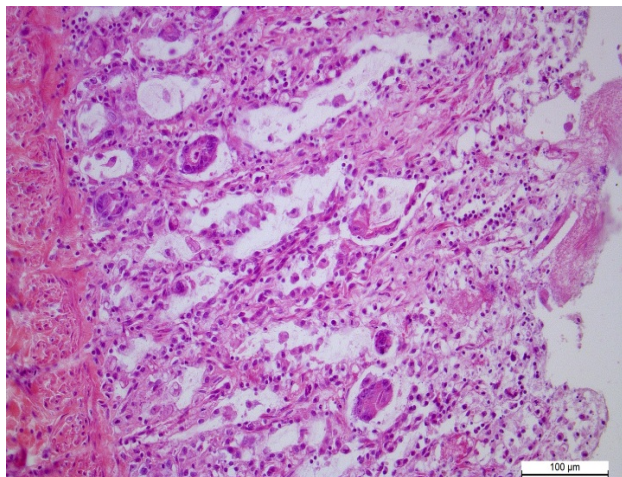


Рис. 5. Дванадцятипала кишка. Набряк строми власне пластинки слизової оболонки, некроз ворсинок, клітинна інфільтрація. Гематоксилін та еозин

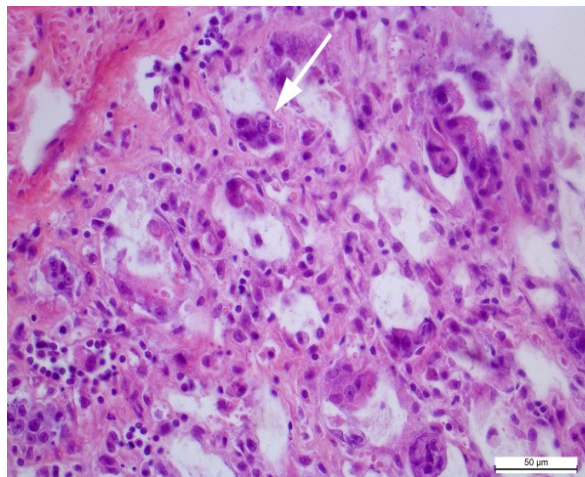


Рис. 6. Крипти дванадцятипалої кишки. Некроз епітелію крипт. Внутрішньоцитоплазматичні тільця-включення (показано стрілкою). Гематоксилін та еозин

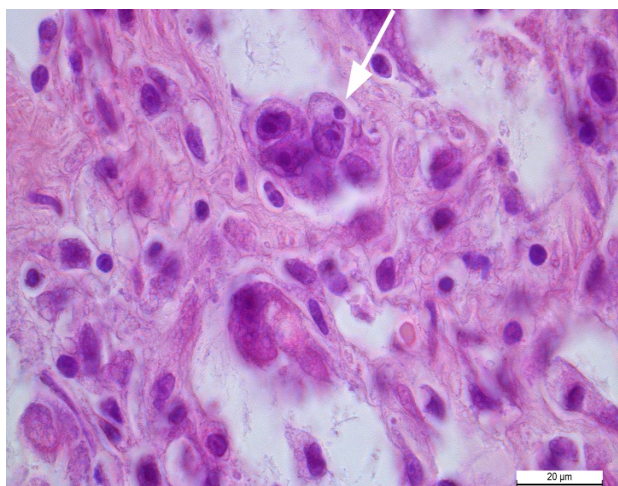


Рис. 7. Дванадцятипала кишка. Внутрішньоцитоплазматичні вірусні тільця включення (показано стрілкою). Гематоксилін та еозин

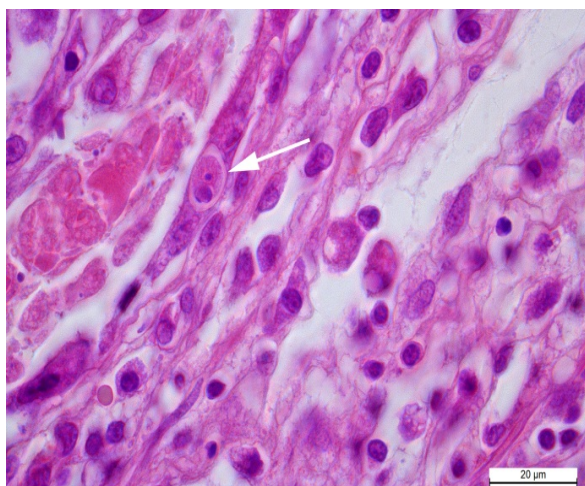


Рис. 8. Дванадцятипала кишка. Внутрішньоцитоплазматичні тільця включення в ентероцитах власне пластинки слизової оболонки (показано стрілкою). Гематоксилін та еозин

Мікроскопічні зміни в шлунку характеризувались дистрофічними та некробіотичними змінами, переважно епітеліальної пластинки слизової оболонки. Виявляли десквамацію одношарового циліндричного епітелію та нерівномірне, але посилене виділення слизу, який разом із некротизованим епітелієм десквамувався у просвіт (рис. 9). Шлункові залози розширені. У власне пластинці слизової оболонки виражений набряк та дифузні крововиливи, просвіти судин розширені.

Гістологічно у товстому відділі кишечнику також виявляли некроз слизової оболонки, десквамацію, утворення клітинного детриту в просвіті кишечнику

(рис. 10), дифузну інфільтрацію лімфоепітеліальними елементами власне пластинки слизової оболонки та її набряк.

За мікроскопічного дослідження легеневої тканини встановлено, що просвіти більшості альвеол заповнені блідо-рожевого кольору набряковою рідиною. Зміни у інших ділянках легень характерні для емфіземи – альвеоли надмірно розтягнуті повітрям, альвеолярні перегородки витончені, місцями зруйновані (рис. 11). У нирках клубочки кіркової речовини дещо збільшені, між парієтальним та вісцеральним листками накопичувалась оксифільна маса та клітинні елементи, які формували півмісяці (рис. 12). Деякі клубочки атро-

фічно змінені. Епітелій проксимального та дистального каналців у стані білкової дистрофії: цитоплазма дещо ущільнена, в деяких клітинах піниста, ядра нефроцитів гіперхромні з ознаками каріопікнозу та рексису. Подекуди в стромі наявні лімфоепітеліальні інфільтрати. Судини незначно розширені. В окремих збірних трубках локалізувались базофільні маси.

У печінці балкова будова порушена, гемокапіляри сильно розширені, заповнені еритроцитами (рис. 13). Між розширеними судинами проглядались деформовані та атрофовані гепатоцити. Контури гепатоцитів нечіткі, цитоплазма оксифільна, ядра пікнотичні. За гістологічного дослідження селезінки встановлено набряк стромы, потовщення трабекул, атрофію лімфоїдних вузликів, а в центральній частині – лімфоцитарний некроз (рис. 14, 15). Мантийна зона лімфоїдних вузликів погано візуалізувалась. Мікроскопічно тимус

представлений часточками, розділеними сполучнотканинними перегородками, границі між кірковою та мозковою речовинами проглядались. Проте як у кірковій, так і мозковій речовинах виявляли дифузні ділянки з некрозом лімфоцитів (рис. 16). У мозковій речовині візуалізувались дещо розширені та переповнені кров'ю капіляри, збільшувалась кількість тілець Гассала.

В лімфатичних вузлах трабекули набряклі, паренхіма органа без чіткого поділу на кіркову та мозкову речовини, кровоносні судини розширені, переповнені еритроцитами. В кірковій речовині візуалізується значна кількість лімфоїдних вузликів з вираженою делімфатизацією (рис. 17). Синуси мозкової речовини, які розміщуються між тяжами мозкової речовини, розширені, проглядається оголений ретикулярний каркас (рис. 18).

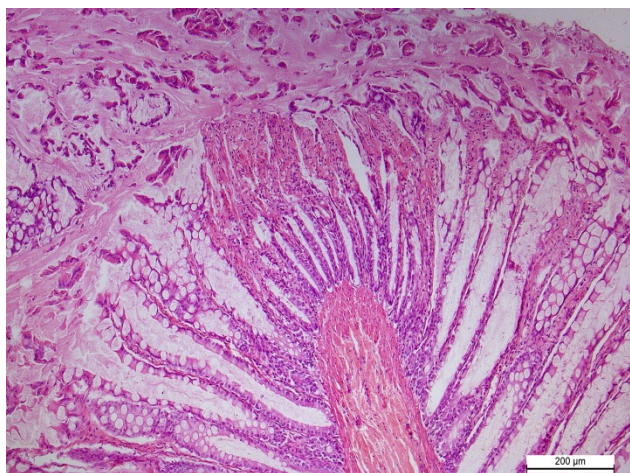


Рис. 9. Шлунок. Некроз епітелію слизової оболонки. Дифузні крововиливи. Гематоксилін та еозин

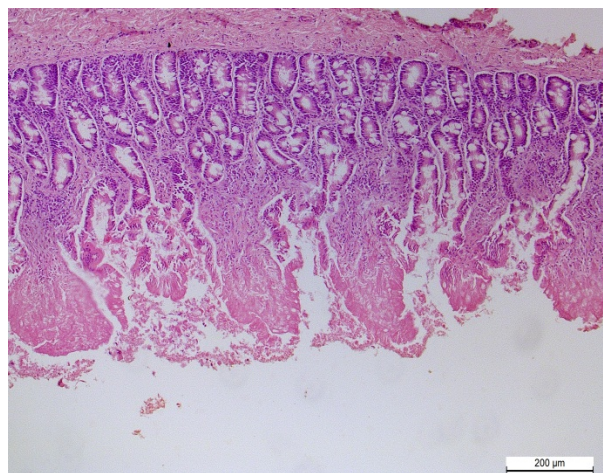


Рис. 10. Ободова кишка. Некроз слизової оболонки. Гематоксилін та еозин

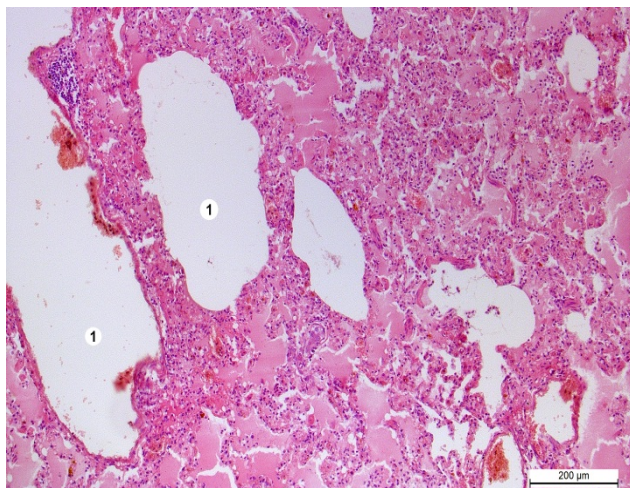


Рис. 11. Набряк легень. Ділянки емфіземи (1). Гематоксилін та еозин

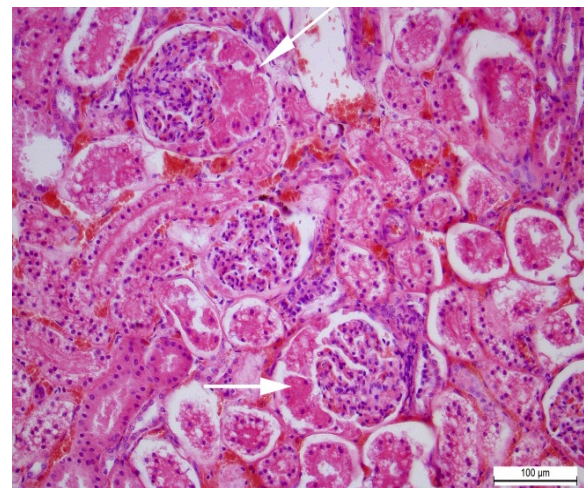


Рис. 12. Екстракапілярний гломерулонефрит. Оксифільні маси (показано стрілкою). Гематоксилін та еозин

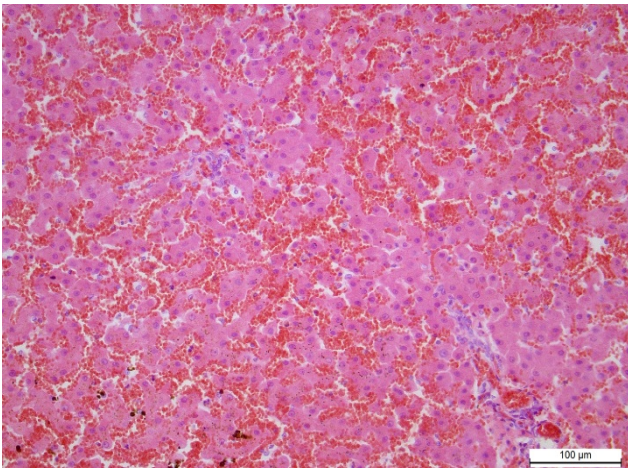


Рис. 13. Печінка. Гострий венозний застій, дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін та еозин

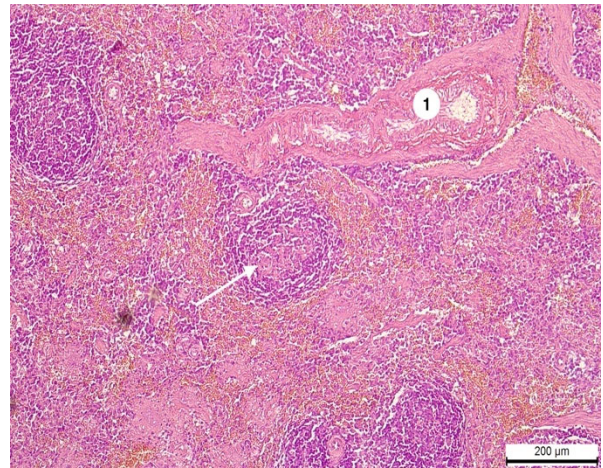


Рис. 14. Селезінка. Некроз центрів розмноження у лімфатичному вузлику (показано стрілкою). набряк трабекул (1). Гематоксилін та еозин

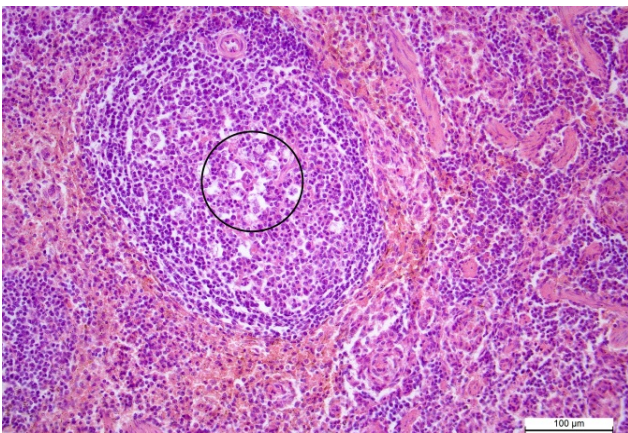


Рис. 15. Селезінка. Некроз лімфоцитів у центрі розмноження. Гематоксилін та еозин

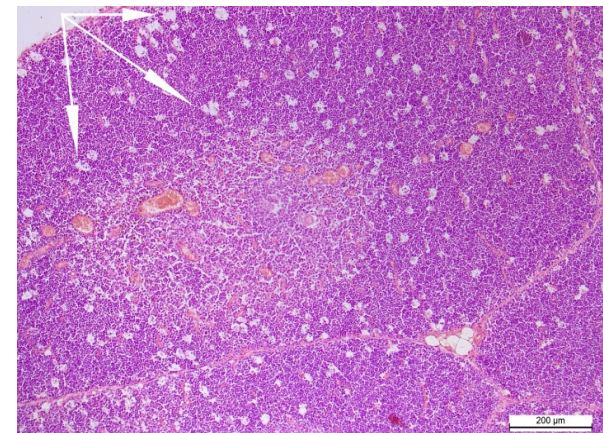


Рис. 16. Тимус. Ділянки з некрозом лімфоцитів (показано стрілками). Гематоксилін та еозин

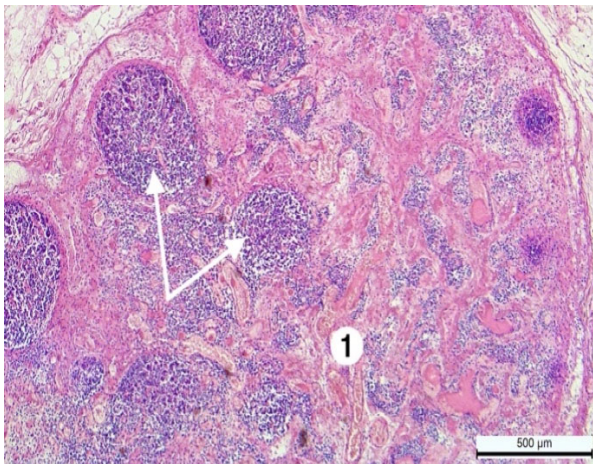


Рис. 17. Лімфатичний вузол. Делімфатизація лімфоїдних вузликів (показано стрілками). Розширення кровоносних судин (1). Гематоксилін та еозин

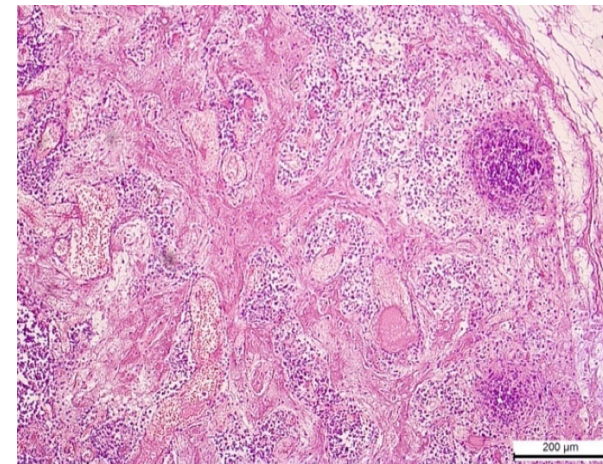


Рис. 18. Лімфатичний вузол. набряк синусів з оголенням ретикулярного каркасу. Гематоксилін та еозин

Моніторингові дослідження, отримані у клініці дрібних тварин Мюнхенського університету (Німеччина) у період з 1990 по 2007 рік, вказували на гостру проблему з панлейкопенією у котів на Європейському континенті. Згідно з їхніми даними – у 244 кішок був підтверджений діагноз FPV, з яких 90 % були домаш-

німи короткошерстими, 5,5 % – перси, 2,4 % – змішані і 0,8 % – сіамської породи. З них – 59,5 % це самці, 45,5 % – самки. 60,3 % кішок не були вакциновані, 39,7 % отримали принаймні одну дозу вакцини до 12-тижневого віку. З тих кішок, які ніколи не були вакциновані, 54,1 % не вижили, ті, які отримали

1 дозу вакцини, до 12-тижневого віку – 58,6 % не вижили. З кішок, які отримали 2 дози вакцини, до 12-тижневого віку лише 12,5 % загинули. Клінічні дослідження, проведені перед початком лікування котів, свідчили про те, що кількість лейкоцитів і тромбоцитів, а також концентрація альбуміну та калію в сироватці крові на момент поступлення тварини в клініку були прогностичними для панлейкопенії, тимчасом як статус вакцинації, вік, клінічні ознаки та умови утримання – ні (Cave et al., 2002; Rice et al., 2017; Inthong et al., 2019).

Інші дослідження, проведені вже в період з 2010 по 2015 рік у клініці Мюнхенського університету свідчать про стабільну динаміку захворювання на FPV. Більшість уражених котів були віком до 1 року: 56,7 % – до 6 місяців, 25,3 % – більше ніж 1 рік, а 10,7 % – понад 5 років. Такі дані свідчать про те, що старші коти є більш захищеними через проведення вакцинації або, ймовірно, через перенесену раніше субклінічну форму інфекції.

Дослідження, проведені у Великобританії у період з 2000 по 2015 рік свідчать про те, що 25 % усієї смертності кошенят були спричинені вірусом FPV. Проте не було встановлено суттєвої кореляції між віком котів і тяжкістю клінічних ознак захворювання. Результати показали, що справді кошенята є сприйнятливішими до панлейкопенії, але за вчасно проведеної терапії високого відсотку смертності не виявляли, що суперечить загальному твердженню про найвищу захворюваність і смертність у кошенят до 12-місячного віку (Addie et al., 1988; Gaskell et al., 2006; Kruse et al., 2010). У своїх дослідженнях британці наводять дані щодо домашніх кімнатних котів, які не мали жодних безпосередніх контактів з іншими тваринами. Отримані результати досліджень вказують на те, що існує непряма передача збудника через забруднений одяг власників тварин, переноски, в яких транспортують котів до клініки та через укуси різних комах (Kruse et al., 2010; Leal et al., 2020). У цьому дослідженні фіксували, що 69,3 % пацієнтів мали діарею, а 62,7 % – блювоту. Проте у 30,7 % ніколи не виникала діарея, а у 37,3 % ніколи не було блювоти. Деякі з цих кішок, можливо, мали гостру форму захворювання і померли до появи ознак ураження шлунково-кишкового тракту. Однак, у 10,2 % не реєстрували діарею та блювоту, незважаючи на тривалий перебіг хвороби, а у 54,2 % – досягнули сприятливого результату із повною ремісією. Цікавим виявився той факт, що у 34,2 % котів під час хвороби не розвивалася лейкопенія. Лікарі припускають, що, можливо, була лейкопенія до проведення тестування або тварини перебували у гострій фазі інфікування (Abd-Eldaim et al., 2009; Tucker et al., 2014).

Висновки

Резюмуючи результати наших досліджень та аналізуючи описані випадки інших дослідників, можемо зазначити, що панлейкопенія котів (FPV) є дуже заразним захворюванням, яке уражає всіх представників родини *Felidae*. Перебіг захворювання варіабельний

від субклінічної інфекції до гострого синдрому з раптовою смертю. Типові ранні ознаки захворювання характеризуються лихоманкою, млявістю та анорексією. У хворих котів спочатку може з'явитися блювота, а згодом – водяниста або геморагічна діарея. Тварини часто гинуть від ускладнень, пов'язаних із вторинною бактеріальною інфекцією, та сепсису. Найважче хворіють коти від 4 місяців до 1 року. Летальність коливається залежно від перебігу захворювання, загального стану організму тварини та часу надання ветеринарної допомоги. Патогномонічними ознаками панлейкопенії котів є ураження кишечника, а саме розвиток катарально-геморагічного або геморагічного ентероколіту з виявленням в ентероцитах крипти вірусних внутрішньоцитоплазматичних тілець-включень та змін в органах імунної системи – вираженою імуносупресією.

Перспективи подальших досліджень. Проведення моніторингових гематологічних, біохімічних та імунферментних досліджень крові котів для ранньої діагностики FPV.

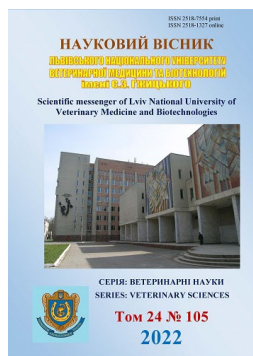
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abd-Eldaim, M., Beall, M. J., & Kennedy, M. A. (2009). Detection of feline panleukopenia virus using a commercial ELISA for canine parvovirus. *Vet Ther.*, 10(4), 1–6. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20425728>.
- Addie, D. D., Toth, S., Thompson, H., Greenwood, N., & Jarrett, J. O. (1988). Detection of feline parvovirus in dying pedigree kittens. *Vet Rec.*, 142(14), 353–356. DOI: 10.1136/vr.142.14.353.
- Awad, R. A., Khalil, W. K. B., & Attallah, A. G. (2018). Epidemiology and diagnosis of feline panleukopenia virus in Egypt: Clinical and molecular diagnosis in cats. *Veterinary World*, 11(5), 578–584. DOI: 10.14202/vetworld.2018.578-584.
- Battilani, M., Balboni, A., Ustulin, M., Giunti, M., Scagliarini, A., & Prosperi, S. (2011). Genetic complexity and multiple infections with more Parvovirus species in naturally infected cats. *Veterinary research*, 42(1), 43. DOI: 10.1186/1297-9716-42-43.
- Breuer, W., Stahr, K., Majzoub, M., & Hermanns, W. (1998). Bone-marrow changes in infectious diseases and lymphohaemopoietic neoplasias in dogs and cats: a retrospective study. *J Comp Pathol.*, 119(1), 57–66. DOI: 10.1016/s0021-9975(98)80071-6.
- Cave, T. A., Thompson, H., Reid, S. W., Hodgson, D. R., & Addie, D. D. (2002). Kitten mortality in the United Kingdom: a retrospective analysis of 274 histopathological examinations (1986 to 2000). *Vet Rec.*, 151(17), 497–501. DOI: 10.1136/vr.151.17.497.
- Cotmore, S. F., Agbandje-McKenna, M., Chiorini, J. A., Mukha, D. V., Pintel, D. J., Qiu, J., Soderlund-Venermo, M., Tattersall, P., Tijssen, P., Gatherer, D., & Davison, A. J. (2014). The family Parvoviridae. *Archives of virology*, 159(5), 1239–1247. DOI: 10.1007/s00705-013-1914-1.

- Decaro, N., Desario, C., Miccolupo, A., Campolo, M., Parisi, A., Martella, V., Amorisco, F., Lucente, M. S., Lavazza, A., & Buonavoglia, C. (2008). Genetic analysis of feline panleukopenia viruses from cats with gastroenteritis. *J Gen Virol.*, 89(9), 2290–2298. DOI: 10.1099/vir.0.2008/001503-0.
- Gaskell, R. M., Dawson, S., & Radford, A. D. (2006). Duration of immunity. The regulatory issues. *Vet Microbiol.*, 117(1), 80–85. DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.04.014.
- Greene, C. E. (2012). Feline enteric viral infections. *Infectious diseases of the dog and cat*, 80–91.
- Inthong, N., Sutacha, K., Kaewmongkol, S., Sinsiri, R., Sribuarod, K., Sirinarumit, K., & Sirinarumit, T. (2019). Feline panleukopenia virus as the cause of diarrhea in a banded linsang (*Prionodon linsang*) in Thailand. *The Journal of veterinary medical science*, 81(12), 1763–1768. DOI: 10.1292/jvms.19-0238.
- Kruse, B. D., Unterer, S., Horlacher, K., Sauter-Louis, C., & Hartmann, K. (2010). Prognostic factors in cats with feline panleukopenia. *Journal Vet Intern Med.*, 24(6), 1271–1276. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2010.0604.
- Leal, É., Liang, R., Liu, Q., Villanova, F., Shi, L., Liang, L., Li, J., Witkin, S. S., & Cui, S. (2020). Regional adaptations and parallel mutations in Feline panleukopenia virus strains from China revealed by nearly-full length genome analysis. *PloS one*, 15(1), e0227705. DOI: 10.1371/journal.pone.0227705.
- Lutz, H., Castelli, I., Ehrensperger, F., Pospischil, A., Roskopf, M., Siegl, G., Grob, M., & Martinod, S. (1995). Panleukopenia-like syndrome of FeLV caused by co-infection with FeLV and feline panleukopenia virus. *Vet Immunol Immunopathol*, 46(1-2), 21–33. DOI: 10.1016/0165-2427(94)07003-p.
- Merkulov, G. A. (1969). *Kurs patologicheskoy tekhniki* [Course of pathohistological techniques]. Medicine, Moscow (in Russian).
- Mulisch, M., & Welsch, U. (2015). *Romeis – Mikroskopische Technik*. Berlin: Springer Spektrum. DOI: 10.1007/978-3-642-55190-1.
- Pearse, A. G. E. (1960). *Histochemistry, Theoretical and Applied* (ed. 2). Boston: Little, Brown & Company.
- Poole, G. M. (1972). Stability of a modified, live panleukopenia virus stored in liquid phase. *Appl Microbiol.*, 24(4), 663–664. DOI: 10.1128/am.24.4.663-664.
- Rice, J. K. (2017) *Successful Treatment of Feline Panleukopenia: A Guideline For Rescuers and Veterinarians*, Part I. *J Vet Sci Med Diagn.*, 6, 2. DOI: 10.4172/2325-9590.1000223.
- Steinel, A., Parrish, C. R., Bloom, M. E., & Truyen, U. (2001). Parvovirus infections in wild carnivores. *J Wildl Dis.*, 37(3), 594–607. DOI: 10.7589/0090-3558-37.3.594.
- Stuetzer, B., & Hartmann, K. (2014). Feline parvovirus infection and associated diseases. *Vet J.*, 201(2), 150–155. DOI: 10.1016/j.tvjl.2014.05.027.
- Tucker, S., Penninck, D. G., Keating, J. H., & Webster, C. R. (2014). Clinicopathological and ultrasonographic features of cats with eosinophilic enteritis. *J Feline Med Surg.*, 16(12), 950–956. DOI: 10.1177/1098612X14525385.
- Wang, K., Du, S., Wang, Y., Wang, S., Luo, X., Zhang, Y., Liu, C., Wang, H., Pei, Z., & Hu, G. (2019). Isolation and identification of tiger parvovirus in captive siberian tigers and phylogenetic analysis of VP2 gene. *Infect Genet Evol.*, 75, 103957. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.103957.
- Yang, S., Wang, S., Feng, H., Zeng, L., Xia, Z., Zhang, R., Zou, X., Wang, C., Liu, Q., & Xia, X. (2010). Isolation and characterization of feline panleukopenia virus from a diarrheic monkey. *Veterinary microbiology*, 143(2-4), 155–159. DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.11.023.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10510

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:591.23.628

Morphology of the adrenal gland blue rock pigeon (*Columba livia* L.)

V. Prokopenko ✉

Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

Article info

Received 19.01.2022

Received in revised form

21.02.2022

Accepted 22.02.2022

Polissia National University,
Stryi Boulevard, 7, Zhytomyr,
10008, Ukraine.
Tel.: +38-098-246-45-32
E-mail: ogp.zt.2013@gmail.com

Prokopenko, V. (2022). Morphology of the adrenal gland blue rock pigeon (*Columba livia* L.). Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 67–72. doi: 10.32718/nvlvet10510

The blue rock pigeon (*Columba livia* L.) is a cosmopolitan, synanthropic or urbanist bird. Its use as a biological model to clarify the features of the structure of organs, systems and devices is incomplete. The adrenal gland plays an important role in the body of birds. Its hormones affect the growth and differentiation of tissues, regulate metabolism, affect the body's resistance to infections, stress, intoxication, low temperatures. The aim of the work was to find out the features of the morphology of the adrenal gland of the blue rock pigeon. Anatomical, histological, morphometric and statistical research methods were used. It was found that in the blue rock pigeon, the adrenal gland is a paired organ located ventrally from the cranial lobe of the kidneys. It has a pale yellow color, elongated-pyramidal or elongated-rounded shape, absolute mass of 0.019 ± 0.001 g. of the linear dimensions of the adrenal gland of the blue rock pigeon, the largest is the length (3.53 ± 0.04 mm), slightly smaller – the width (2.59 ± 0.16 mm), the smallest – the thickness (1.33 ± 0.03 mm). The left adrenal gland is longer and wider than the right adrenal gland. The adrenal parenchyma of the blue rock pigeon is represented by cellular strands of interrenal and suprarenal tissues, which are intertwined with each other. Indicators of their relative area in the peripheral zone (71.50 ± 3.46 and 25.83 ± 3.51 %, respectively), compared with the central zone (71.00 ± 3.50 and 26.17 ± 3.56 %, respectively), do not differ. Cells of the interrenal tissue of the adrenal gland of the blue rock pigeon are columnar or cubic in shape, with an eosinophilic colored cytoplasm and a rounded or oval nucleus, which is placed eccentrically. Relative to the cells of suprarenal tissue, they have a polygonal shape, basophilic cytoplasm, and a rounded, centrally located nucleus. Venous sinuses are registered between the cell strands of interrenal and suprarenal tissues. The wall of the venous sinuses is formed by flat endotheliocytes, in some places sinusoidal hemocapillaries invaginate in it. The relative area of venous sinuses in the peripheral and central zones of the adrenal gland of the blue rock pigeon is almost the same – 2.67 ± 0.33 and 2.83 ± 0.48 %, respectively. Clusters of multipolar neurons and nodes of the autonomic nervous system are recorded in the capsule, parenchyma, or outside the adrenal capsule of the blue rock pigeon. The established features of the macro- and microscopic structure, morphometric indicators of the adrenal gland of the blue rock pigeon can be used to create a base for its normal morphological characteristics, which will make it possible to assess the Morpho-functional state of the adrenal gland of birds of this species under the influence of various factors and pathology.

Key words: blue rock pigeon, adrenal gland, topography, anatomical and microscopic structure, morphometric parameters.

Морфологія надниркової залози голуба сизого (*Columba livia* L.)

В. С. Прокопенко ✉

Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

Сизий голуб (*Columba livia* L.) – це птах-космополіт, синантроп або урбаніст. Його використання як біологічної моделі для з'ясування особливостей будови органів, систем і апаратів неповне. Надниркова залоза відіграє важливу роль в організмі птахів. Її гормони впливають на ріст і диференціювання тканин, регулюють обмін речовин, впливають на резистентність організму до інфекцій, стресу, інтоксикації, низьких температур. Метою роботи було з'ясувати особливості морфології надниркової залози

голуба сизого. Використано анатомічні, гістологічні, морфометричні та статистичні методи досліджень. Встановлено, що у голуба сизого надниркова залоза є парним органом, що розміщується вентрально від краніальної частки нирок. Вона має блідо-жовтий колір, видовжено-пірамідальну або видовжено-округлу форми, абсолютну масу $0,019 \pm 0,001$ г. З лінійних розмірів надниркової залози голуба сизого найбільшим є довжина ($3,53 \pm 0,04$ мм), дещо меншим – ширина ($2,59 \pm 0,16$ мм), найменшим – товщина ($1,33 \pm 0,03$ мм). Ліва надниркова залоза, порівняно з правою, довша і ширша. Паренхіма надниркової залози голуба сизого представлена клітинними тяжами інтерреналової та супрареналової тканин, які переплітаються між собою. Показники їх відносної площі в периферичній зоні ($71,50 \pm 3,46$ і $25,83 \pm 3,51$ % відповідно), порівняно з центральною ($71,00 \pm 3,50$ і $26,17 \pm 3,56$ % відповідно), не відрізняються. Клітини інтерреналової тканини надниркової залози голуба сизого стовпчастої або кубічної форми, з еозинофільно забарвленою цитоплазмою і ядром округлої або овальної форми, яке розміщене ексцентрично. Щодо клітин супрареналової тканини, вони мають полігональну форму, базофільну цитоплазму, округле, центрально розміщене ядро. Венозні синуси реєструються між клітинними тяжами інтерреналової та супрареналової тканин. Стінка венозних синусів утворена плоскими ендотеліоцитами, місцями в неї інвагують синусоїдні гемокапіляри. Відносна площа венозних синусів у периферичній і центральній зонах надниркової залози голуба сизого майже однакова – $2,67 \pm 0,33$ і $2,83 \pm 0,48$ % відповідно. Скупчення мультиполарних нейронів і вузли вегетативної нервової системи реєструються у капсулі, паренхімі або зовні капсули надниркової залози голуба сизого. Встановлені особливості макро- і мікроскопічної будови, морфометричні показники надниркової залози голуба сизого можна використовувати для створення бази її нормальної морфологічної характеристики, що дасть можливість робити оцінку морфо-функціонального стану надниркової залози птахів даного виду за впливу різних факторів і за патології.

Ключові слова: голуб сизий, надниркова залоза, топографія, анатомічна і мікроскопічна будова, морфометричні показники.

Вступ

Голубівництво належить до галузі птахівництва, що об'єднує промислове сільськогосподарське, спортивне і декоративне розведення птахів (Bachmann et al., 2007; Kabir & Hawkeswood, 2021). Потреба в дієтичних продуктах на вітчизняному ринку сприяє розвитку м'ясного голубівництва у приватних розплідниках. Федерація голубиноного спорту України об'єднує у своїх лавах більше як 2000 голубоводів-спортсменів з 32 клубів. У містах любителі голубів віддають перевагу декоративним породам (Grishchenko, 2004).

Сімейство голубів (Columbinae) включає 4 підродина з 25 родами і 280 видами (Domyan & Shapiro, 2017; Erdem et al., 2021). Сизий голуб (*Columba livia* L.) – найпоширеніший і найвідоміший представник цього сімейства. Його зараховують до групи птахів-космополітів, синантропів або урбаністів. Це вид птахів, який мешкає на всіх населених континентах, зокрема частина його популяції у своїх природних ландшафтах, а саме на рівнинній та гірській території зони м'якого клімату (Donegan, 2016). У спеціальній літературі є відомості про розведення, годівлю і екологію голуба сизого (Senar et al., 2017; Batool et al., 2020; Aslam et al., 2021). Але його використання як біологічної моделі для з'ясування особливостей будови органів, систем і апаратів неповне.

Ендокринна система спільно з нервовою системою координує діяльність організму (Moghanlo & Mohammadpour, 2019; Kot et al., 2021). Гормони надниркової залози регулюють білковий, вуглеводний, водний і мінеральний обмін, стимулюють енергетичний обмін, впливають на ріст і диференціювання тканин, резистентність організму до інтоксикації, стресу, інфекцій, низької температури (Hays, 2018; Zakrevska & Tybinka, 2019; Di Lorenzo et al., 2020; Qureshi et al., 2020; Rudik et al., 2021). Надниркова залоза голуба сизого досліджена недостатньо (Sadon, 2018).

Мета роботи – з'ясувати особливості морфології надниркової залози голуба сизого. Завдання роботи: визначити топографію, форму, колір, масу і розміри надниркової залози, встановити особливості мікроскопічної будови надниркової залози, провести мор-

фометричне дослідження мікроструктурних компонентів надниркової залози голуба сизого.

Матеріал і методи досліджень

Надниркову залозу для морфологічних досліджень відбирали від 6 голів голуба сизого (*Columba livia* L.). Всі птахи були статевозрілими, клінічно здоровими і не мали ознак захворювань. Усі втручання та забій птахів було проведено з дотриманням вимог “Загальних принципів експериментів на тваринах”, які ухвалено на Першому національному конгресі з біоетики (м. Київ, 2001 р.), узгоджено з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (м. Страсбург, 1987 р.) і відповідають Закону України № 692 “Про захист тварин від жорстокого поводження” (3447-IV) від 21.02.2006 р.

Анатомічний рівень дослідження включав в себе: забій і знекровлення голубів, розтин грудочеревної порожнини, відокремлення надниркової залози від навколишніх тканин з метою встановлення її форми і кольору (Reavill & Schmidt, 2019). Масу тіла голубів визначали шляхом зважування на вагах PS6000/C/2, абсолютну масу надниркової залози за допомогою вагів Axis ANG200C, лінійні розміри (довжину, товщину, ширину) за допомогою штангенциркуля ШЦ 160-0,05.

Для проведення мікроскопічних досліджень надниркову залозу фіксували у 10 % водному нейтральному розчині формаліну, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації (40 °, 70 °, 96 °, 100 °), ущільнювали у спирт-ксилолі (1 : 1) і двох порціях ксилолу та заливали у парафін за температури не вище ніж 60 °C. З парафінових блоків на санному мікротомі MC-2 виготовляли зрізи товщиною 5–8 мкм, які поміщали на предметні скельця і фарбували гематокси-ліном Караці та еозином (Mulisch & Welsch, 2015).

Вивчення та мікрофотографування гістологічних препаратів здійснювали за допомогою цифрової фотокамери, вмонтованої у мікроскоп Primo Star (Carl Zeiss, Німеччина) і підключеної до персонального комп'ютера.

Морфометричні методи використовували для одержання об'єктивних даних структурної організації надниркової залози. Для цього використовували програмне забезпечення "Aperio ImageScope" (Leica Biosystem Inc., США, 2021). Визначали товщину капсули, відносну площу інтерреналової і супрареналової тканини, відносну площу просвіту венозних синусів надниркової залози.

Цифрові дані морфометричних досліджень обробляли варіаційно-статистичними методами на персональному комп'ютері з використанням програмного пакету "Statistica 6" (Stat Soft Inc., США). Аналіз отриманих даних базувався на показниках описової статистики, а саме середнє арифметичне, стандартна похибка середнього. Достовірність отриманих даних оцінювали за F-критерієм Фішера. Різницю між двома величинами вважали вірогідною за $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$.

Результати та їх обговорення

Надниркова залоза у птахів, подібно до ссавців, є парним органом (Moawad & Hassan, 2017; El-Desoky & El-Zahraa, 2021). Результати досліджень свідчать, що у голуба сизого розрізняються права і ліва залози, які розміщуються на одному рівні вентрально краніальної частки нирок (рис. 1). Аналогічна топографія надниркової залози характерна для представників ряду Куроподібні (Moawad & Hassan, 2017; Colcimen & Cakmak, 2020; Kot & Prokopenko, 2020; El-Desoky & El-Zahraa, 2021) і Гусеподібні (Elzoghby, 2010; Al-Jebori et al., 2016).

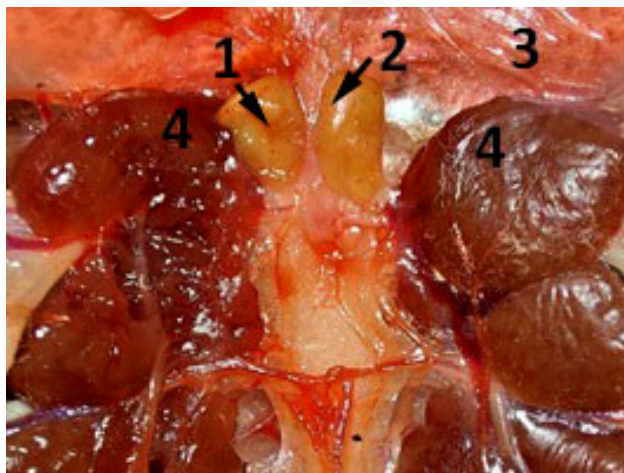


Рис. 1. Топографія надниркової залози голуба сизого: 1 – права надниркова залоза; 2 – ліва надниркова залоза, 3 – легені; 4 – нирки. Макропрепарат

Форма і колір надниркової залози у птахів різняться. З літературних джерел (Tang et al., 2009; Sarkar et al., 2014; Jabbar et al., 2021) відомо, що в африканського страуса права і ліва надниркова залози мають еліпсоподібну і довгасту форми, у свійських курки, цесарки – напівкруглу і трикутну форми відповідно. Проведеними дослідженнями встановлено, що надниркова залоза голуба сизого видовжено-пірамідальної (права залоза) або видовжено-округлої (ліва залоза)

форми, блідо-жовтого кольору. Fathima & Lucy (2014) стверджує, що свійській качці властива зміна кольору надниркової залози – від кремово-жовтого (молодняк) до коричневого (доросла птиця). На думку Scanes (2020), неоднорівнянність забарвлення надниркової залози в жовтий колір обумовлена насиченістю її тканин каротиноїдами.

Абсолютна маса надниркової залози голуба сизого дорівнює $0,019 \pm 0,001$ г, що є найменшим значенням порівняно з таким в африканського страуса, свійських курки і цесарки (Tang et al., 2009; Kober et al., 2012; Moghadam & Mohammadpour, 2017; Kot & Prokopenko, 2020). Як стверджує Fathima & Lucy (2014), абсолютна маса надниркової залози прямо залежить від маси тіла птахів. У свійської качки даний показник збільшується з денного віку ($0,011$ г) до 12-тижневого віку ($0,093$ г), потім зменшується до $0,088$ г на 16-му тижні життя (початку яйцевідкладання) і знову збільшується до $0,137$ г у віці 24 тижнів.

У голуба сизого абсолютна маса правої та лівої надниркової залози майже однакова ($0,009 \pm 0,001$ і $0,010 \pm 0,0004$ відповідно), що суперечить даним інших авторів (Sarkar et al., 2014; Colcimen & Cakmak, 2020) про більшу масу лівої надниркової залози у червононогої куріпки і курки свійської. На думку Al-Jebori et al. (2016), лівостороння асиметрія надниркової залози птахів за масою обумовлена інтенсивнішим кровопостачанням за рахунок лівої зовнішньої клубової вени.

Визначення розмірів надниркової залози голуба сизого показало, що найбільше середнє значення має довжина ($3,53 \pm 0,04$ мм), дещо менше – ширина ($2,59 \pm 0,16$ мм) і найменше – товщина органу ($1,33 \pm 0,03$ мм). Також встановлено, що у голуба сизого довжина і ширина лівої залози ($4,01 \pm 0,06$ і $3,14 \pm 0,01$ мм відповідно), порівняно з такими показниками правої залози ($3,05 \pm 0,01$ і $2,05 \pm 0,02$ мм відповідно) достовірно ($P < 0,01$, $P < 0,05$) більші відповідно в 1,31 і 1,53 рази. Це підтверджує результати інших авторів (Fathima & Lucy, 2014; Sarkar et al., 2014; Moghadam & Mohammadpour, 2017; Jabbar et al., 2021), які досліджували надниркову залозу у свійських курки, цесарки і качки.

Зовні надниркова залоза голуба сизого вкрита капсулою завтовшки $13,46 \pm 0,67$ мкм. Вона утворена волокнистою сполучною тканиною, в якій реєструються кровоносні судини, скупчення мультиполярних нейронів, а також вузли вегетативної нервової системи (рис. 2). Останні помітні й зовні капсули надниркової залози голуба сизого, що також відмітили у своїх роботах інші автори (Elzoghby, 2010; Sarkar et al., 2014), які досліджували мікроскопічну будову надниркової залози свійських курки і гуски.

Паренхіма надниркової залози голуба сизого представлена клітинними тяжами інтерреналової і супрареналової тканин, що переплітаються між собою. Вузькі проміжки між ними заповнені прошарками пухкої волокнистої сполучної тканини з венозними синусами (рис. 2). За даними (Moghadam & Mohammadpour, 2017), у свійської цесарки на розрізі надниркової залози виділяється периферична і центральна

зони. Вони різняться співвідношенням інтерреналової і супрареналової тканин, зокрема перша домінує в периферичній, друга – у центральній зоні. Проте за результатами наших досліджень, у голуба сизого інтерреналова і супрареналова тканини рівномірно розподілені по всій наднирковій залозі. Відносна площа супрареналової тканини у периферичній і центральних зонах надниркової залози голуба сизого достовірно не відрізняється ($P > 0,05$) і дорівнює $25,83 \pm 3,51$ і $26,17 \pm 3,56$ % відповідно. Щодо показника відносної площі інтерреналової тканини надниркової залози голуба сизого, він також достовірно не відрізняється у периферичній і центральних зонах ($71,50 \pm 3,46$ і $71,00 \pm 3,50$ % відповідно), але достовірно ($P < 0,001$) перевищує такий супрареналової тканини відповідно в 2,76 і 2,71 раза.

Клітини інтерреналової тканини надниркової залози голуба сизого стовпчастої або кубічної форми, з еозинофільно забарвленою цитоплазмою і ядром округлої або овальної форми, яке розміщене ексцентрично. Щодо клітин супрареналової тканини, вони мають полігональну форму, базофілну цитоплазму, округле, центрально розміщене ядро. Як в периферичній, так і в центральній зонах надниркової залози голуба сизого між окремими клітинними тяжами інтерреналової та супрареналової тканин реєструються венозні синуси (рис. 3). Це суперечить даним інших авторів (Elzoghby, 2010; Kot & Prokopenko, 2020), які досліджували морфологію надниркової залози свійських курки і гуски та стверджували про локалізацію венозних синусів виключно в центральній зоні.

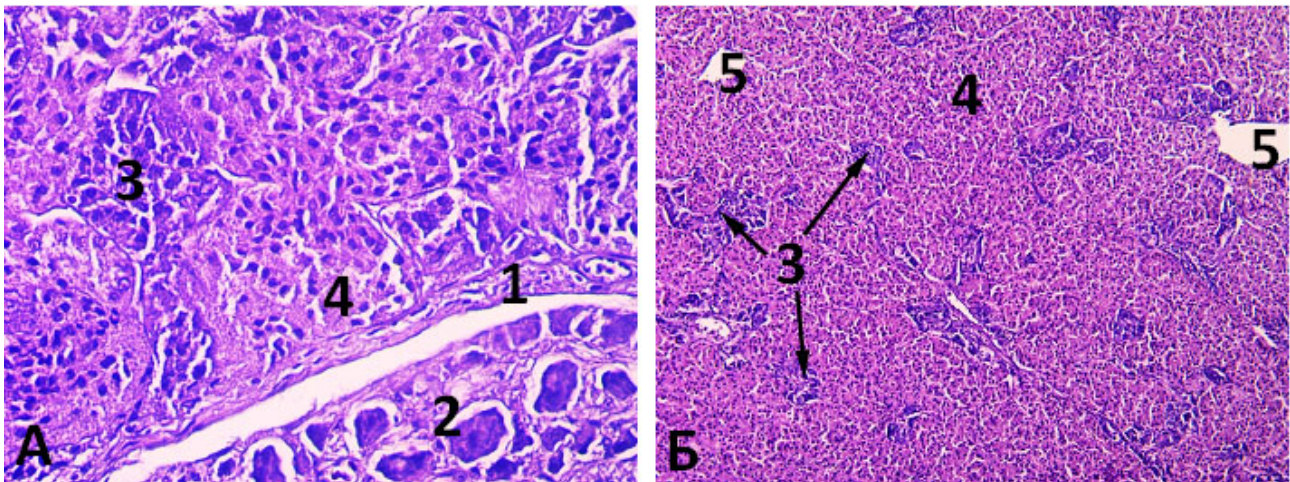


Рис. 2. Фрагмент мікроскопічної будови надниркової залози голуба сизого:

1 – капсула; 2 – вузол вегетативної нервової системи; 3 – супрареналова тканина; 4 – інтерреналова тканина; 5 – венозний синус. Гематоксилін Караці та еозин. $\times 400$ (А), $\times 100$ (Б)

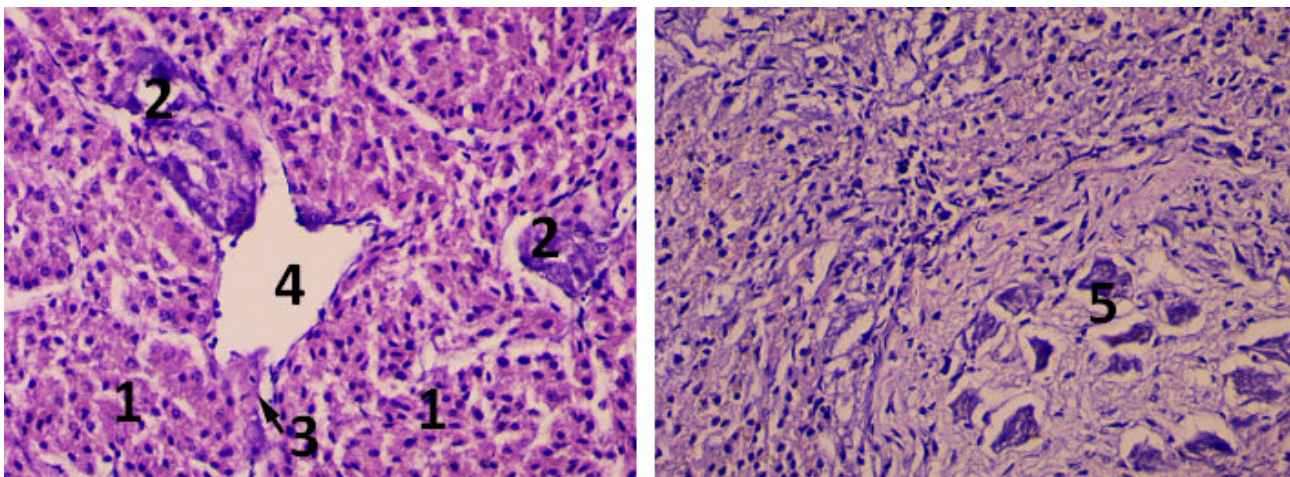


Рис. 3. Фрагмент мікроскопічної будови надниркової залози голуба сизого:

1 – клітини інтерреналової тканини; 2 – клітини супрареналової тканини; 3 – синусоїдний гемокапіляр; 4 – просвіт венозного синуса; 5 – скупчення мультиполярних нейронів у паренхімі. Гематоксилін Караці та еозин. $\times 400$

Стінка венозних синусів надниркової залози голуба сизого утворена плоскими ендотеліоцитами, місцями в неї інвагінують синусоїдні гемокапіляри. Відносна площа просвіту венозних синусів у периферич-

ній і центральних зонах надниркової залози голуба сизого достовірно не відрізняється ($P > 0,05$) і дорівнює $2,67 \pm 0,33$ і $2,83 \pm 0,48$ % відповідно. У паренхімі надниркової залози голуба сизого помітні скупчення

мультиполярних нейронів або вузли вегетативної нервової системи (рис. 3).

Висновки

Надниркова залоза голуба сизого є парним органом, що розміщується вентрально краніальної частки нирок, має блідо-жовтий колір, видовжено-пірамідальну або видовжено-округлу форму, масу – $0,019 \pm 0,001$ г, довжину – $3,53 \pm 0,04$ мм, ширину – $2,59 \pm 0,16$ мм, товщину – $1,33 \pm 0,03$ мм. Паренхіма надниркової залози голуба сизого характеризується рівномірним розподілом венозних синусів, інтерреналової і супрареналової тканин у периферичній та центральній зонах. Скупчення мультиполярних нейронів або вузлів вегетативної нервової системи реєструється у капсулі, паренхімі або зовні капсули надниркової залози голуба сизого. Показники відносної площі інтерреналової, супрареналової тканин, просвіту венозних синусів периферичної зони ($71,50 \pm 3,46$, $25,83 \pm 3,51$, $2,67 \pm 0,33$ %), порівняно з такими показниками центральної зони ($71,00 \pm 3,50$, $26,17 \pm 3,56$, $2,83 \pm 0,48$ %) надниркової залози голуба сизого, достовірно не відрізняються. Особливості макро- і мікроскопічної будови, морфометричні показники надниркової залози голуба сизого можна використовувати для створення бази її нормальної морфологічної характеристики. Це дасть можливість робити оцінку морфо-функціонального стану надниркової залози птахів голуба сизого в умовах впливу різних факторів та за патології.

Перспективи подальших досліджень. Перспективи подальших досліджень полягають у дослідженні особливостей вмісту і локалізації нуклеїнових кислот, білків, вуглеводів та ліпідів у структурних елементах надниркової залози голуба сизого.

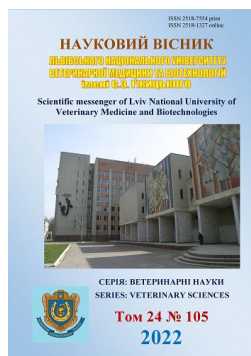
Відомості про конфлікт інтересів

Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Al-Jebori, G. A. J., Al-Jebori, K. H. A., Hossain, O. A., & Al-Tamimi, S. M. Z. (2016). Histomorphological study of adrenal gland in local adult female duck (*Anas platyrhynchos*). *Basrah Journal of Veterinary Research*, 15(2), 164–175. URL: <https://www.iasj.net/iasj/download/cbec4e867910ea23>.
- Aslam, M. W., Wajid, M., Waheed, A., Ahmad, S., Jafar, K., Akmal, H., Khan, T., Maqsood, M. S., & Khan, M. S. (2021). Revision of some measurements of the menstrual cycle, food preferences and hematological parameters in breeding pairs of blue rock pigeon *Columba livia*, selected from Punjab, Pakistan. *Brazilian Journal of Biology*, 11(83), 1–6. DOI: 10.1590/1519-6984.252059.
- Bachmann, T., Klän, S., Baumgartner, W., Klaas, M., Schröder, W., & Wagner, H. (2007). Morphometric characterisation of wing feathers of the barn owl *Tyto alba pratincola* and the pigeon *Columba livia*. *Frontiers in Zoology*, 4, 23–35. DOI: 10.1186/1742-9994-4-23.
- Batool, F., Khan, H., & Saifur Rehman, M. (2020). Feeding ecology of blue rock pigeon (*Columba livia*) in the three districts of Punjab, Pakistan. *Brazilian Journal of Biology*, 80(4), 881–890. DOI: 10.1590/1519-6984.225451.
- Colcimen, N., & Cakmak, G. (2020). A stereological study of the renal and adrenal glandular structure of red-legged partridge (*Alectoris chukar*). *Folia morphologica*, 80(1), 210–214. DOI: 10.5603/FM.a2020.0010.
- Di Lorenzo, M., Barra, T., Rosati, L., Valiante, S., Capaldo, A., De Falco, M., & Laforgia, V. (2020). Adrenal gland response to endocrine disrupting chemicals in fishes, amphibians and reptiles: A comparative overview. *General and Comparative Endocrinology*, 297, 113–550. DOI: 10.1016/j.ygcen.2020.113550.
- Domyan, E. T., & Shapiro, M. D. (2017). Pigeonetics takes flight: evolution, development, and genetics of intraspecific variation. *Developmental Biology*, 427(2), 241–250. DOI: 10.1016/j.ydbio.2016.11.008.
- Donegan, T. (2016). The pigeon names *Columba livia*, *C. domestica* and *C. oenas* and their type specimens. *Bulletin of the British Ornithologists*, 136(1), 14–27.
- El-Desoky, S. M., & El-Zahraa, F. M. (2021). Morphological and histological studies of the adrenal gland in the Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Microscopy Research and Technique*, 84(10), 2361–2371. DOI: 10.1002/jemt.23791.
- Elzoghby, I. M. (2010). Light and electron microscope studies of the adrenal glands of the Egyptian Geese (*Alopochen aegyptiaca*). *Lucrări științifice-Medicină Veterinară, Universitatea de științe Agricole și Medicină Veterinară*, 12(1), 195–203. URL: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103293050>.
- Erdem, E., Ozbasher, F., Gurkan, E., & Sosal, M. (2021). The morphological and morphometric characteristics of Alabadem pigeons. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 45, 372–379. URL: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/issues/vet-21-45-2/vet-45-2-21-2005-58.pdf>.
- Fathima, R., & Lucy, K. (2014). Morphological studies on the adrenal gland of kuttanad ducks (*Anas platyrhynchos domesticus*) during post hatch period. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 7(6), 58–62. DOI: 10.9790/2380-07635862.
- Grishchenko, V. T. (2004). Checklist of the birds of Ukraine. *Berkut*, 13(2), 141–154.
- Hays, V. J. (2018). The development of the adrenal glands of birds (Classic Reprint). Forgotten Books.
- Jabbar, I. A., Kareem, H., & Abdulghafoor, R. (2021). Histomorphological comparative study of the adrenal glands in local Guinea Fowl (*Numida Meleagris*) and Muscovy duck (*Cairina Moschata Domestica*). *Annals of Romanian Society for Cell Biology*, 25(3), 4360–4369.
- Kabir, A., & Hawkeswood, T. (2021). Management and commercial breeding of pigeons in Bangladesh: a review international. *Journal of Biology and Other Sciences*, 865, 1–8.
- Kober, H., Masato, A., & Shoei, S. (2012). Morphological and histological studies on the adrenal gland of the Chicken (*Gallus domesticus*). *Journal of Poultry Science*, 49(1), 39–45. DOI: 10.2141/jpsa.011038.

- Kot, T. F., & Prokopenko, V. S. (2020). Osoblivosti morfologii nadnirkovoї zalozi kurej. Naukovi gorizonti, 5(90), 82–88. DOI: 10.33249/2663-2144-2020-90-5-82-88 (in Ukrainian).
- Kot, T. F., Rudyk, S. K., Hural'ska, S. V., Zaika, S. S., & Khomenko, Z. V. (2021). Doslidzhennia morfolohii nadnyrkovoї zalozy iz davnyny do sohodennia. Naukovi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S. Z. Gzhytskoho, 101(23), 75–81. DOI: 10.32718/nvlvet10113 (in Ukrainian).
- Moawad, U., & Hassan, M. R. (2017). Histocytological and histochemical features of the adrenal gland of Adult Egyptian native breeds of chicken (*Gallus Gallus domesticus*). Journal of Basic and Applied Sciences, 6(2), 199–208. DOI: 10.1016/j.bjbas.2017.04.001.
- Moghadam, D., & Mohammadpour, A. (2017). Histomorphological and stereological study on the adrenal glands of adult female guinea fowl (*Numida meleagris*). Comparative Clinical Pathology, 26(3), 1227–1231. DOI: 10.1007/s00580-017-2514-3.
- Moghanlo, M. D., & Mohammadpour, A. A. (2019). Anatomy and histomorphology of thyroid, parathyroid and ultimobranchial glands in Guinea fowl (*Numida meleagris*). Comparative Clinical Pathology, 28(1), 225–231. DOI: 10.1007/s00580-018-2819-x.
- Mulisch, M., & Welsch, U. (2015). Romeis – mikroskopische technik. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 382–420.
- Qureshi, S., Khan, M., Shafi, S., Mir, M., Adil, S., & Khan, A. (2020). A study on histomorphology of adrenal gland in broiler chickens subjected to cold stress and its ameliorating remedies. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 9(4), 1160–1168. DOI: 10.20546/ijcmas.2020.904.137.
- Reavill, D., & Schmidt, R. (2019). Post-mortem examination. Manual of ackyard poultry medicine and surgery. BSA-VA. Manual of Bachyard Poultry Medicine and Surgery, 25, 291–308. DOI: 10.22233/9781910443194.25.
- Rudik, O., Kot, T., Gural'ska, S., Dovhiy, Y., & Zhytova, O. (2021). Micropathology of the internal organs of Japanese Quails naturally infected with *Eimeria tenella*. Journal of World's Poultry Research, 11(3), 322–331. DOI: 10.36380/jwpr.2021.38.
- Sadon, A. H. (2018). Morphological and histochemical study of adrenal gland in local domestic pigeons (*Columba livia domestica*) in Basrah province. Basrah of Journal Veterinary Research, 17(1), 74–85. DOI: 10.18535/jmscr/v5i9.58.
- Sarkar, S., Islam, M. N., Adhikary, N. G., Paul, B., & Bhowmik, N. (2014). Morphological and histological studies on the adrenal gland in male and female chicken (*Gallus domesticus*). International Journal of Biological and Pharmaceutical Research, 5(9), 715–718.
- Scanes, C. G. (2020). Avian physiology: are birds simply feathered mammals? Physiology, 11(9), 1–6. DOI: 10.3389/fphys.2020.542466.
- Senar, J. C., Montalvo, T., Pascual, J., & Peracho, V. (2017). Reducing the availability of food to control feral pigeons: changes in population size and composition. Pest Management Science, 73(2), 313–317. DOI: 10.1002/ps.4272.
- Tang, L., Peng, K.-M., Wang, J.-X., Luo, H.-Q., Cheng, J.-Y., Zhang, G.-Y., Sun, Y.-F., Liu, H.-Z., & Song, H. (2009). The morphological study on the adrenal gland of African ostrich chicks. Tissue and Cell, 41(4), 231–238. DOI: 10.1016/j.tice.2008.11.003.
- Zakrevska, M. V., & Tybinka, A. M. (2019). Histological characteristics of accessory adrenal glands of rabbits with different types of autonomous tonus. Veterinary Medicine and Biotechnologies, 21(93), 1–6. DOI: 10.32718/nvlvet9322.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10511

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:615.11:616-001.4

The antiseptic activity of the drug, based on sodium hypochlorite in experimental and spontaneously infected wounds in animals

M. P. Soltys¹✉, H. V. Rudyk², O. M. Brezvyň², V. M. Hunchak¹, B. V. Gutyj¹, A. V. Hunchak³, R. O. Vasiv¹

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

²State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine

³Institute of Animal Biology of NAAS, Lviv, Ukraine

Article info

Received 21.01.2022

Received in revised form

22.02.2022

Accepted 23.02.2022

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-323-51-40
E-mail: soltysmaria88@gmail.com

State Scientific-Research Control
Institute of Veterinary Medicinal
Products and Feed Additives,
Donetska Str., 11, Lviv,
79019, Ukraine.

Institute of Animal Biology of
NAAS, V. Stus Str., 38, Lviv,
79034, Ukraine

Soltys, M. P., Rudyk, H. V., Brezvyň, O. M., Hunchak, V. M., Gutyj, B. V., Hunchak, A. V., & Vasiv, R. O. (2022). The antiseptic activity of the drug, based on sodium hypochlorite in experimental and spontaneously infected wounds in animals. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 73–82. doi: 10.32718/nvlvet10511

Sodium hypochlorite is the active ingredient in the antiseptic “Vitosept”. The pharmacological activity of the newly created drug is due to Oxygen, which is released in the active state by the decomposition of unstable hydrochloric acid into hydrochloric acid. A study of the antiseptic effect of the drug Vitosept, conducted on a model of stencil wounds in laboratory rats, found that the speed of healing and reducing the area of skin damage in animals was not inferior to the effectiveness of the comparison drug “Dioxisol-Darnytsia”. According to the obtained results, the latter's use is more appropriate in the first phase of the wound process. In contrast, the use of “Vitosept” in the second and third phases provided acceleration of the formation of mature granulation tissue. In the experimental wounds, proliferative processes were accelerated, and connective tissue was formed with the appearance of a soft scar. The efficacy of Vitosept in the treatment of spontaneously infected wounds has been studied in dogs. For three days from the beginning of treatment in dogs, the general condition improved, body temperature decreased to 38.6 ± 0.3 °C, heart rate was 74 ± 0.6 beats/min, respiratory movements 16 ± 0.4 . Positive changes were also observed in the study of wounds. Significant changes in the condition of the injuries were found on the 5th day from the start of treatment. During this period, the general condition of the animals returned to normal, body temperature, heart rate, and respiration was within physiological values. In the dogs of the experimental group, Vitosept showed a slowing of the inflammatory reaction, which was manifested by a decrease in swelling and a reduction in local temperature. The pain was still partially preserved. The amount of purulent exudate decreased significantly. The surfaces of the torn and torn wounds were covered with a small amount of exudate of liquid consistency with detritus impurities, the pH of the wound medium was 6.8 ± 0.1 . The surface of the cut wounds was unevenly covered with bright red granulation tissue. At the final stage of healing, both concentric scarring and planar epithelialization were observed. In most cases, in animals of the experimental group, there was concentric scarring, which ended in the formation of a relatively small scar. And only large wounds are healed by planar epithelialization, i.e., the appearance of a wide epithelial rim. In the case of infected wounds in dogs, the drug “Vitosept” compared to animals in the control group normalized morphological and biochemical parameters of blood – erythrocyte count, hemoglobin, blood protein, and its fractions aminotransferase activity in serum. There was a normalization of the values of the leukogram, which indicated the rehabilitation processes in the whole body. As a result of studying the therapeutic efficacy of Vitosept, it was found that its topical application, on average, by 3–4 days accelerated the healing process with the formation of mature granulation tissues and epithelialization in dogs with infected wounds and provided asepsis and normalization of the studied indicators in the recovery process.

Key words: rats, dogs, Vitosept, Dioksizol-Darnytsia, blood, therapy.

Антисептична активність препарату на основі натрію гіпохлориту за експериментальних та спонтанно інфікованих ран у тварин

М. П. Солтис^{1✉}, Г. В. Рудик², О. М. Брезвин², В. М. Гунчак¹, Б. В. Гутий¹, А. В. Гунчак³, Р. О. Васів¹

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, Україна

³Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

Натрію гіпохлорит є діючою речовиною антисептичного засобу "Vitosепт". Фармакологічна активність новоствореного препарату обумовлена Оксигеном, який виділяється в активному стані за розпаду нестійкої хлорноватої кислоти на хлористоводневу. За дослідження антисептичної дії препарату Vitosепт, проведеного на моделі трафаретних ран у лабораторних щурів, з'ясовано, що він за швидкістю загоєння та зменшенням площі ушкодження шкіри у тварин не поступався ефективності препарату порівняння "Диоксизоль-Дарниця". Відповідно до отриманих результатів застосування останнього є доцільнішим у першій фазі перебігу ранового процесу, тоді як використання Vitosепту у другій та третій фазах забезпечувало пришвидшення утворення зрілої грануляційної тканини. В експериментальних ранах прискорювались проліферативні процеси та формувалась сполучна тканина з утворенням м'якого рубця. З'ясування ефективності Vitosепту за лікування спонтанно інфікованих ран проведено на собаках. Встановлено, що уже на 3 добу від початку лікування у собак загальний стан покращувався, температура тіла знижилась до $38,6 \pm 0,3$ °C, пульс становив $74 \pm 0,6$ уд./хв, дихальні рухи $16 \pm 0,4$. Позитивні зміни відзначались і при дослідженні ран. Суттєві зміни стану ран встановлені на 5 добу від початку лікування. На цей період загальний стан тварин нормалізувався, температура тіла, частота пульсу та дихання були в межах фізіологічних величин. У собак дослідної групи за дії Vitosепту встановлено сповільнення запальної реакції, що проявлялось зменшенням припухлості та зниженням місцевої температури. Болючість ще була частково збережена. Значно зменшилась кількість гнійного ексудату. Поверхні рвано-кусаних та рвано-забитих ран були покриті невеликою кількістю ексудату рідкої консистенції з домішками детриту, pH середовища ран $6,8 \pm 0,1$. Поверхня різаних ран була нерівномірно вкрита яскраво-червоною грануляційною тканиною. На завершальному етапі загоєння, спостерігалось як концентричне рубцювання, так і площинна епітелізація. У тварин дослідної групи у більшості випадків вираженим було концентричне рубцювання, що закінчувалось утворенням порівняно невеликого рубця. І тільки великі за площею рани загоювались шляхом площинної епітелізації, тобто утворенням широкого епітеліального обідка. За умови інфікованих ран у собак, при застосуванні препарату "Vitosепт", порівняно з тваринами контрольної групи, швидше нормалізувались морфологічні та біохімічні показники крові – кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну крові, рівень загального білка і його фракцій та активність амінотрансфераз у сироватці крові. Наступала нормалізація величин показників лейкограми, що вказувало на реабілітаційні процеси в цілому організмі. В результаті вивчення терапевтичної ефективності препарату Vitosепт встановлено, що його місцеве застосування, в середньому на 3–4 доби пришвидшувало процес загоєння з утворенням зрілих грануляційних тканин та епітелізацією у собак із інфікованими ранами та забезпечувало асептичність його протікання та нормалізацію досліджуваних показників у процесі одужання.

Ключові слова: щури, собаки, Vitosепт, Диоксизоль-Дарниця, кров, терапія.

Вступ

Лікування хворих тварин з рановою патологією, особливо, за ускладнених форм, поєднує комплекс заходів, мета яких полягає в забезпеченні безпосереднього впливу на збудника хвороби та макроорганізм (Singh et al., 2013; Shao et al., 2017).

Упродовж останніх десятиліть розроблено методи, при яких лікування гнійних ран включає не тільки розкриття, санацію та дренування гнійного осередку, а й забезпечує активний осмос, покращення мікроциркуляції та зменшення больового синдрому (Bystrov et al., 2017).

В основі патогенезу гнійно-запального процесу лежать імуносупресивні механізми, дія яких призводить до імунодефіцитного стану, що ускладнює перебіг захворювання (Oborin et al., 2020). Таким є зниження активності бактерицидних систем нейтрофілів, втрата білка, зростаюча інтоксикація організму продуктами, що надходять у кров із вогнища запалення та блокада ними рецепторного апарату. У цьому контексті слід згадати протеолітичні ензими (трипсин, хімотрипсин, хімопсін, терилитин), що застосовуються за лікування ран. Вони не є антисептиками, але, лізуючи нежиттєздатні тканини, сприяють швидкому

очищенню ран і позбавляють мікробні клітини поживних речовин. Змінюючи середовище "проживання" мікробів і діючи на їх оболонку, протеолітичні ензими роблять клітину більш чутливою до дії антибіотиків та інших хіміотерапевтичних речовин (Nicholson et al., 2002; Schlichting & McCollam, 2007).

Наявність в ранах надзвичайно різноманітної мікрофлори, різні їх асоціації роблять дуже проблематичним, а інколи і неможливим адресний підбір відповідних антибіотичних препаратів, що знижує ефективність антисептичної терапії (Cooper, 1991). Рана створює широкі ворота для проникнення у тваринний організм чужорідних антигенів, багато з яких є потенційно загрозливими для життя і супроводжуються вираженим запаленням. У лікуванні ран актуальним є протидія рановій інфекції, зменшення інтенсивності запалення і стимулювання ранового загоєння (Beal et al., 2000; Amimoto, 2006).

Проблема лікування ран, в тому числі інфікованих, впродовж багатьох років залишається в числі особливо актуальних. За виникнення у тварин відкритих ушкоджень шкіри і шкірного покриву загоєння ран, зазвичай, відбувається із розвитком гнійно-некротичних процесів, оскільки захистити рану від контамінації мікрофлорою практично не можливо.

Серед основних принципів лікування таких ран, як правило, є локалізація гнійного вогнища, запобігання його генералізації, проведення асептики рани, звільнення її від шкірно-некротичних мас, відновлення структури і функції уражених тканин (Brown et al., 1997; Dreifke et al., 2015).

Роль антисептичної терапії за ранової інфекції переоцінити дуже важко. Однак, необхідно враховувати, що більшість протимікробних засобів за контакту з ранною спричиняють загибель наявної в ній мікрофлори, але одночасно вони пригнічують ріст грануляційної тканини і таким чином сповільнюють процес загоєння ран (Abayev, 2006).

У практиці ветеринарної медицини в якості антисептика часто використовують Йод, який і нині не втратив свого значення (Gutyj et al., 2018). Однак, зазвичай його застосовують у комплексі з поверхнево-активними речовинами, так званими йодофорами, до яких відносяться йодинол, йодонатон, йодолан, йодопірон тощо. Наші попередні дослідження показали позитивні результати бактерицидної і антисептичної дії препарату “Вітосепт” на основі розчину натрію гіпохлориту, який володіє універсальним спектром антимікробної дії і є нешкідливим для організму тварин. У результаті електролізу утворюються сполуки, які розкладаються без утворення токсичних речовин, їх можна успішно використовувати для знешкодження зовнішніх покривів.

Враховуючи викладене вище метою подальших досліджень було з'ясування ефективності препарату “Вітосепт” у практиці ветеринарної медицини за умов лікування ран різної етіології.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено в два етапи. На першому з них на моделі трафаретних ран у щурів вивчали антисептичну дію препарату “Вітосепт”, у порівнянні з препаратом аналогом “Диоксизоль-Дарниця”, а на другому – з'ясовували протимікробну дію Вітосепту за спонтанно інфікованих уражень шкіри та ран у собак.

Експериментальні дослідження проводили із дотриманням вимог Закону України № 3447 – IV від 21.02.06 р. “Про захист тварин від жорстокого поводження” та відповідно до основних принципів “Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1986), декларації “Про гуманне ставлення до тварин” (Гельсінкі, 2000) і Національного конгресу з біоетики “Загальні етичні принципи експериментів на тваринах” (Київ, 2001).

Дослід з використанням лабораторних тварин проведено на 18-ти білих щурах (самках) масою 180,0 – 200,0 г, розділених на контрольну і 2 дослідні групи по шість тварин у кожній.

Моделювану патологію відтворювали згідно з методичними рекомендаціями Державного фармакологічного центру Міністерства охорони здоров'я України з доклінічного вивчення лікарських засобів. Модель рани створювали наступним чином: під кетамі-

новим знечуленням (40 мг/кг м.т.) на спині у тварин, після зняття шерстного покриву, при дотриманні правил асептики і антисептики, вирізали ділянку шкіри з підшкірною основою і поверхневою фасцією. Поверхня рани в усіх дослідних тварин була однаковою і складала за шаблоном 20 × 20 мм. Після відтворення ранового процесу ушкоджені ділянки шкіри залишали відкритими. Контрольна група тварин залишалася нелікованою впродовж усього досліджу; I-шу дослідну групу тварин обробляли препаратом Вітосепт; II-гу – розчином Диоксизоль-Дарниця з подібного фармакологічного дією. Параметрами ранозагоювальної дії слугували показники зменшення площі ран (мм²) та швидкість загоєння ранових дефектів (доба). Моделювані рани у тварин I та II груп обробляли щоденно до повного загоєння ран у щурів. У процесі дослідження визначали такі характеристики, як ступінь зрілості грануляцій та швидкість епітелізації поверхні рани. Для визначення контракції країв рани на плівку наносили контури краю наростаючого епітелію і визначали площу, обмежену відповідним контуром за допомогою міліметрового паперу. На підставі зменшення площі через певні проміжки часу вираховували швидкість епітелізації та швидкість контракції країв рани. Вимірювання проводили на 3-тю, 5-ту, 7-му, 9-ту, 11-ту, 13-ту та 15-ту доби. У ці терміни вимірювали площу ран та вираховували швидкість загоєння за формулою:

$$V = 100 \times (S_0 - S_t) / S_0,$$

де S_0 – початкова площа рани, мм²;

S_t – площа рани в день вимірювання, мм².

Дослідження антисептичної дії Вітосепту проведено також на 20 собаках, які надходили у клініки ветеринарної медицини м. Львова з інфікованими ранами. За цей період у собак були поставлені наступні діагнози: різані рани – 6, рвані рани – 6, комбіновані рани – 8.

У хворих собак досліджували кількісний і якісний склад мікрофлори ранового вмісту, визначали її чутливість до офлоксацину, порівняно з хлортетрацикліном, стрептоміцином і гентаміцином.

Першу групу собак (10 тварин) лікували 0,1 % розчину фурациліну (контрольні), а другу – (10 тварин) – препаратом Вітосепт (дослідні тварини). Загальні принципи обробки ран у собак обох груп були аналогічними, згідно з вимогами хірургічної практики. У випадках розвитку септичного процесу тваринам контрольної групи внутрішньом'язово вводили хлортетрацикліну гідрохлорид – (10 мг/кг м.т.), а тваринам дослідної групи – офлоксацин у дозі 10 мг/кг з димексидом (2 мг/кг маси тіла).

Характер і ступінь складності патології, етіологія ран та тривалість травматичних пошкоджень (не більше 2–3 діб від моменту одержання травми) у тварин обох груп були подібними. Всі тварини мали власників і утримувалися в домашніх умовах.

Перед лікуванням проведено ретельне дослідження загального стану собак та місцевого патологічного процесу. Залежно від ступеня важкості поранення проводили місцеве знеболювання тканин навколо рани 2 % розчином лідокаїну або ж застосовували

загальне знеболювання, використовуючи кетамін – ксилазиновий наркоз із попередньою премедикацією 0,1 % розчином атропіну сульфату.

Первинну обробку ушкоджених тканин та шкіри у тварин дослідної і контрольної груп проводили за однією методикою. Закривши поверхню рани стерильним тампоном, змоченим перекисом водню, навколо вистригали або виголювали шерсть, а шкіру асептизували 5 % спиртовим розчином йоду. Після знеболювання тканин рани видаляли мертвілі та нежиттєздатні тканини, згустки крові та сторонні тіла. Для забезпечення відтоку гнійного ексудату розсікали кишені, після чого рану промивали 3 % розчином гідрогену пероксиду і висушували стерильним тампоном.

Подальше лікування проводили з урахуванням патогенезу ранового процесу і його стадій. У собак дослідної і контрольної груп лікування дещо відрізнялось. Так, у 10-ти собак дослідної групи рани промивали розчином препарату Вітосепт та накладали бинтову пов'язку товщиною 8–10 шарів змочену препаратом. При глибоких ранах порожнину заповнювали дренажем, просоченим досліджуваним розчином. Пов'язку залишали на добу. У випадках, коли вона ставала надто просоченою ексудатом, її змінювали двічі на добу, щоб рана повністю звільнилася від некротизованих тканин. У перші 2–3 доби (перша фаза загоєння) досліджуваний антисептичний засіб застосовували 1 раз на добу після попереднього зрошення рани, а в подальшому (друга фаза загоєння) розчин наносили через добу з метою профілактики вторинного інфікування рани.

Для лікування спонтанних ран у собак контрольної групи застосовували методику загальноприйнятого і найбільш використовованого способу. Після хірургічної обробки у першу фазу ранового процесу поверхню рани зрошували 0,1 % розчином хлортетрацикліну та припудрювали порошком хлортетрацикліну, накладали бинтову пов'язку, просочену 0,1 % розчину

фурациліну. У процесі лікування досліджували загальний стан тварини та рани, морфологічні та біохімічні показники крові. Визначали швидкість загоєння ран та загальне видужання хворих тварин. Для поглибленого вивчення ефективності лікування, при надходженні собак у клініку та протягом всього періоду лікування, проводили морфологічні і біохімічні дослідження крові загальноновизнаними методами (Vlislo, 2012).

Показники швидкості загоювання ран є відносними і дають можливість характеризувати динаміку перебігу ранового процесу, незалежно від різниці величини площі рани. Для встановлення достовірних відмінностей при аналізі числових показників були застосовані методи варіаційної статистики з використанням прикладного пакету Statsoft Statistica 6,0 for Windows.

Оскільки, загоєння рани залежить від швидкості виповнення дефекту рани грануляційною тканиною, швидкості контракції країв і епітелізації поверхні для постійного контролю за процесом її загоєння проводили планіметричні дослідження методом Е. В. Кулешової та К. В. Поворинської.

Результати досліджень

У всіх дослідних тварин після нанесення травми утворилися рани з вираженими запальними змінами навколишніх тканин (табл. 1). Вони супроводжувалися гнійно-некротичними ураженнями шкіри і м'яких тканин. Загоєння проходило за типом репаративного запалення у три фази: деструктивна, відновлююча і рубцювання та епідермізація. Хоча між окремими фазами немає різкої межі, проте перехід від одної фази до іншої відбувався поступово і кожна з них мала свої морфологічні та біохімічні особливості, що вимагало відповідного лікування ранового процесу.

Таблиця 1

Динаміка зміни площі рани у процесі загоєння на моделі трафаретних ран у щурів, ($M \pm m$; $n = 6$)

Доба	Контроль, S, мм ²	I – “Вітосепт” 300 мг/л; S, мм ²	II – “Диоксизоль-Дарниця”, S, мм ²
3	233,6 ± 16,2	239,6 ± 9,22*	237,5 ± 9,34*
5	167,1 ± 44,5	163,8 ± 19,2	164,6 ± 23,4*
7	127,4 ± 44,5	123,17 ± 9,41*	125,8 ± 4,21*
9	70,3 ± 3,57	25,33 ± 5,4*	26,0 ± 5,16*
11	18,6 ± 8,0	3,0 ± 1,28*	2,52 ± 1,51*
13	4,83 ± 2,9	–	–
15	1,45 ± 0,9	–	–

Примітка: * – $P < 0,05$ відхилення достовірне по відношенню до контрольної патології

На 3 добу після травми у всіх тварин контрольної групи в рановому дефекті домінували зміни некротично-запального характеру. Майже $\frac{2}{3}$ об'єму дефекту займав фібринозно-лейкоцитарний шар, під яким розташовувався шар дуже незрілої грануляційної тканини.

На 5 добу досліду лише у 50 % щурів контрольної групи, грануляційна тканина, яка виповнювала дефект, мала зріліший характер, ніж у попередній термін. У цей же час у тварин I групи (під впливом розчину Вітосепт) (рис. 1) та II групи (під впливом роз-

чину Диоксизоль-Дарниця) встановлено пришвидшення процесу загоєння та вірогідне зменшення площі трафаретних ран (табл. 1).

Динаміка швидкості загоєння рани на моделі трафаретних ран у щурів представлена в таблиці 2.

На 9 добу лікування час загоєння ран у тварин, яких лікували Вітосептом та Диоксизолем-Дарниця перевищував, відповідно, час загоєння у тварин контрольної групи у 1,08 та 1,03 рази. У більшості щурів контрольної групи новоутворена тканина, що запов-

нювала рановий дефект, ще не мала виразних ознак новоутворення.

Слід зауважити, що у тварин, лікованих розчином препарату “Вітосепт” (І група) процес загоєння рани у період із 7 по 9 доби дещо відрізнявся від тварин ІІ

дослідної групи. Зокрема, спостерігали очищення рани від гнійно-некротичних мас та утворення молоді грануляційної тканини (рис. 2). Водночас у тварин ІІ дослідної групи спостерігалася сухість рани з наступним її розтріскуванням.

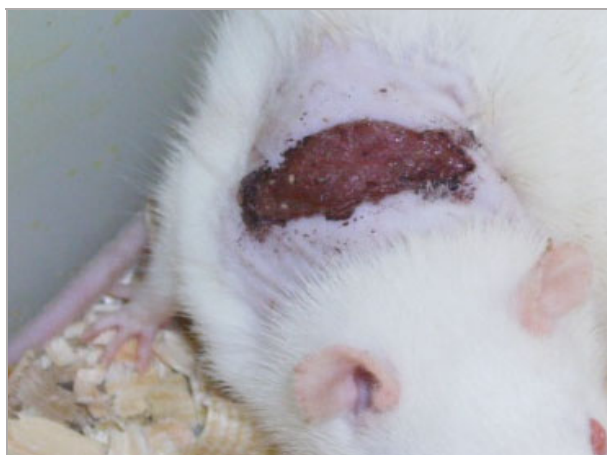


Рис. 1. Загоєння трафаретної ран у шурів на 5 добу досліду під впливом препарату Вітосепт

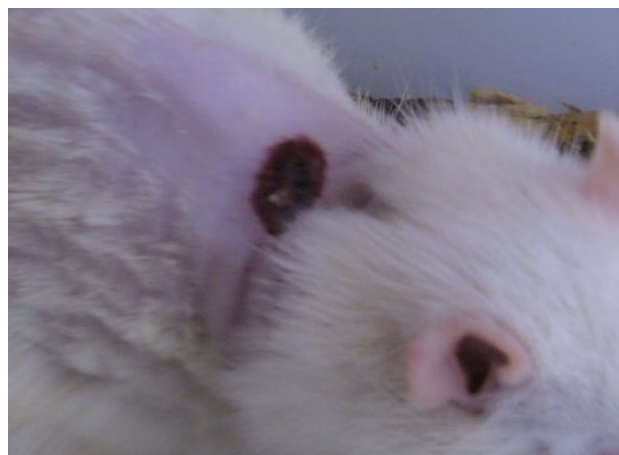


Рис. 2. Загоєння ран у шурів на 9 добу досліду під впливом препарату Вітосепт

Таблиця 2

Динаміка загоєння ран на моделі трафаретних ран у шурів ($M \pm m$; $n = 6$)

Доби	Контроль, $V, \text{мм}^2/\text{добу}$	І – “Вітосепт” 300 мг/л, $V, \text{мм}^2/\text{добу}$	ІІ – “Диоксизоль-Дарниця”, $V, \text{мм}^2/\text{добу}$
3	$41,7 \pm 3,57$	$47,7 \pm 2,31$	$48,3 \pm 3,47$
5	$58,3 \pm 6,87$	$60,1 \pm 1,27$	$59,2 \pm 3,41$
7	$68,2 \pm 8,75$	$64,21 \pm 1,51$	$62,5 \pm 3,59$
9	$81,5 \pm 8,67$	$133,6 \pm 1,17$	$129,5 \pm 2,63$
11	$130,4 \pm 9,97$	$454,1 \pm 1,15$	$466,3 \pm 3,87$
13	$151,3 \pm 9,87$	–	–
15	$175,3 \pm 7,69$	–	–

Примітка: V – швидкість загоєння рани

На 11 добу експерименту у 67 % тварин контрольної групи у зоні дефекту був сформований м'який рубець, який займав $\frac{3}{4}$ об'єму дефекту, решту – досить незріла грануляційна тканина з гнійним нальотом на поверхні. У цей же період, час загоєння ран у тварин І групи, яких лікували розчинами препарату Вітосепт та ІІ – Диоксизоль-Дарниця, перевищував, відповідно, показник у 1,63 та 1,58 рази тварин контрольної групи.

Упродовж наступного терміну спостереження (13 і 15 доби експерименту) час загоєння та темпи зростання зрілої грануляційної тканини у раневому дефекті шурів І та ІІ дослідних груп набагато випереджало, відповідно, у 3,48 та 3,57 рази контрольну групу. І, як наслідок цього, повне загоєння ранового дефекту в цих групах відбувалося на 13-ту добу, відповідно, у 85 % тварин контрольної групи та у 100 % тварин І та ІІ дослідних груп.

За швидкості загоєння та зменшенням площі ран у дослідних шурів препарат Вітосепт не поступався препарату вибору Диоксизоль-Дарниця. Згідно результатів досліджень застосування препарату Диоксизоль-Дарниця є доцільним у першій фазі перебігу ранового процесу, тоді як використання препарату

Вітосепт у другій та третій фазах забезпечувало пришвидшення утворення зрілих грануляційних тканин. Отже, на основі проведених досліджень можна зробити висновок про те, що на 11 добу досліджуваній препарат проявляв виражену ранозагоєвальну дію, оскільки, прискорював проліферативні процеси в рані, формував сполучну тканину з утворенням м'якого рубця і, при цьому, за лікувальним ефектом не поступався дії препарату порівняння.

За проведення мікробіологічних досліджень виділень із ран у всіх 20 собак встановлено їх високу бактерійну забрудненість. Виявляли, в основному, кокову мікрофлору, причому як у монокультури, так і в асоціаціях. Стафілококів було виявлено 426 штамів, що становило 58 %. У монокультури вони були представлені показниками: *Staphylococcus aureus* – 32 %; *Streptococcus pyogenes* – 23 %; *Streptococcus* spp. становили 68 штамів, що складає 18 %; *Proteus* spp. – 46 штамів (12 %); *Pseudomonas aureginosa* – 30 штамів (10 %); *Escherichia coli* – 10 штамів (3 %); на іншу мікрофлору припадало 2 %. Результати проведених досліджень представлені у таблиці 3.

Після посівів виділених мікроорганізмів на кров'яний агар чітко проявлялась зона гемолізу ерит-

роцитів, що вказувала на патогенність ранової мікрофлори. Слід відзначити, що найбільш виражені зони гемолізу були у посівах умісту із рвано-забитих та рвано-кусаних ран, які характеризувалися наявністю нежиттєздатних та мертвих тканин.

У порожнині будь-якої рани є значна кількість організмів та ушкоджених тканин, які піддаються фагоцитозу й розсмоктуванню. Внаслідок порушення метаболізму в оточуючих рану тканинах утворюється велика кількість продуктів життєдіяльності, які надходять у кров і спричиняють загальні реакції в організмі.

За результатами гематологічних досліджень встановлено, що у собак дослідної і контрольної груп морфологічні та біохімічні показники крові характеризувалися, порівняно з аналогічними клінічно здорових тварин, зменшенням кількості еритроцитів і зниженням рівня гемоглобіну крові, високою активністю амінотрансфераз та підвищеною кількістю лейкоцитів. У межах нормативних величин був рівень загального білка в сироватці крові та його фракцій – альбумінів і глобулінів (табл. 4).

Результати дослідження лейкограми собак представлено у таблиці 5. На тлі збільшення загального числа лейкоцитів відзначався зсув ядра нейтрофілів вліво. На це вказувало збільшення кількості паличкоядерних та юних нейтрофілів. Встановлені відхилення вказували на наявність у хворих собак гострого запалення, яке, за показниками цитологічних досліджень, належить до дегенеративно-запального процесу.

Результати дослідження складу ранової мікрофлори у собак за умов лікування препаратом Вітосепт та фурацином, представлені в таблиці 6.

Щодо досліджень тварин контрольної групи слід відзначити, що кількість виявленої мікрофлори була в них у кілька разів більшою, ніж у дослідній групі. Результати мікробіологічних досліджень на 7 добу лікування вказували на значне зменшення кількості ранової мікрофлори. Так, у посівах із ран від дослідних тварин виявлялися до восьми одиноких колоній, які не спричиняли гемолізу еритроцитів на середовищі кров'яного агару. У чотирьох випадках із десяти спостерігали повну відсутність росту мікроорганізмів, що свідчить про досягнення стерильності ран за умови застосування досліджуваного препарату. Після проведеного лікування препаратом "Вітосепт", в цей період (5 доба), у ранах собак був відсутній золотистий стрептокок, а на 7 добу рани були стерильними. У собак, яких лікували розчином фурациліну, у відбитках із ран на 7 добу в невеликій кількості ще виявляли гнійний стрептокок, протей та кишкову паличку.

За дослідженням перебігу патологічного процесу встановлено, що у тварин контрольної групи поверхня ран в цей період була покрита незначною кількістю рідкого ексудату сірого кольору. Після його зняття тампоном, на дні рани залишався рановий детрит, поміж якого спостерігалися поодинокі островки грануляційної тканини. Болючість та підвищення місцевої температури навколишніх тканин відсутні. Припухлість була виражена лише по краях ран у вигляді демаркаційного валика шириною 0,3 см, рН ранового середовища становила $6,8 \pm 0,3$.

Таблиця 3

Склад ранової мікрофлори у собак за поступлення у клініку ($M \pm m$; $n = 20$)

Штами бактерій	Групи тварин	
	Дослідна	Контрольна
<i>Staphylococcus aureus</i>	$64,2 \pm 16,4$	$87,5 \pm 1,23$
<i>Streptococcus epidermidis</i>	$126,6 \pm 5,27$	$119,3 \pm 6,72$
<i>Streptococcus aureus</i>	$89,3 \pm 3,34$	$93,7 \pm 2,16$
<i>Streptococcus piogenes</i>	$68,6 \pm 9,57$	$73,5 \pm 3,51$
<i>Echerichia coli</i>	$10,5 \pm 0,27$	$14,9 \pm 0,05$
<i>Enterobacter aerogenes</i>	$23,7 \pm 1,61$	$28,7 \pm 0,07$
<i>Proteus vulgaris</i>	$46,5 \pm 1,42$	$39,6 \pm 2,09$
Інша мікрофлора	$6,56 \pm 0,69$	$9,68 \pm 0,62$

Таблиця 4

Морфологічні та біохімічні показники крові собак при поступленні у клініку ($M \pm m$; $n = 20$)

Показник	Групи тварин	
	Дослідна	Контрольна
Еритроцити, Т/л	$5,9 \pm 0,1$	$6,5 \pm 0,2$
Лейкоцити, Г/л	$10,7 \pm 0,4$	$9,35 \pm 0,3$
Гемоглобін, г/л	$148,5 \pm 7,9$	$152,2 \pm 6,4$
Гематокритна величина, л/л	$50,4 \pm 1,2$	$49,2 \pm 1,5$
Кольоровий показник	$1,25 \pm 0,03$	$1,18 \pm 0,06$
Протеїн загальний, г/л	$68,3 \pm 3,6$	$67,6 \pm 3,5$
Альбуміни, г/л	$31,5 \pm 1,5$	$31,4 \pm 1,4$
Глобуліни, г/л	$36,8 \pm 1,9$	$36,2 \pm 1,7$
Коефіцієнт, А/Г	$0,86 \pm 0,03$	$0,87 \pm 0,03$
АсАТ, мкмоль/л	$0,64 \pm 0,02$	$0,60 \pm 0,02$
АлАТ, мкмоль/л	$0,56 \pm 0,02$	$0,52 \pm 0,02$
Коефіцієнт, АсАТ/ АлАТ	$1,14 \pm 0,02$	$1,15 \pm 0,03$

Таблиця 5

Лейкограма крові собак за поступлення в клініку ($M \pm m$; $n = 20$)

Показник	Групи тварин	
	Дослідна	Контрольна
Базофіли	$0,9 \pm 0,25$	$1,02 \pm 0,02$
Еозинофіли	$3,3 \pm 0,42$	$3,1 \pm 0,12$
Нейтрофіли юні	$2,8 \pm 0,02$	$2,5 \pm 0,01$
паличкоядерні	$20,5 \pm 0,05$	$19,5 \pm 0,02$
сегментоядерні	$47,5 \pm 0,18$	$45,6 \pm 0,08$
Лімфоцити	$20,1 \pm 0,3$	$19,7 \pm 0,03$
Моноцити	$6,25 \pm 0,24$	$6,28 \pm 0,24$

Водночас, дослідження місцевого процесу у всіх тварин дослідної групи, де застосовували Вітосепт (табл. 7) вказувало на завершення періоду очищення ран та інтенсивне заповнення дефекту грануляційною тканиною вже на 5 добу. Молода яскраво-червоного кольору грануляційна тканина суцільно покривала дно і краї ран. Поверхня ран помірно зволожена, рН середовища було на рівні $7,2 \pm 0,2$. Гнійний ексудат і рановий детрит відсутній. Площі ран, порівняно з початковими замірами, у тварин дослідної групи зменшилися, в середньому, на 11 %, а контрольної – на 7 %.

Таблиця 6

Динаміка і склад ранової мікрофлори у собак за умов лікування препаратом “Вітосепт” (Д) та розчином фурациліну (К) ($M \pm m$; $n = 20$)

Штам бактерій	3 доба		5 доба		7 доба	
	Д	К	Д	К	Д	К
<i>Staphyl. aureus</i>	24,5 ± 1,6	32,8 ± 1,3	5,67 ± 0,8	8,7 ± 0,2	–	–
<i>Strep. epidermidis</i>	58,6 ± 1,6	84,5 ± 2,6	3,75 ± 0,4	27,3 ± 1,1	–	–
<i>Strept. aureus</i>	31,4 ± 0,8	62,7 ± 1,2	–	–	–	–
<i>Strept. piogenes</i>	24,9 ± 0,9	46,5 ± 1,6	1,78 ± 0,1	11,4 ± 0,5	1,6 ± 0,1	4,6 ± 0,1
<i>Echerichia coli</i>	4,34 ± 0,2	6,34 ± 0,2	16,4 ± 0,5	4,8 ± 0,2	–	3,6 ± 0,1
<i>Enter. aerogenes</i>	8,5 ± 0,4	17,0 ± 3,0	–	10,5 ± 0,2	–	4,3 ± 0,5
<i>Proteus vulgaris</i>	12,6 ± 0,3	18,4 ± 1,1	1,97 ± 0,1	7,63 ± 0,4	–	3,7 ± 0,2
Інші мікрорган.	4,2 ± 0,21	5,45 ± 0,3	2,6 ± 0,55	3,15 ± 0,1	–	1,97 ± 0,1

Таблиця 7

Динаміка перебігу процесу загоєння при лікуванні собак з ранами препаратом Вітосепт (Д) та розчином фурациліну (К) ($M \pm m$)

Види ран	Група	Кількість тварин	Фаза загоєння ран, (добі)			Повне загоєн., доби
			Очищення	Грануляцій	Епітелізації	
Різани	К	3	5,8 ± 1,2	6,5 ± 1,4	10,0 ± 0,9	21,5 ± 2,4
	Д	3	2,6 ± 0,5	3,4 ± 1,0	6,2 ± 0,7	16,6 ± 1,0
Рвані	К	3	6,7 ± 0,9	7,6 ± 1,2	11,2 ± 0,5	23,6 ± 1,3
	Д	3	3,0 ± 0,3	3,6 ± 1,0	7,0 ± 0,8	17,8 ± 0,9
Комбіновані	К	4	7,2 ± 1,4	8,3 ± 1,0	12,0 ± 1,2	26,5 ± 1,2
	Д	4	3,7 ± 1,2	4,5 ± 0,9	8,2 ± 1,0	18,8 ± 0,7

Цитограма ранових мазків-відбитків у дослідних тварин вказувала на стабільність грануляційного процесу. Про це свідчила незначна кількість нейтрофілів із збереженням їхньої форми, наявністю багатьох молодих фіброblastів дещо витягнутої (веретеноподібної) форми з великими округлими гіперхромними ядрами та поява поодиноких епітеліальних клітин. У тварин контрольної групи цитограма раневих відбитків характеризувалася наявністю незначної кількості раневого детриту. Серед нейтрофілів, частина з яких була змінена, виявляли значну кількість макрофагів та лімфоцитів малих, середніх та великих розмірів, а також поодинокі фіброblastи.

Результати морфологічних та біохімічних досліджень крові, проведених протягом дослідного періоду представлені у таблиці 8.

Зокрема, відзначено, позитивні зміни регенеративного характеру вже за оцінкою на 3 добу за аналізом лейкограм. За зменшення загальної кількості лейкоцитів та числа юних і паличкоядерних нейтрофілів зростала кількість сегментоядерних (зрілих). До того ж, збільшувалася також кількість еозинофілів і базофілів. Результати гематологічних досліджень собак, що піддавались лікуванню, вказують на сприятливий перебіг патології.

Таблиця 8

Динаміка морфологічних та біохімічних показників крові собак протягом дослідного періоду ($M \pm m$; $n = 20$)

Показник	3 доба		5 доба		7 доба	
	Д	К	Д	К	Д	К
Еритроцити, Т/л	6,5 ± 0,2	6,4 ± 0,3	7,7 ± 0,2	6,3 ± 0,2	7,8 ± 0,2	7,5 ± 0,4
Лейкоцити, Г/л	9,35 ± 0,3	9,38 ± 0,4	8,84 ± 0,3	9,62 ± 0,4	8,52 ± 0,4	9,36 ± 0,3
Гемоглобін, г/л	154,2 ± 6,4	148,6 ± 0,7	168,4 ± 6,4	152,7 ± 0,8	174,6 ± 6,3	162,5 ± 0,5
Гематокрит, л/л	49,2 ± 1,5	50,6 ± 1,6	49,6 ± 2,4	49,8 ± 1,2	48,4 ± 2,6	49,6 ± 1,4
Кольоровий показник	1,18 ± 0,06	1,15 ± 0,03	1,09 ± 0,05	1,20 ± 0,04	1,11 ± 0,04	1,18 ± 0,04
Протеїн загальний, г/л	67,6 ± 3,5	67,2 ± 3,4	67,6 ± 2,6	65,6 ± 3,2	68,4 ± 3,6	68,6 ± 3,6
Альбуміни, г/л	31,4 ± 1,4	31,8 ± 1,3	30,8 ± 1,2	30,5 ± 1,2	31,2 ± 1,4	31,6 ± 1,4
Глобуліни, г/л	36,2 ± 1,7	35,4 ± 1,6	36,8 ± 1,8	35,7 ± 1,7	37,2 ± 1,9	37,0 ± 1,8
Коефіцієнт, А/Г	0,87 ± 0,03	0,91 ± 0,04	0,83 ± 0,04	0,85 ± 0,03	0,84 ± 0,03	0,85 ± 0,02
АсАТ, мкмоль/л	0,60 ± 0,02	0,64 ± 0,04	0,52 ± 0,02	0,63 ± 0,02	0,54 ± 0,02	0,56 ± 0,02
АлАТ, мкмоль/л	0,52 ± 0,02	0,52 ± 0,02	0,43 ± 0,02	0,54 ± 0,02	0,42 ± 0,01	0,48 ± 0,02
Коефіцієнт, АсАТ/АлАТ	1,15 ± 0,03	1,23 ± 0,07	1,21 ± 0,06	1,16 ± 0,06	1,28 ± 0,06	1,17 ± 0,06

Так, згідно з даними **таблиці 9** на 3 добу від початку лікування відзначено, порівняно з показниками тварин при поступленні в клініку, збільшення кількості еритроцитів та підвищення рівня гемоглобіну, а також зменшення загальної кількості лейкоцитів. Знизилась активність амінотрансфераз. За оцінкою гематологічних показників на 5 добу встановлено подальшу тенден-

цію до збільшення кількості еритроцитів, підвищення рівня гемоглобіну крові та зменшення загальної кількості лейкоцитів. На тлі зниження загальної кількості лейкоцитів суттєво зменшилася кількість юних та паличкоядерних нейтрофілів, тобто порівняно з початковими дослідженнями відзначався зсув ядра вправо (**табл. 9**).

Таблиця 9

Лейкограма крові собак за лікування інфікованих ран препаратом Вітосепт (Д) та хлортетрацикліновою маззю (К) ($M \pm m$, $n = 20$)

Показники	3 доба		5 доба		7 доба	
	Д	К	Д	К	Д	К
Базофіли	$1,1 \pm 0,18$	$1,1 \pm 0,18$	$1,3 \pm 0,12$	$1,2 \pm 0,12$	$1,2 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,04$
Еозинофіли	$3,2 \pm 0,13$	$4,1 \pm 0,21$	$4,6 \pm 0,25$	$4,9 \pm 0,14$	$4,9 \pm 0,1$	$5,8 \pm 0,01$
Нейтрофіли юні	$0,4 \pm 0,25$	$1,6 \pm 0,3$	$0,6 \pm 0,26$	$0,3 \pm 0,02$	$0,3 \pm 0,3$	$0,2 \pm 0,02$
паличкоядерні	$9,6 \pm 0,2$	$14,6 \pm 0,2$	$8,2 \pm 0,3$	$16,2 \pm 0,3$	$5,4 \pm 0,2$	$9,9 \pm 0,02$
сегментоядерні	$60,8 \pm 0,2$	$53,6 \pm 0,22$	$60,5 \pm 0,1$	$51,5 \pm 0,13$	$63,2 \pm 0,2$	$62,2 \pm 0,2$
Лімфоцити	$18,5 \pm 0,1$	$19,8 \pm 0,2$	$18,4 \pm 0,1$	$19,4 \pm 0,1$	$17,9 \pm 0,1$	$18,9 \pm 0,1$
Моноцити	$6,3 \pm 0,21$	$6,1 \pm 0,21$	$6,5 \pm 0,15$	$6,8 \pm 0,15$	$6,2 \pm 0,17$	$6,6 \pm 0,17$

Обговорення

З'ясовуючи антисептичну дію новоствореного засобу “Вітосепт” у собак виходили з того, що рановий процес є сукупністю послідовних змін, який відбувається в рані і пов'язаних з ними реакцій організму. Травматичні пошкодження шкіри і м'яких тканин у собак бувають часто і потребують індивідуального лікування ([Brown et al., 1997](#); [Amimoto, 2006](#)). Зазвичай вони ускладнюються бактеріальною мікрофлорою, що призводить до розвитку хірургічних інфекцій. Кількісний і якісний склад ранової мікрофлори залежить від етіології ранового процесу та його перебігу.

Варто зазначити, що уже на 3 добу від початку лікування у собак обох груп загальний стан покращився, температура тіла знизилась до $38,6 \pm 0,3$ °C, пульс становив $74 \pm 0,6$ уд./хв, дихальні рухи $16 \pm 0,4$. Позитивні зміни відзначалися і при дослідженні ран у тварин дослідної і контрольної груп. Припухлість та набряк навколишніх тканин значно зменшилися і були представлені у вигляді суцільного демаркаційного валика шириною 0,3–1,5 см. Болючість та підвищення місцевої температури незначні. Характерною особливістю патології інфікованих ран була наявність значної кількості гнійного екссудату, який на поверхні рани мав рідку, а на знятій пов'язці – густу сметаноподібну консистенцію без запаху ([Soltys, 2019](#)). Особливо вираженими екссудативні процеси були у собак із рваними і комбінованими ранами, що можна пояснити інтенсивністю процесів очищення ран ([Rittenhouse et al., 2006](#); [Soltys, 2019](#)).

Суттєві зміни стану ран встановлені на 5 добу від початку лікування. На цей період загальний стан тварин нормалізувався, температура тіла, частота пульсу та дихання були в межах фізіологічних величин. У собак дослідної групи виявлено сповільнення запальної реакції, що проявлялось зменшенням припухлості та зниженням місцевої температури. Болючість частково збережена. Значно зменшилась кількість гнійного екссудату. Поверхні рвано-кусаних та рвано-забитих

ран були покриті невеликою кількістю екссудату рідкої консистенції з домішками детриту, рН середовища ран становила $6,8 \pm 0,1$.

Поверхня різаних ран була нерівномірно вкрита яскраво-червоною грануляційною тканиною. Це свідчило про нормологічний перебіг запалення з ознаками завершення періоду очищення і започаткування грануляційних процесів ([Dai et al., 2011](#)). Згідно з планіметричними дослідженнями відзначено зменшення площі ран у дослідних тварин, де застосовували препарат Вітосепт в середньому на 7 %, а у контрольних – на 3 %. В останніх, на відміну від дослідних, хоча і спостерігалось покращення загального стану організму та очищення рани, але ці процеси були менш виражені. При пальпації в таких тварин відзначалась незначна припухлість навколишніх тканин і частково збережена болючість та підвищення місцевої температури. Поверхня ран була покрита значною кількістю гнійного екссудату. Це свідчило про збереження запального процесу та продовження стадії очищення рани, рН середовища таких ран становила $6,5 \pm 1,5$.

Клінічні спостереження та дослідження місцевого процесу також свідчили про більш сприятливий перебіг регенераційних процесів у собак дослідної групи, де застосовували препарат Вітосепт, порівняно з контрольними тваринами. Так, на 7 добу лікування площа ран у дослідних тварин зменшилася, в середньому, на 29 % проти 20 % у контролі. Рановий дефект у дослідних тварин у переважній більшості випадків майже повністю був виповнений грануляційною тканиною рожевого кольору, що вважається більш сформованою і зрілою. У тварин із комбінованими ранами в місцях заглиблень та в центрі грануляційна тканина була молода (яскраво-червоного), а по периферії – рожевого кольору. Поверхня ран не мала гнійного екссудату, помірно зволожена. По краях ран виявлено суцільну білу смужку епідермісу шириною 0,3–0,5 см. Цитограма ранових відбитків характеризувалася наявністю незначної кількості нейтрофілів, в основному фіброцитів та нашарувань епітеліальних тканин.

У тварин контрольної групи грануляційна тканина, що покривала поверхню ран, була неоднорідною, місцями яскраво-червоною, а в деяких ділянках (найчастіше по краях рани) – сіро-червоною. Поверхня ран була частково покрита незначною кількістю слизового ексудату, який легко знімався тампоном.

У мазках-відбитках із ран, поряд з невеликою кількістю нейтрофілів із збереженими формами та різними за формою лімфоцитами і макрофагами, знаходилась велика кількість фібробластів, що вказує на позитивні регенеративні процеси в рані. Обстеження дослідних тварин у наступні 9 і 12 доби вказували на високу ефективність проведеного лікування, про це свідчив задовільний стан тварин та температура тіла, частота пульсу і дихання, які були у межах фізіологічних величин.

У тварин контрольної групи дослідження мазків-відбитків свідчило про більш повільне загоєння рани та збереження ознак запалення, оскільки в полі зору виявляли дистрофічно змінені нейтрофіли та лімфоцити, переважно малих розмірів, із розмитими контурами і базофільною цитоплазмою.

Випередження регенеративних процесів у дослідних тварин відмічалось і в подальшому лікуванні. У контрольних тварин початок епітелізації припадав на 10–12 добу, а в дослідних – на 6–8. Ще мало пряме відображення на обсягах площі ран. Так, на 10–12 добу площа ран у дослідній групі тварин зменшилася, в середньому, на 51–63 %, а в контролі лише на 39–49 %.

Мікрофлору в раневих мазках-відбитках дослідних і контрольних тварин цього періоду лікування виявляли рідко. Причому, мікроби знаходилися внутрішньоклітинно, що характеризує ознаки завершеного фагоцитозу. Вірогідне зменшення кількості ранової мікрофлори ($P < 0,05$) підтверджено бактеріологічними дослідженнями у тварин дослідної групи. У них зменшилася кількість мікрофлори та змінилися її якісні властивості, тобто вона, на відміну від мікрофлори, виділеної від тварин контрольної групи, не проявляла патогенності.

Дослідження місцевого процесу у всіх тварин дослідної групи вказувало на завершення періоду очищення ран та інтенсивне заповнення дефекту грануляційною тканиною на 9 добу. Молода яскраво-червоного кольору грануляційна тканина суцільно покривала дно і краї ран. Поверхня ран помірно зволожена, рН середовища було $7,2 \pm 0,2$. Гнійний ексудат і рановий детрит відсутній.

У тварин контрольної групи в цей період ще була поверхня ран покрита незначною кількістю рідкого ексудату сірого кольору. Після зняття ексудату тампоном, на дні рани залишався рановий детрит, поміж якого спостерігались поодинокі островки грануляційної тканини. Болючість та підвищення місцевої температури навколишніх тканин відсутні. Припухлість була виражена лише по краях ран у вигляді демаркаційного валика шириною 0,3 см, рН ранового середовища становила $6,8 \pm 0,3$ одиниць.

Оскільки у тварин, що піддавалися лікуванню (К, Д) рани відрізнялися за характером травми (різані, рвані, комбіновані), то в процесі, а точніше на завер-

шальному етапі загоєння, спостерігалось як концентричне рубцювання, так і площинна епітелізація. У тварин дослідної групи у більшості випадків вираженим було концентричне рубцювання, що закінчувалось утворенням порівняно невеликого рубця. І тільки великі за площею рани загоювалися шляхом площинної епітелізації, тобто утворенням широкого епітеліального обідка. У тварин контрольної групи концентричним рубцюванням загоювалися різані рани, а інші – шляхом площинної епітелізації.

Таким чином за результатами проведеного лікування встановлено, що різані рани у тварин дослідної групи загоювалися на $17 \pm 1,0$ добу, що на 4–9 діб раніше ніж у контролі, рвані – на $18 \pm 0,9$, що відповідно раніше на 6 діб, рвано-забиті та рвано-кусані – на 19 добу, що раніше від контрольних, в середньому, на 8 діб.

Отже, за умов інфікованих ран у собак, при застосуванні препарату Вітосепт, порівняно з хлортетрацикліновою маззю, швидше нормалізувались морфологічні та біохімічні показники крові – кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну крові, рівень загального білка і його фракцій та активність амінотрансфераз у сироватці крові, наступала нормалізація величин показників лейкограми, що вказувало на реабілітаційні процеси в цілому організмі.

Висновки

За результатами вивчення терапевтичної ефективності препарату “Вітосепт” встановлено, що його місцеве застосування, в середньому, на 3–4 доби пришвидшувало процес загоєння з утворенням зрілих грануляційних тканин та епітелізацією у собак із інфікованими шкірними ураженнями ранами і забезпечувало асептичність його протікання та нормалізацію досліджуваних показників у процесі одужання.

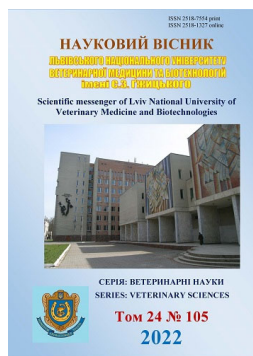
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abayev, Ju. K. (2006). *Lekarstvennye sredstva v lechenii ran* [Medicines in the treatment of wounds]. *Medicinskie znaniya*, 6, 2–5 (in Russian).
- Amimoto, A. (2006). Dressings, bandages, and splints for wound management in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 36(4), 59–91. DOI: 10.1016/j.cvs.2006.03.002.
- Beal, M. W., Brown, D. C., & Shofer, F. S. (2000). The effects of perioperative hypothermia and the duration of anesthesia on postoperative wound infection rate in clean wounds: a retrospective study. *Veterinary Surgery*, 29(2), 123–127. DOI: 10.1111/j.1532-950x.2000.00123.x.
- Bergamini, T. M., Lamont, P. M., Cheadle, W. G., Polk, H. C. (1984). Combined topical and systemic antibiotic prophylaxis in experimental wound infection. *The American Journal of Surgery*, 147, 753–756.

- Borisenko, N. N., Bushueva, I. V., Parchenko, V. V., Gubenko, I. Ya, Mykhailiuk, Y. O., Riznyk, O. I., Aleksieiev, O. G., Gutyj, B. V., Lysianska, H. P., & Kurinnyi, A. V. (2019). Anti-Inflammatory, Antiviral Veterinary Medicine with Immuno-Modulating Activity. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(11), 5455–5459. DOI: 10.5958/0974-360X.2019.00909.0.
- Brown, D. C., Conzemius, M. G., Shofer, F., & Swann, H. (1997). Epidemiologic evaluation of postoperative wound infections in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 210(9), 1302–1306.
- Bystrov, S. A., Bezborodov, A. I., & Katorkin, S. E. (2017). Treatment of purulent wounds with wound dressing on a foamy basis with Hydrofiber technology. *Khirurgiia*, 7, 49–53. DOI: 10.17116/hirurgia2017749-53.
- Cooper, M. (1991). The cytotoxic effects of commonly used topical antibacterial agents on human fibroblasts and keratinocytes. *The Journal of trauma*, 31(6), 775–782. DOI: 10.1097/00005373-199106000-00007.
- Dai, T., Kharkwal, G. B., Tanaka, M., Huang, Y.-Y., de Arce, V. J. B., & Hamblin M. R. (2011). Animal models of external traumatic wound infections. *Virulence*, 2(4), 296–315. DOI: 10.4161/viru.2.4.16840.
- Dreifke, M. B., Jayasuriya, A. A., & Jayasuriya, A. C. (2015). Current wound healing procedures and potential care. *Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications*, 48, 651–662. DOI: 10.1016/j.msec.2014.12.068.
- Gutyj, B., Grymak, Y., Hunchak, V., Mysak, A., Nazaruk, N., Brezvyin, O., Hariv, I., Shcherbatyy, A., Semeniv, B., Bushueva, I., Parchenko, V., & Kaplaushenko, A. (2018). Preclinical searches of the preparation Thireomagnile. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 688–695. DOI: 10.15421/2018_267.
- Nicholson, M., Beal, M., Shofer, F., & Brown, D. (2002). Epidemiologic evaluation of postoperative wound infection in cleancontaminated wounds: A retrospective study of 239 dogs and cats. *Veterinary Surgery*, 31(6), 577–582. DOI: 10.1053/jvet.2002.34661.
- Oborin, D. A., Nikolaeva, N. V., Godovalov, A. P., & Karpunina, T. I. (2020). Etiology of purulent-inflammatory processes in the genital tract: suspicions of clinicians and problems of laboratory confirmation. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*, 65(5), 328–331. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-5-328-331.
- Rittenhouse, S., Singley, C., Hoover, J., Page, R., & Payne, D. (2006). Use of the surgical wound infection model to determine the efficacious dosing regimen of retapamulin, a novel topical antibiotic. *Antimicrob Agents Chemother*, 50, 3886–3888. DOI: 10.1128/AAC.00183-06.
- Schlichting, D., & McCollam, J. S. (2007). Recognizing and managing severe sepsis: acommon and deadly threat. *South. Medical Journal*, 100(6), 594–600. DOI: 10.1097/SMJ.0b013e31804aa29f.
- Shao, M., Hussain, Z., Thu, H. E., Khan, S., de Matas, M., Silkstone, V., Qin, H. L., & Bukhari, S. N. A. (2017). Emerging Trends in Therapeutic Algorithm of Chronic Wound Healers: Recent Advances in Drug Delivery Systems, Concepts-to-Clinical Application and Future Prospects. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 34(5), 387–452. DOI: 10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.2017016957.
- Singh, M. R., Saraf, S., Vyas, A., Jain, V., & Singh, D. (2013). Innovative approaches in wound healing: trajectory and advances. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 41(3), 202–212. DOI: 10.3109/21691401.2012.716065.
- Soltys, M. (2019). Morphological and biochemical parameters of blood of rats for the long-term effect of the drug “Vitosept”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 21(94), 109–114. DOI: 10.32718/nvlvet9420.
- Vlislo, V. V. (2012). *Laboratorni metody doslidzhen u biolohii, tvarynnystvi ta veterynarniy medytsyni* [Laboratory methods of research in biology, animal husbandry and veterinary medicine]. Spolom, Lviv (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10512

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.7:616.995.132.5:615.3

The effectiveness of treatment for dirofilariasis in dogs

D. Kryvoruchenko✉

State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine

Article info

Received 27.01.2022

Received in revised form

28.02.2022

Accepted 01.03.2022

State Biotechnological University,

Alchevsky Str., 44, Kharkiv,

61002, Ukraine.

Tel.: +38-095-282-92-99.

E-mail: denys.kryvoruchenko@gmail.com

Kryvoruchenko, D. (2022). The effectiveness of treatment for dirofilariasis in dogs. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 83–88. doi: 10.32718/nvlvet10512

Livestock industry – dog breeding is of great importance in human activities. Infectious and invasive diseases are a deterrent to the breeding and improvement of dog breeds. Not only do they cause significant economic damage to dog breeding, but they can also be dangerous to humans. Such diseases include dirofilariasis – an invasive disease that is transmitted through intermediate hosts – blood-sucking mosquitoes. The urgency of dirofilariasis is also due to the difficulties of therapy, because effective drugs of imported production are not available due to high cost, and the arsenal of domestic counterparts is small. The aim of the study was to establish the effectiveness of various treatment regimens for dog dirofilariasis. For this purpose, dogs infected with *Dirofilaria immitis* used specific drugs immiticide (AS – melarsomin), stronghold (AS – selamectin), doxycyl (AS – doxycyclini hydrochloridum), advocate (AS – imidacloprid, moxidectin). The main indicators of the effect of drugs were extensefficiency and intensefficiency. Studies have shown that with the intensity of microdirofilariasis invasion below 20 larvae in 1 cm³ of dog blood and in the absence of clinical manifestations of the disease extensefficiency and intensefficiency of concomitant use of immiticide and stronghold, doxycyl and stronghold, immiticide and advocate, doxycyl and advocate on the 15th day of the experiment was 100.0 %, 100.0 %, 100.0 %, 83.33 and 86.81 % respectively. With the intensity of microdirofilariasis invasion from 20 to 40 larvae in 1 cm³ of dog blood, the extensefficiency and intensefficiency of the proposed treatment regimens were respectively 100.0 %, 83.33 and 88.46 %, 66.66 and 82.54 %, 66.66 and 80.20 %. On the 180th day of treatment and during the year in all experimental groups of dogs, regardless of the intensity of the invasion of microdirofilariae in the blood of animals were not detected. Immunochromatographic rapid test, starting from 30 days of the experiment, was negative for adult females of *D. immitis*. The results of the research allow us to recommend the proposed treatment regimens in the effective control of dog dirofilariasis caused by *D. immitis*.

Key words: dogs, dirofilariasis, *Dirofilaria immitis*, drugs, treatment, effectiveness.

Ефективність лікувальних заходів за дирофіларіозу собак

Д. О. Криворученко✉

Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

Галузь тваринництва – собаківництво має велике значення у людській діяльності. Стримуючим фактором у розведенні й поліпшенні порід собак є інфекційні та інвазійні хвороби. Вони не тільки спричиняють значні економічні збитки собаківництву, а й також можуть бути небезпечними для людини. До таких хвороб належить дирофіларіоз – інвазійне захворювання, яке передається трансмісивним шляхом через проміжних хазяїв – кровосисних комах комарів. Актуальність дирофіларіозу також обумовлена складнощами терапії, тому що ефективні лікарські засоби імпортного виробництва малодоступні через високу вартість, а арсенал вітчизняних аналогів невеликий. Метою роботи було встановити ефективність різних лікувальних схем за дирофіларіозу собак. З цією метою собакам, інвазованим *Dirofilaria immitis*, застосовували специфічні препарати іммітициди (ДР – меларсомін), стронгхолд (ДР – селамектин), доксицил (ДР – доксицикліну гідрохлорид), адвокат (ДР – імідаклоприд, моксидектин). Основними показниками дії препаратів були екстенсивність та інтенсивність. Проведеними дослідженнями встановлено, що за інтенсивності мікродирофіларіозної інвазії нижче ніж 20 личинок у 1 см³ крові собак та за відсутності клінічного прояву хвороби екстенсивність та інтенсивність одночасного застосування іммітициду і стронгхолду, доксицилу і стронгхолду,

іммітициду і адвокату, доксицилу і адвокату на 15 добу експерименту становили відповідно 100,0 %, 100,0 %, 100,0 %, 83,33 та 86,81 %. За інтенсивності мікродирофіляріозної інвазії від 20 до 40 личинок у 1 см³ крові собак екстенсефективність та інтенсефективність запропонованих лікувальних схем становила відповідно 100,0 %, 83,33 і 88,46 %, 66,66 та 82,54 %, 66,66 і 80,20 %. На 30 добу лікування та впродовж року в усіх дослідних груп собак незалежно від інтенсивності інвазії мікродирофілярій у крові тварин не виявляли. Імунохроматографічний експрес-тест, починаючи з 1800 доби досліді, був негативним щодо дорослих самок *D. immitis*. Отримані результати проведених досліджень дозволяють рекомендувати запропоновані лікувальні схеми в ефективній боротьбі з дирофіляріозом собак, викликаним *D. immitis*.

Ключові слова: собаки, дирофіляріоз, *Dirofilaria immitis*, лікарські засоби, лікування, ефективність.

Вступ

Дирофіляріоз належить до групи захворювань, що викликаються нематодами родини Filariidae, які характеризуються трансмісивним шляхом передачі, повільним розвитком та тривалим перебігом. Близько 200 видів філярій паразитують у тварин та людини, з них 7 паразитують тільки у людини (*Wuchereria bancrofti*, *Brugia malai*, *Onchocerca volvulus*, *Loa loa*, *Mansonella streptocerca*, *M. perstans* та *M. ozzardi*). Деякі види філярій роду *Dirofilaria*, що паразитують у тварин, можуть інвазувати і людину (Neves et al., 1991; Trpis, 1994; Geiger et al., 1996; Kumar et al., 2021). Зокрема, у собак і котів найбільшого поширення набули два види дирофілярій – *Dirofilaria immitis*, що локалізуються в правому шлуночку серця і легених артеріях, та *Dirofilaria repens*, що паразитують у підшкірній клітковині (Şuleşco et al., 2016; Tomazatos et al., 2018; Genchi et al., 2019; Aydin et al., 2020).

Доведено, що більш патогенним є вид *D. immitis*, який викликає розлади кровообігу внаслідок механічної закупорки і ендокардиту, а також клінічно проявляється розладом серцевої діяльності (Busch & Noxon, 1992; Mupanomunda et al., 1997; Mircean et al., 2017).

Науковці зазначають, що ефективним макрофіларіцидом за дирофіляріозу собак, викликаного *D. immitis*, є меларсоміну дигідрохлорид (“Іммітицид”), похідне миш’яку. Цей препарат виявляється ефективним проти дорослих гельмінтів та личинок 5-ої стадії (Raynaud, 1992; McCall et al., 1994). Зокрема, автори зазначають про 96 % ефективність дворазового застосування меларсоміну за дирофіляріозу собак (Hoch & Strickland, 2008). Інші науковці у своїх дослідженнях встановили, що ефективність іммітициду коливалася в межах від 88,3 до 89,1 % (Rohrbach & Patton, 2013).

Для боротьби з мікрофіляріями у більшості країн світу успішно застосовують макроциклінічні лактони, а саме препарати на основі івермектину, моксидектину, мільбеміцину та селамектину. Вони зарекомендували себе як дієві мікрофіларіциди. Їхня терапевтична ефективність, за даними ряду авторів, може сягати 100 % (Diakou & Prichard, 2021; Prichard, 2021).

Науковці нещодавно довели на філогенетичному і біохімічному рівнях облігатний симбіоз нематод *D. immitis* та бактерій *Wolbachia pipientis*. Це призвело до нового напрямку в терапії за дирофіляріозу, де застосування антибіотикотерапії замість або разом із протипаразитарними засобами є ефективним у боротьбі з *D. immitis*. Така альтернатива також пов’язана з токсичністю застосування самого меларсоміну. Тому проведені дослідження доводять високу ефектив-

ність доксицикліну та інших антибіотиків за дирофіляріозу собак (McCall et al., 2011; McHaffie, 2012; Carretón et al., 2020).

Отже, на сьогодні у боротьбі з дирофіляріозом собак, викликаним *D. immitis*, досягнуто певних успіхів. Пропоновані схеми і методи лікування є достатньо тривалими, трудомісткими, іноді призводять до ускладнень і не завжди є ефективними.

Тому метою роботи було встановити ефективність різних лікувальних схем за дирофіляріозу собак.

Матеріал і методи досліджень

Роботу виконували впродовж 2019–2021 рр. в умовах приватної ветеринарної клініки “Довіра” (м. Харків) та лабораторії кафедри паразитології Державного біотехнологічного університету.

Залежно від інтенсивності мікродирофіляріозної інвазії собак було поділено на дві групи: І менше, ніж 20 личинок в 1 см³ крові (“+”) та ІІ коливається в межах від 20 до 40 личинок/см³ (“++”).

З метою визначення терапевтичної ефективності лікарських засобів за дирофіляріозу в кожній групі собак було сформовано чотири дослідних групи тварин віком від 3 до 10 років по 6 голів у кожній.

Собакам перших дослідних груп одночасно застосовували іммітицид (Merial Spa, Італія) – внутрішньом’язово у дозі 2,5 мг/кг маси тіла тварини двічі з інтервалом 24 год та стронгхолд (Zoetis Inc, США) зовнішньо у дозі 6 мг/кг маси тіла 1 раз в місяць впродовж року. Собакам других дослідних груп одночасно застосовували доксицил (УкрЗooВетпром-постач, Україна) – внутрішньом’язово у дозі 0,25 мл/10 кг маси тіла тварини один раз на добу впродовж 30 діб та стронгхолд. Собакам третіх дослідних груп одночасно застосовували іммітицид та адвокат (Bayer, Німеччина) зовнішньо у дозі 10 мг імідаклоприду і 2,5 мг моксидектину на кг маси тіла тварини 1 раз в місяць впродовж року. Собакам четвертих дослідних груп одночасно застосовували доксицил та адвокат.

Одночасно собакам дослідних груп з ІІ – від 20 до 40 личинок/см³ з ознаками розширення лівого передсердя та затемнення бронхіального типу за результатами рентгенодіагностики з метою зменшення тяжкості та усунення симптомів перебігу хвороби застосовували преднізолон (ПрАТ “Фармацевтична фірма “Дарниця”) внутрішньом’язово у дозі 0,5 мг/кг маси тіла тварини два рази на добу впродовж 7 діб.

Дослідних собак у процесі експерименту досліджували гемаларвоскопічним методом Кнотта з метою виявлення мікродирофілярій та за допомогою

імунохроматографічного аналізу (ІХА). Ефективність лікувальних схем визначали на 15, 30, 60, 90, 180 та 360 добу після початку їх застосування. Головними показниками дії препаратів були екстенсефективність (ЕЕ) та інтенсефективність (ІЕ).

Математичний аналіз отриманих даних проводили з використанням пакету прикладних програм Microsoft "EXCEL". Розраховували середнє арифметичне (М) та його похибку (m).

Результати та їх обговорення

Проведеними дослідженнями встановлено, що в групах дослідних собак, у яких інтенсивність мікродирофіляріозної інвазії не перевищувала 20 личинок в 1 см³ крові та були відсутні клінічні ознаки захворю-

вання на 15 добу після початку лікування екстенсефективність та інтенсефективність іммітициду і стронгхолду (перша група), доксицилу і стронгхолду (друга група), іммітициду і адвокату (третя група), доксицилу і адвокату (четверта група) за результатами гемоларвоскопічних досліджень становили відповідно 100,0 %, 100,0 %, 100,0 %, 83,33 та 86,81 % (рис. 1, 2).

В подальшому, починаючи з 30 доби експерименту і впродовж року, мікрофілярій в крові собак всіх дослідних груп не виявляли. Також при дослідженні собак ІХА на 180 та 360 доби експерименту було отримано негативні результати, що свідчить про високу ефективність запропонованих методів лікування з урахуванням низьких показників інтенсивності мікродирофіляріозної інвазії.

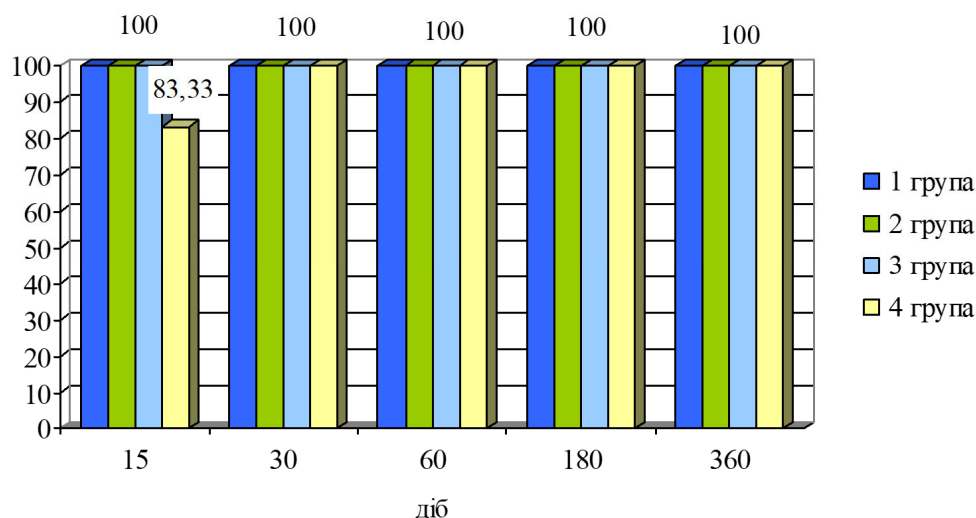


Рис. 1. Показники екстенсефективності лікарських засобів при лікуванні собак інвазованих *Dirofilaria immitis* за інтенсивності мікродирофіляріозної інвазії "+"

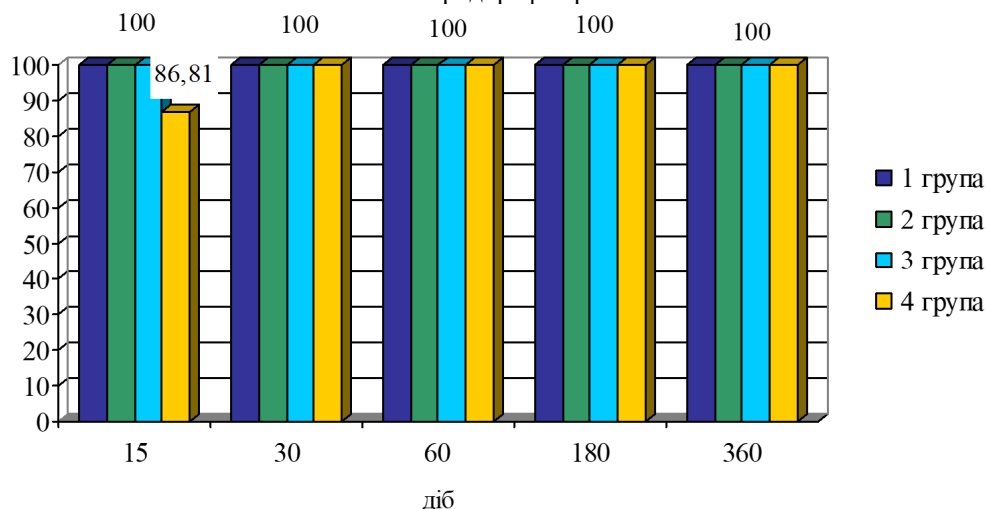


Рис. 2. Показники інтенсефективності лікарських засобів при лікуванні собак інвазованих *Dirofilaria immitis* за інтенсивності мікродирофіляріозної інвазії "+"

За інтенсивності мікродирофіляріозної інвазії від 20 до 40 лич./см³ та наявності у дослідних собак ознак розширення лівого передсердя та затемнення бронхіального типу показники екстенсефективності та інтен-

сефективності запропонованих лікувальних схем на 15 добу експерименту були дещо нижчими і становили відповідно 100,0 %, 83,33 та 88,46 %, 66,66 та 82,54 %, 66,66 та 80,20 % (рис. 3, 4).

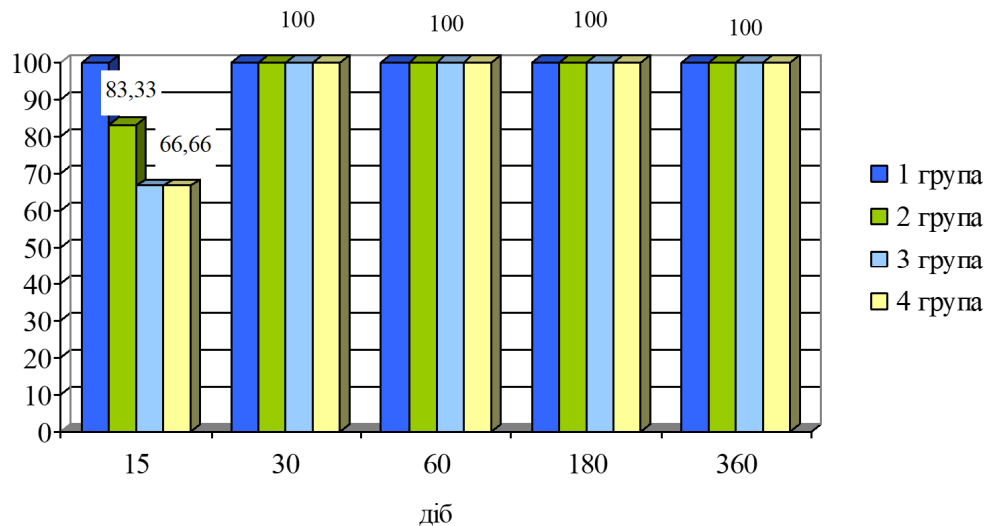


Рис. 3. Показники екстенсоефективності лікарських засобів при лікуванні собак інвазованих *Dirofilaria immitis* за інтенсивності мікродирофіляріозної інвазії “++”

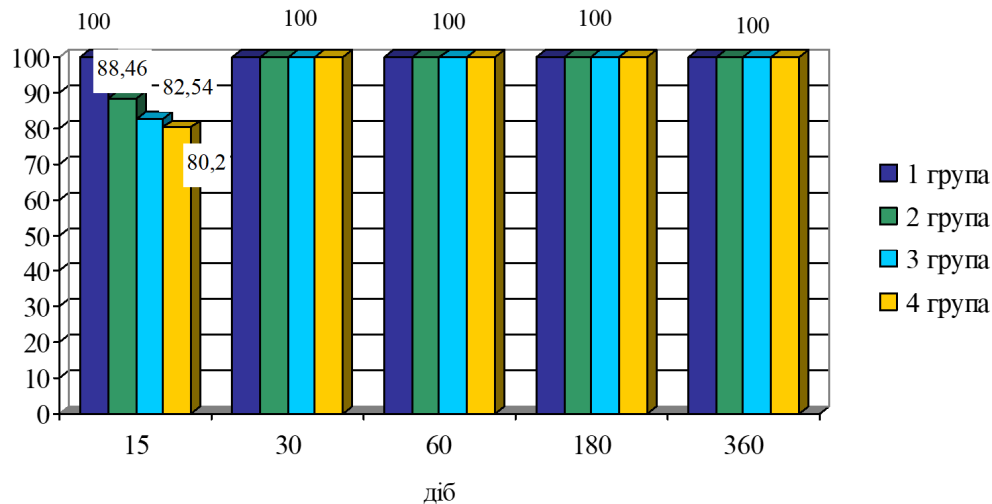


Рис. 4. Показники інтенсоефективності лікарських засобів при лікуванні собак інвазованих *Dirofilaria immitis* за інтенсивності мікродирофіляріозної інвазії “++”

На 30, 60, 90, 180 та 360 добу експерименту у всіх дослідних груп собак мікродирофілярій не виявляли. Імунохроматографічний експрес-тест, починаючи з 180 доби дослідження, був негативним щодо дорослих самок *D. immitis*. Проведеними рентгенологічними дослідженнями патологій з боку серцево-судинної та легеневої систем не виявлено.

Більшість наукових праць свідчать про складність лікування собак за дирофіляріозу, викликаного *D. immitis*. Це пов'язано з місцем локалізації даних нематод, а також тяжких патологій, які вони викликають. З іншого боку, препарат, що має макрофіляріцидну дію, є похідним миш'яку і також може призводити до ускладнень і погіршувати загальний стан хворих собак (Raynaud, 1992; McCall et al., 1994). Тому нами було проведено випробування різних протипаразитарних препаратів: макрофіляріцидів – іммітициду, доксицилу та мікрофіляріцидів – стронгхолду і адвокату за дирофіляріозу собак, викликаного *D. immitis*, з урахуванням показників інтенсивності інвазії. Встановлено, що за показників інтенсивності

мікродирофіляріозної інвазії до 40 лич./см³ на 15 добу лікування показники екстенс- та інтенсоефективності за результатами гемаларвоскопічних досліджень становили відповідно: іммітициду і стронгхолду – 100 %, доксицилу і стронгхолду – 83,33–100 % та 88,46–100 %, іммітициду і адвокату – 66,66–100 % та 82,54–100 %, доксицилу і адвокату – 66,66–83,33 % та 80,20–86,81 %. Водночас на 30 добу лікування та впродовж року показники ефективності вже сягали 100 %, що підтверджувалося результатами імунохроматографічного експрес-тесту, клінічного огляду та рентгенодіагностики. Отримані нами дані узгоджуються з результатами авторів, що вказують на значну ефективність дворазового застосування меларсоміну та тривалого застосування доксицикліну за дирофіляріозу собак (Hoch & Strickland, 2008; McHaffie, 2012; Carretón et al., 2020). Також є наукові повідомлення, які свідчать про 100 % ефективність препаратів на основі моксидектину та селамектину як дієвих мікрофіляріцидів (Diakou & Prichard, 2021; Prichard, 2021).

Отже, отримані результати проведених досліджень дозволяють рекомендувати запропоновані лікувальні схеми в ефективній боротьбі з дирофіляріозом собак, викликаним *D. immitis*.

Висновки

За низьких показників інтенсивності мікродирофіляріозної інвазії (до 20 та від 20 до 40 личинок у 1 см³ крові) та позитивним імунохроматографічним експрес-тестом щодо дорослих самок *D. immitis* ефективними лікувальними схемами інвазованих собак виявилися препарати іммітицид і стронгхолд, доксицил і стронгхолд, іммітицид і адвокат, доксицил і адвокат за одночасного їх застосування. Починаючи із 30 доби лікування, показники екстенсефективності та інтенсефективності становили 100 %. Позитивний лікувальний ефект був підтверджений негативним імунохроматографічним експрес-тестом.

Перспективи подальших досліджень. Перспективами подальших досліджень є вивчення ефективності профілактичних заходів за дирофіляріозу собак.

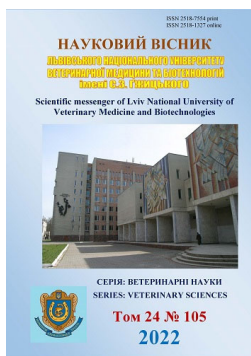
Відомості про конфлікт інтересів

Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Aydin, M. F., Altay, K., Aytmirzakizi, A., & Dumanlı, N. (2020). First Molecular detection of *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dogs from Kyrgyzstan. *Acta Parasitologica*, 65(4), 949–953. DOI: 10.1007/s11686-020-00245-8.
- Busch, D. S., & Noxon, J. O. (1992). Pneumothorax in a dog infected with *Dirofilaria immitis*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201(12), 1893. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1483909>.
- Carretón, E., Morchón, R., Falcón-Cordón, Y., Falcón-Cordón, S., Matos, J. I., & Montoya-Alonso, J. A. (2020). Evaluation of different dosages of doxycycline during the adulticide treatment of heartworm (*Dirofilaria immitis*) in dogs. *Veterinary Parasitology*, 283, 109141. DOI: 10.1016/j.vetpar.2020.109141.
- Diakou, A., & Prichard, R. K. (2021). Concern for *Dirofilaria immitis* and macrocyclic lactone loss of efficacy: current situation in the USA and Europe, and future scenarios. *Pathogens*, 10(10), 1323. DOI: 10.3390/pathogens10101323.
- Geiger, S. M., Hoffmann, W., Rapp, J., Schulz-Key, H., & Eisenbeiss, W. F. (1996). Filariidae: cross-protection in filarial infections. *Experimental Parasitology*, 83(3), 352–356. DOI: 10.1006/expr.1996.0083.
- Genchi, M., Rinaldi, L., Venco, L., Cringoli, G., Vismarra, A., & Kramer, L. (2019). *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat: a questionnaire study in Italy. *Veterinary Parasitology*, 267, 26–31. DOI: 10.1016/j.vetpar.2019.01.014.
- Hoch, H., & Strickland, K. (2008). Canine and feline dirofilariasis: prophylaxis, treatment, and complications of treatment. *Compendium*, 30(3), 146–152. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18409141>.
- Kumar, A., Sreedhar, A., Biswas, L., Prabhat, S., Suresh, P., Asokan, A., Tomy, R. M., Vinod, V., Lakshmanan, B., Nambiar, A., & Biswas, R. (2021). Candidatus *Dirofilaria hongkongensis* infections in humans during 2005 to 2020, in Kerala, India. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 104(6), 2046–2049. DOI: 10.4269/ajtmh.20-1521.
- McCall, J. W., Kramer, L., Genchi, C., Guerrero, J., Dzimiński, M. T., Supakorndej, P., Mansour, A., McCall, S. D., Supakorndej, N., Grandi, G., & Carson, B. (2011). Effects of doxycycline on early infections of *Dirofilaria immitis* in dogs. *Veterinary Parasitology*, 176(4), 361–367. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.01.022.
- McCall, J. W., McTier, T. L., Dzimiński, M. T., Raynaud, J. P., & Holmes, R. A. (1994). Clinical prophylactic activity of melarsomine dihydrochloride (RM 340) against *Dirofilaria immitis* in heartworm-naïve beagles exposed to natural infection in three southeastern states. *Veterinary Parasitology*, 55(3), 205–219. DOI: 10.1016/0304-4017(93)00642-C.
- McHaffie, J. (2012). *Dirofilaria immitis* and *Wolbachia pipiensis*: a thorough investigation of the symbiosis responsible for canine heartworm disease. *Parasitology Research*, 110(2), 499–502. DOI: 10.1007/s00436-011-2644-5.
- Mircean, M., Ionică, A. M., Mircean, V., Györke, A., Codea, A. R., Tăbăran, F. A., Taulescu, M., & Dumitrache, M. O. (2017). Clinical and pathological effects of *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis* in a dog with a natural co-infection. *Parasitology International*, 66(3), 331–334. DOI: 10.1016/j.parint.2017.02.003.
- Mupanomunda, M., Williams, J. F., Mackenzie, C. D., & Kaiser, L. (1997). *Dirofilaria immitis*: heartworm infection alters pulmonary artery endothelial cell behavior. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 82(2), 389–398. DOI: 10.1152/jappl.1997.82.2.389.
- Neves, J. M., Nardi, N. B., Andrade, L., & Dreyer, G. (1991). In vitro differentiation of *Wuchereria bancrofti* (Filariidae). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 24(10), 1011–1016. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1797253>.
- Prichard, R. K. (2021). Macrocyclic lactone resistance in *Dirofilaria immitis*: risks for prevention of heartworm disease. *International Journal for Parasitology*, 51(13–14), 1121–1132. DOI: 10.1016/j.ijpara.2021.08.006.
- Raynaud, J. P. (1992). Thiacetarsamide (adulticide) versus melarsomine (RM 340) developed as macrofilaricide (adulticide and larvicide) to cure canine heartworm infection in dogs. *Annales de recherches vétérinaires. Annals of Veterinary Research*, 23(1), 1–25. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1510336>.
- Rohrbach, B. W., & Patton, S. (2013). Effects of diagnostic test accuracy and treatment efficacy on the occurrence of suspected failure of heartworm prophylaxis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(4), 791–797. DOI: 10.1111/jvim.12092.
- Șuleșco, T., von Thien, H., Toderăș, L., Toderăș, I., Lühken, R., & Tannich, E. (2016). Circulation of *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis* in Moldova. *Parasites & Vectors*, 9(1), 627. DOI: 10.1186/s13071-016-1916-4.

- Tomazatos, A., Cadar, D., Török, E., Maranda, I., Horváth, C., Keresztes, L., Spinu, M., Jansen, S., Jöst, H., Schmidt-Chanasit, J., Tannich, E., & Lühken, R. (2018). Circulation of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in the Danube Delta Biosphere Reserve, Romania. *Parasites & Vectors*, 11(1), 392. DOI: 10.1186/s13071-018-2980-8.
- Trpis, M. (1994). *Aedes* (Gymnometopa) mediovittatus (Diptera: Culicidae) as an experimental vector of *Brugia pahangi* and *B. malayi* (Spirurida: Filariidae). *Journal of Medical Entomology*, 31(3), 442–444. DOI: 10.1093/jmedent/31.3.442.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10513

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 338.439.021.1

Therapeutic efficacy of bacteriophage drug Fagomast in clinical mastitis of cows

Y. Horiuk✉

Higher educational institution “Podillia State University”, Kamianets-Podilskyi, Ukraine

Article info

Received 01.02.2022

Received in revised form

02.03.2022

Accepted 03.03.2022

Higher educational institution
“Podillia State University”,
Shevchenko Str., 13, Kamianets-
Podilskyi, Kholmynskyi region,
32300, Ukraine.
Tel.: +38-097-661-79-64
E-mail: goruky@ukr.net

Horiuk, Y. (2022). Therapeutic efficacy of bacteriophage drug Fagomast in clinical mastitis of cows. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 89–93. doi: 10.32718/nvlvet10513

Phage therapy is an effective and safe way to treat infectious diseases caused by various types of bacteria, including mastitis in cows. However, the number of in vivo studies on phages to treat cattle with staphylococcal mastitis is relatively low. This study aimed to evaluate the therapeutic efficacy of the bacteriophage drug Fagomast in treating cows with staphylococcal mastitis in its clinical manifestation and compare the results with commercial antimastitis drugs based on antibiotics. For this purpose, groups of cows with signs of clinical mastitis caused by *S. aureus* were formed. Cows of the experimental group were administered intracasternal bacteriophage drug Fagomast, and animals of the control group were used drugs based on antibiotics. Cows were considered healthy in the disappearance of clinical manifestations of the disease and adverse reactions in mastidin test. According to the research results, it is established that the effectiveness of therapy in the clinical form of staphylococcal mastitis with the use of intra-tank antimastitis drugs based on antibiotics is from 66.7 to 100 %, and with the help of bacteriophage drug Fagomast – 71.4 %. The period during which the rejection of milk during the treatment of clinical mastitis drug Fagomast was 1.5 times less than in treating such mastitis drugs containing antibiotics. Thus, the drug Fagomast is generally not inferior to traditional treatment methods with antibiotics. Therefore, the use of Fagomast in treating staphylococcal mastitis is relevant and promising.

Key words: clinical mastitis, cows, therapeutic efficacy, Fagomast.

Терапевтична ефективність бактеріофагового препарату “Фагомаст” за клінічного маститу корів

Ю. В. Горюк✉

Заклад вищої освіти “Подільський державний університет”, м. Кам’янець-Подільський, Україна

Фаготерапія є ефективним та безпечним засобом для лікування інфекційних захворювань, спричинених різними видами бактерій, у тому числі стафілококового маститу у корів. Проте кількість досліджень in vivo щодо використання фагів для лікування великої рогатої худоби за стафілококового маститу досить низька. Метою даного дослідження було оцінити терапевтичну ефективність бактеріофагового препарату “Фагомаст” при лікуванні корів за стафілококового маститу при його клінічному прояві та порівняти отримані результати з комерційними протимаститними засобами на основі антибіотиків. Для цього було сформовано групи корів з ознаками клінічного маститу, спричиненого *S. aureus*. Коровам дослідної групи вводили внутрішньомістернально бактеріофаговий препарат “Фагомаст”, тваринам контрольної групи застосовували препарати на основі антибіотиків. Корови вважалися здоровими при зникненні клінічних проявів захворювання та негативній реакції при мастидиновому тесті. За результатами досліджень встановлено, що ефективність терапії при клінічній формі стафілококового маститу при застосуванні внутрішньомістернальних протимаститних препаратів на основі антибіотиків становить від 66,7 до 100 %, а при використанні бактеріофагового препарату “Фагомаст” – 71,4 %. При цьому період часу, протягом якого відбувається вибракування молока, під час лікування клінічного маститу препаратом “Фагомаст” був у середньому в 1,5 раза меншим, ніж за лікування такого маститу препаратами з вмістом антибіотиків. Отже, препарат “Фагомаст” загалом не поступається традиційним

методам лікування із застосуванням антибіотиків. Тому використання препарату “Фагомаст” у схемі лікування стафілококового маститу є актуальним і перспективним.

Ключові слова: клінічний мастит, корови, терапевтична ефективність, Фагомаст.

Вступ

Мастит у великої рогатої худоби є основною причиною економічних збитків у молочній промисловості (Gomes & Henriques, 2016; Kurtyak et al., 2021; Silva et al., 2021). Мастит корів може бути викликаний різними мікроорганізмами, при цьому золотистий стафілокок займає вагоме значення в етіології даного захворювання (Horiuk et al., 2020). *S. aureus* – це грам-позитивна бактерія, яка бере участь у різних інфекційних захворюваннях тварин і людей, які важко піддаються лікуванню. В терапії стафілококових захворювань зазвичай використовують антибіотики. Проте останнім часом з'явилося багато антибіотикостійких мікроорганізмів, в тому числі штами *S. aureus* (Capparelli et al., 2007; Barbu et al., 2016; Horiuk et al., 2018b; Tashakkori et al., 2020). Крім того, золотисті стафілококи мають високу здатність утворювати біоплівки, що ще більше ускладнює їх еридикацію та підвищує стійкість до протимікробних засобів. Тому пошук ефективного лікування стафілококових інфекцій, в тому числі маститу у корів, є актуальною проблемою, яка потребує швидкого вирішення (Kukhtyn et al., 2016; Horiuk et al., 2018b).

Бактеріофаги широко поширені в природі та характеризуються яскраво вираженим тропізмом, тобто властивістю вражати клітини певного виду. Їх виділяють з води, ґрунту, різних харчових продуктів та з клітин тканин організмів людини і тварин (Górski et al., 2017; Moelling et al., 2018). Нині виявлені й описані фаги проти різних видів бактерій як патогенних, так і сапрофітних, які здатні рости в аеробних і анаеробних умовах. Оскільки кожний бактеріофаг є специфічним паразитом бактерій окремого виду і розмножується тільки за їхній рахунок, то відповідно і фаги знаходять там, де живуть їхні мікробні популяції. На даний момент не існує жодної відомої бактерії, яка б не могла бути ураженою бактеріофагом чи не несла у своєму геномі профаг (інтегровану нуклеїнову кислоту фага) (Chan et al., 2013; Simmons et al., 2018; Zhang et al., 2020).

Основною метою цього дослідження було оцінити терапевтичну ефективність бактеріофагового препарату “Фагомаст” при лікуванні корів за стафілококового маститу при його клінічному прояві та порівняти отримані результати з комерційними протимаститними засобами на основі антибіотиків.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження з визначення терапевтичної ефективності бактеріофагового препарату “Фагомаст” проводили в господарствах Тернопільської та Хмельницької областей. Для проведення досліджень було відібрано корів з ознаками клінічного прояву маститу: збільшений об'єм уражених часток, їх гіперемія, болючість, підвищення місцевої температури, при здою-

ванні у секреті наявність згустків казеїну та сформовано дві групи за принципом аналогів: контрольну і дослідну.

Коровам дослідної групи вводили внутрішньочістернально бактеріофаговий препарат “Фагомаст” у дозі 10 мл двічі на добу до повного одужання тварини.

Коровам контрольної групи інтрачістернально застосовували протимаститні препарати, які використовувалися на фермах (Пенікан П, Мастіет Форте, Мастидев Форте, Мастилекс, Біофлок LC) згідно з інструкціями щодо їх використання та внутрішньом'язово застосовували антибіотик загальної системної дії.

За тваринами протягом дослідного періоду вели клінічне спостереження та проводили визначення кількості соматичних клітин за допомогою 2 % маститину. Корів вважали здоровими при зникненні клінічних проявів захворювання та негативній реакції при мастидиновому тесті.

Отримані результати досліджень оброблено статистично з використанням програм Microsoft Excel і Statistika 10 Edition, а результати середніх значень вважали вірогідними при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення

Кількість досліджень *in vivo* щодо використання фагів для лікування великої рогатої худоби за стафілококового маститу досить низька (Sharun et al., 2021). Проте встановлено, що внутрішньовименна інфузія фага у вже інфіковані *S. aureus* чверті вимені зменшувала кількість патогенів, не спричинювала збільшення кількості соматичних клітин та не мала побічних ефектів (Geng et al. 2020).

Попередні наші дослідження показали високу терапевтичну ефективність бактеріофагового препарату “Фагомаст” при лікуванні субклінічного стафілококового маститу у корів: 92,1 % уражених чвертей вимені відновили свої функції через 5 днів після завершення лікування; золотистий стафілокок з молока даних чверток не виділявся; кількість соматичних клітин була $250,1 \pm 22,3$ тис./см³. Тому наступним етапом наших досліджень було визначення терапевтичної ефективності препарату “Фагомаст” при лікуванні корів за клінічного прояву маститу, порівнюючи з іншими протимаститними препаратами з вмістом антибіотиків. Результати дослідження наведено в табл. 1.

З даних, наведених у табл. 1, видно, що ефективність лікування клінічного маститу, збудником якого був золотистий стафілокок, антибактеріальними препаратами з вмістом антибіотиків була досить висока. Зокрема, при лікуванні такими протимаститними препаратами, як Мастіет Форте, Мастидев Форте та Мастилекс ефективність лікування становила 100 %, оскільки після проведеного курсу лікування клінічних патологічних змін у молочній залозі не виявляли, реакція з мастидином була негативна, збудник з мо-

лочної залози не виділявся, а кількість соматичних клітин не перевищувала 300 тис./см³. За лікування внутрішньоцистернальними препаратами “Пенікан П” та “Біофлок LC” спостерігали ефективність лікування на рівні 66,7 %.

У дослідній групі загалом ефективність лікування становила 71,4 % і після курсу лікування видимих змін молочної залози не спостерігали, реакція з мас-

тидином також була негативна та кількість соматичних клітин не перевищувала 350 тис./см³, що вказує на завершення запального процесу.

У табл. 2 наведено результати щодо тривалості періоду лікування клінічної форми стафілококового маститу за лікування антибактеріальними препаратами з умістом антибіотиків та препаратом на основі стафілококового фагу.

Таблиця 1

Терапевтична ефективність бактеріофагового препарату “Фагомаст” за клінічного маститу корів

Групи тварин	Препарат, який застосовували	Піддано лікуванню				Результати лікування, одужало			
		корів		четвертей вимені		корів		четвертей вимені	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Контроль, n = 17	Пенікан П	3	100	7	100	2	66,7	5	71,4
	Мастіет Форте	4	100	8	100	4	100	8	100
	Мастидев Форте	4	100	9	100	4	100	9	100
	Мастилекс	3	100	5	100	3	100	5	100
	Біофлок LC	3	100	6	100	2	66,7	4	66,7
Дослід, n = 7	Фагомаст	7	100	15	100	5	71,4	11	73,3

Таблиця 2

Тривалість лікування корів за клінічного маститу бактеріофаговим препаратом “Фагомаст”

Групи тварин	Препарат, який застосовували	Тривалість лікування, діб	Тривалість вибракування молока, діб (згідно з інструкцією)
Контроль, n = 17	Пенікан П	5,5	8
	Мастіет Форте	5	9
	Мастидев Форте	5	9
	Мастилекс	6	9
	Біофлок LC	5,5	8
Дослід, n = 7	Фагомаст	5	6

З даних табл. 2 видно, що в середньому курс лікування препаратами на основі антибіотиків становив 5–6 діб, а фаговим препаратом 5 діб, це вказує на те, що вірогідної різниці немає. Проте встановлено, що період часу вибракування молока за лікування препаратами з вмістом антибіотиків після останнього введення засобу становив в середньому 3–4 доби, загалом – 8–19 діб від початку лікування. Тобто, у цей період часу молоко не використовувалося для реалізації на переробку, водночас за лікування маститу фаговим препаратом вибракування молока було тільки протягом періоду позитивної реакції з мастидином (3–5 діб). Це вказує на те, що під час лікування фагами значно скорочується час вибракування молока, що позитивно впливає на ефективність лікування в цілому.

Дослідження фаготерапії *in vivo* проведені вченими (Breynе, 2017; Teng et al., 2022) також показали обнадійливі результати. Так, наприклад, дослідниками було проведено оцінку ефективності фагового коктейлю проти золотистого стафілококу на моделі мишей. Тваринам попередньо внутрішньоцистернально вводили *S. aureus* N305 (ATCC 29740), який виділений від корів з ознаками маститу та зазвичай використовується при експериментальних дослідженнях. Фаговий коктейль вводили тим же шляхом через 4 години після *S. aureus*. Спостереження за загальними макроскопічними та гістопатологічними змінами

та кількісним визначенням КЧО продемонстрували, що лікування фаговим коктейлем значно поліпшило патологію маститу та зменшило кількість бактерій. Оцінка фагового титру показала, що випробуваний фаговий коктейль був здатний підтримувати високі внутрішньоцистернальні титри фага без системного поширення (Breynе, 2017). Також встановлено, що фаг 4086-1 значно зменшував кількість золотистого стафілококу в молочної залозі. Даний факт підтверджений результатами патологічного аналізу, який продемонстрував, що бактеріофаги знизили щільність бактеріальної популяції до рівня, який може дозволити імунній системі господаря захиститися та очистити організм від інфекції (Teng et al., 2022). Також доведено, що *ΦSA012* і *ΦSA039* мають літичний ефект у широкому діапазоні штамів *S. aureus*, виділених з молока маститних корів. Використання коктейлю цих фагів знижує проліферацію золотистого стафілококу в молочних залозах (Iwano et al., 2018).

Таким чином, підсумовуючи проведені дослідження, варто зазначити, що ефективність лікування клінічного стафілококового маститу бактеріофаговим препаратом “Фагомаст” загалом не поступається традиційним методам лікування із застосуванням препаратів-антибіотиків. Однак значною перевагою під час фаготерапії маститу є значно менший термін вибракування молока за рахунок відсутності у ньому залишкових кількостей антибіотиків.

Висновки

Ефективність лікування клінічної форми стафілококового маститу за допомогою внутрішньоцистернальних протимаститних препаратів з вмістом антибіотиків становила від 66,7 до 100 %, а за допомогою бактеріофагового препарату Фагомаст – 71,4 %. Період часу, протягом якого відбувається вибраковування молока, під час лікування клінічного маститу препаратом Фагомаст був у середньому в 1,5 раза меншим, ніж за лікування такого маститу препаратами з вмістом антибіотиків. Отже, використання препарату Фагомаст у схемі лікування стафілококового маститу є актуальним і перспективним.

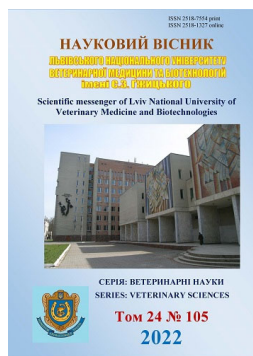
Відомості про конфлікт інтересів

Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Barbu, E. M., Cady, K. C., & Hubby, B. (2016). Phage therapy in the era of synthetic biology. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 8(10), a023879. DOI: 10.1101/cshperspect.a023879.
- Breyne, K., Honaker, R. W., Hobbs, Z., Richter, M., Żaczek, M., Spangler, T., ... & Mokres, L. (2017). Efficacy and safety of a bovine-associated *Staphylococcus aureus* phage cocktail in a murine model of mastitis. *Frontiers in microbiology*, 8, 2348. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02348.
- Capparelli, R., Parlato, M., Borriello, G., Salvatore, P., & Iannelli, D. (2007). Experimental phage therapy against *Staphylococcus aureus* in mice. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(8), 2765–2773. DOI: 10.1128/AAC.01513-06.
- Chan, B. K., Abedon, S. T., & Loc-Carrillo, C. (2013). Phage cocktails and the future of phage therapy. *Future microbiology*, 8(6), 769–783. DOI: 10.2217/fmb.13.47.
- Geng, H., Zou, W., Zhang, M., Xu, L., Liu, F., Li, X., Wang, L., & Xu, Y. (2020). Evaluation of phage therapy in the treatment of *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in mice. *Folia Microbiol.* 65, 339–351. DOI: 10.1007/s12223-019-00729-9.
- Gomes, F., & Henriques, M. (2016). Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches. *Current microbiology*, 72(4), 377–382. DOI: 10.1007/s00284-015-0958-8.
- Górski, A., Jończyk-Matysiak, E., Łusiak-Szelachowska, M., Międzybrodzki, R., Weber-Dąbrowska, B., & Borysowski, J. (2017). The potential of phage therapy in sepsis. *Frontiers in immunology*, 8, 1783. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01783.
- Horiuk, Y. V., Havrylianchyk, R. Y., Horiuk, V. V., Kukhtyn, M. D., Stravskyy, Y. S., & Fotina, H. A. (2018a). Comparison of the minimum bactericidal concentration of antibiotics on planktonic and biofilm forms of *Staphylococcus aureus*: Mastitis causative agents. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 9(6), 616–622.
- Horiuk, Y. V., Kukhtyn, M. D., Perkiy, Y. B., & Horiuk, V. V. (2018b). Distribution of main pathogens of mastitis in cows on dairy farms in the western region of Ukraine. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 20(83), 115–119. DOI: 10.15421/nvlvet8322.
- Horiuk, Y., Kukhtyn, M., Salata, V., & Horiuk, V. (2020). Species composition and methicillin resistance of staphylococci taken on dairy farms. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(97), 13–19. DOI: 10.32718/nvlvet9703.
- Iwano, H., Inoue, Y., Takasago, T., Kobayashi, H., Furusawa, T., Taniguchi, K., ... & Tamura, Y. (2018). Bacteriophage ΦSA012 has a broad host range against *Staphylococcus aureus* and effective lytic capacity in a mouse mastitis model. *Biology*, 7(1), 1–13. DOI: 10.3390/biology7010008.
- Kukhtyn, M. D., Kovalenko, V. L., Horyuk, Y. V., Horyuk, V. V., & Stravskyy, Y. S. (2016). Bacterial biofilms formation of Cattle mastitis pathogens. *Journal for veterinary medicine, biotechnology and biosafety*, 2(4), 30–32.
- Kurtyak, B. M., Boyko, P. K., Boyko, O. P., Sobko, G. V., Romanovych, M. S., Pundyak, T. O., Mandygra, Yu. M., & Gutyj, B. V. (2021). Autogenous vaccines are an effective means of controlling the epizootic process of mastitis in cows. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11 (3), 145–152. doi: 10.15421/2021_157.
- Moelling, K., Broecker, F., & Willy, C. (2018). A wake-up call: we need phage therapy now. *Viruses*, 10(12), 688. DOI: 10.3390/v10120688.
- Sharun, K., Dhama, K., Tiwari, R., Gugjoo, M. B., Iqbal Yattoo, M., Patel, S. K., & Chaicumpa, W. (2021). Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 41(1), 107–136. DOI: 10.1080/01652176.2021.1882713.
- Silva, S. R., Araujo, J. P., Guedes, C., Silva, F., Almeida, M., & Cerqueira, J. L. (2021). Precision technologies to address dairy cattle welfare: focus on lameness, mastitis and body condition. *Animals*, 11(8), 2253. DOI: 10.3390/ani11082253.
- Simmons, M., Drescher, K., Nadell, C. D., & Bucci, V. (2018). Phage mobility is a core determinant of phage–bacteria coexistence in biofilms. *The ISME journal*, 12(2), 531–543. DOI: 10.1038/ismej.2017.190.
- Steele, N., & McDougall, S. (2014). Effect of prolonged duration therapy of subclinical mastitis in lactating dairy cows using penethamate hydriodide. *N. Z. Vet. J.*, 62, 38–46. DOI: 10.1080/00480169.2013.830350.
- Tashakkori, N., Khoramian, B., Moghadam, M. F., Heidarpour, M., Mashayekhi, K., & Farzaneh, N. (2020). Evaluating the effectiveness of two bovine mastitis vaccines and their influences on oxidant and antioxidant capacities of milk. *Tropical animal health and production*, 52(3), 1493–1501. DOI: 10.1007/s11250-019-02156-x.
- Teng, F., Xiong, X., Zhang, S., Li, G., Wang, R., Zhang, L., ... & Qiao, X. (2022). Efficacy Assessment of Phage Therapy in Treating *Staphylococcus aureus*-Induced Mastitis in Mice. *Viruses*, 14(3), 620. DOI: 10.3390/v14030620.

- Titze, I., Lehnherr, T., Lehnherr, H., & Krömker, V. (2020). Efficacy of bacteriophages against *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis. *Pharmaceuticals*, 13(3), 35. DOI: 10.3390/ph13030035.
- Zhang, B., Yu, P., Wang, Z., & Alvarez, P. J. (2020). Hormetic promotion of biofilm growth by polyvalent bacteriophages at low concentrations. *Environmental Science & Technology*, 54(19), 12358–12365. DOI: 10.1021/acs.est.0c03558.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10514

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.995:636.92

Comparison of different staining methods for the nematode *Strongyloides papillosus* isolated from rabbits

Y. V. Duda✉

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 03.02.2022

Received in revised form

03.03.2022

Accepted 04.03.2022

Dnipro State Agrarian and
Economic University, Yefremov
Str., 25, Dnipro, 49027, Ukraine.
Tel.: +38-067-781-54-69
E-mail: dudajulia1976@gmail.com

Duda, Y. V. (2022). Comparison of different staining methods for the nematode *Strongyloides papillosus* isolated from rabbits. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 94–101. doi: 10.32718/nvlvet10514

*Strongyloidiasis in rabbits is a disease caused by *Strongyloides papillosus* helminths, manifested by skin inflammation, diarrhea, weight loss, and stunting of animals in growth and development. Confirmation of invasion is carried out mainly by required methods of helminthoovoscopy and helmintholaryoscopy. The most well-known methods of helmintholaryoscopic diagnosis of feces for strongyloidiasis are the method of D. Baermann (1917) and its modifications according to V. I. Shilnikov (1983), the method using the “asterisk” device (according to V. F. Nikitin and T. Pavlasek, 1988), the method of coprohelmintho-laryoscopic rings (according to S. I. Ponomar, N. M. Soroka, 2007), the method of T. I. Popova, standardized by S. I. Ponomar (2003). There are no laboratory methods with 100 % reliability at the present stage. Therefore, our studies on improving the lifelong helminthocoprological diagnosis of strongyloidiasis in rabbits are relevant. Our work aimed to compare different methods of staining the pathogen *S. papillosus*. Laboratory studies were carried out in the laboratories of the Department of Parasitology and Veterinary Sanitary Expertise of the Dnipro State Agrarian and Economic University. For staining *S. papillosus*, 20 dyes were used: 1 % alizarin red, 1 % brilliant blue, Turk's solution, 1 % brilliant green, 1 % methylene blue, 1 % amido black 10B, 1 % eosin, Ziehl's solution, Lugol's solution, 1 % carbolic gentian violet, Romanowsky-type, 1 % Sudan, 1 % bromophenol blue, 1 % orange G, 1 % bromocresol green, 1 % safranin, Zadorozhny-Dozmorov's-type, Mikhin's-type, Muromtsev's-type. We have proposed 20 dyes for staining the internal organs of larvae and free-living males and females pathogens of *Strongyloides* without or with temperature fixation. Live pathogens *S. papillosus*, without temperature fixation, pass only Lugol's and safranin's solutions. All other dyes showed the highest staining, but only when the preparation was heated for 2–3 seconds to 60 °C. However, the dyes showed different degrees of coloration. Bromocresol green stained the walls of the internal organs of the helminth. Namely, the nematodes acquired a green color, and the membranes of a part of the esophagus and intestines became dark green. During microscopy, this allowed accurate identification and differentiation into larvae and free-living males and females of *S. papillosus* and simplified their counting.*

Key words: larva, free-living male and female, *Strongyloides papillosus*, dye, rabbits.

Порівняння різних методів забарвлення нематоди *Strongyloides papillosus* виділеної від кролів

Ю. В. Дуда✉

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Стронгілоїдоз кролів – хвороба, спричинена гельмінтами *Strongyloides papillosus*, що проявляється запаленням шкіри, проносами, схудненням, відставанням тварин у рості й розвитку. Підтвердження інвазії здійснюють переважно зажиттєвими методами гельмінтоовоскопії і ларвоскопії. Найбільш відомими методами гельмінтоларвоскопічної діагностики фекалій за стронгілоїдозу є

метод Д. Бермана (1917) та його модифікації за В. І. Шильниковим (1983), метод за допомогою пристрою “зірочка” (за В. Ф. Нікітіним і Т. Павласеком, 1988), метод копрогельмінто-ларвоскопічних кілець (за С. І. Пономарем, Н. М. Сорокою, 2007), метод Т. І. Попової, стандартизований С. І. Пономарем (2003). На сучасному етапі немає лабораторних методів, які володіють 100 % надійністю. Тому, проведені нами дослідження з поліпшення способу зажиттєвої гельмінтокопрологічної діагностики стронгілоїдозу кролів є актуальними. Метою даного дослідження було порівняння різних методів забарвлення збудника *S. papillosus*. Лабораторні дослідження проводили в лабораторіях кафедри паразитології та ветсанекспертизи Дніпровського державного агрономічного університету. Для фарбування *S. papillosus* брали 20 барвників: 1 % алізаровий червоний, 1 % діамантовий синій, розчин Тюрка, 1 % діамантовий зелений, 1 % метиленовий синій, 1 % амідол чорний 10В, 1 % еозин, фуксин Циля, розчин Люголя, 1 % карболовий генціановіолет, фарба за Романовським, 1 % судан, 1 % бромфеноловий синій, 1 % помаранчевий G, 1 % бромкрезоловий зелений, 1 % сафранін, фарба Задорожнього-Дозморова, фарба по Міхіну, фарба по Муромцеву. Нами запропоновано 20 барвників для фарбування внутрішніх органів личинок і вільноживучих самців та самок стронгілоїдесів з подальшою фіксацією фарби шляхом короткочасного підігрівання зразку до 60 °C, та без її фіксації. Живі збудники *S. papillosus*, без температурної фіксації, пропускають лише розчини Люголя та сафраніну. Вищий ступінь фарбування показали всі інші барвники, але тільки за умови підігріву препарату 2–3 секунди до 60 °C. Разом з тим фарби показали різний ступінь забарвлення. Бромкрезоловий зелений чітко фарбував стінки внутрішніх органів гельмінтів, самі нематоди набували зеленого кольору, а оболонки частини травоводу (бульбуса) та кишечника – темно-зеленого. Це дозволяло провести точну ідентифікацію та диференціацію на личинки і вільноживучі самці та самки *S. papillosus* під час мікроскопії, тим самим спростити їх підрахунок.

Ключові слова: личинка, вільноживучі самець та самка, *Strongyloides papillosus*, барвник, кролі.

Вступ

Стронгілоїдоз кролів – хвороба, спричинена гельмінтами *Strongyloides papillosus* (Zeder, 1809), родини *Strongyloididae*, які негативно впливають на організм, що проявляється запаленням шкіри, проносами, схудненням, відставанням тварин у рості й розвитку (Taira et al., 1991; Nakamura & Motokawa, 2000; Kobayashi & Horii, 2008; Thamsborg et al., 2017; Duda et al., 2018; Prus & Duda, 2021). В даний час розроблена велика кількість методів діагностики інвазійних хвороб кролів, але немає простого, доступного і надійного методу діагностики (Huhosian, 2018).

Постановка діагнозу на стронгілоїдоз неможлива без проведення комплексних досліджень, оскільки клінічні ознаки за нього не є патогномонічними (Derkachev et al., 2014; Novitska & Semenko, 2015; Huhosian, 2018; Duda et al., 2020). Підтвердження інвазії здійснюють переважно зажиттєвими методами гельмінтооово- і ларвоскопії (Duda & Kuneva, 2020). Результати гельмінтокопрокопічної діагностики стронгілоїдозу залежать від правильного відбору проб фекалій і їх своєчасного дослідження. На сучасному етапі в паразитологічній практиці для спрощення процесу відбору фекалій, зменшення ризику контамінації з інвазійними елементами та скорочення часу для гельмінтооовоскопії застосовують спеціальні пристрої, такі як: Ovatector, Fecalyzer, Ovassay (Zeeshan et al., 2011; Torgerson et al., 2014). Так, за використання системи “Paraser” Р. Т. Сафіуллін (2008) встановив, що вона є ефективна у 60–75 %, тимчасом як флотаційний метод Фюллеборна – у 90–95 % (Safiullin et al., 2008).

Дослідження проб фекалій на наявність стронгілоїдозних яєць проводять такими флотаційними методами: за Фюллеборном, Дарлінгом, Г. О. Котельниковим і В. М. Хреновим, Е. В. Калантаряном, А. І. Щербовичем (Kotel'nikov, 1984; Ponomar et al., 2011), І. С. Дахном (Dakhno & Lazorenko, 2010), В. О. Євстаф'євою (Yevstafieva, 2007). З метою визначення інтенсивності інвазії проводять підрахунок об'єму дослідного матеріалу чи площі дослідної поверхні за В. Н. Трача (Trach, 1992), Є. В. Ляшенко, Х. М. Шендрик, Н. М. Сороки (Liashchenko et al., 2012) або застосовують спеціальні лічильні камери Мак Мастера

(Zajac & Conboy, 2012), лічильна камера БДАУ за С. І. Пономарем (Ponomar et al., 2011), Ю. Ю. Довгія (Dovhii et al., 2004), Галат-Євстаф'євої (Ievstafieva et al., 2007).

Найбільш відомим і універсальним методом гельмінтоларвоскопічної діагностики фекалій за стронгілоїдозу є метод Д. Бермана (1917) та його модифікації за В. І. Шильниковим (1983) (Kotel'nikov, 1984; Ponomar et al., 2011; Prykhodko et al., 2017). Ряд авторів з метою виділення личинок пропонують використовувати спеціальні тиглі або поліпропіленові стаканчики (Korchan & Korchan, 2011), закриті прозорі пластикові коробочки (типу чашок Петрі) (Ponomar et al., 2008; 2010). Відомі способи виділення личинок стронгілоїдесів за допомогою пристрою “зірочка” (за В. Ф. Нікітіним і Т. Павласеком, 1988), метод копрогельмінто-ларвоскопічних кілець (за С. І. Пономарем та Н. М. Сорокою, 2007) (Ponomar et al., 2008), метод Т. І. Попової, стандартизований С. І. Пономарем (2003) (Ponomar et al., 2015). При виконанні досліджень за методом Т. І. Попової неможливо визначити концентрацію стронгілоїдозних личинок у досліджуваному матеріалі. З урахуванням цього С. І. Пономарем (2003) були зроблені доповнення до цієї методики.

Таким чином, на сучасному етапі немає лабораторних методів дослідження на стронгілоїдоз кролів, які володіють 100 % надійністю. Тому дослідження з поліпшення способу зажиттєвої гельмінтокопрокопічної діагностики стронгілоїдозу кролів є актуальними.

Метою даного дослідження було порівняння різних методів забарвлення збудника стронгілоїдозу кролів, застосовуючи різні фарби, які дозволяли проводити чітку ідентифікацію, диференціацію та визначення життєздатності *S. papillosus*.

Матеріал і методи досліджень

Лабораторні дослідження проводили в лабораторії кафедри паразитології та ветсанекспертизи Дніпровського державного агрономічного університету.

Нематод *Strongyloides papillosus* отримували з фекалій кролів. Для фарбування *S. papillosus* брали 20 барвників, які попередньо готували таким чином:

1) 1 % алізаровий червоний (0,1 г алізаровий червоний в 10 мл дистильованої води); 2) 1 % діамантовий синій (0,1 г діамантовий синій в 10 мл дистильованої води); 3) розчин Тюрка (метиленовий синій в 3 % розчині оцтової кислоти); 4) 1 % діамантовий зелений (0,1 г діамантовий зелений в 10 мл 60 % етилового спирту); 5) 1 % метиленовий синій (0,1 г метиленовий синій в 10 мл 60 % етилового спирту); 6) 1 % амідочорний 10В (0,1 г амідочорний 10В в 10 мл дистильованої води); 7) 1 % еозин (0,1 г еозин в 10 мл дистильованої води); 8) фуксин Ціля (10 мл насиченого спиртового розчину фуксину, 90 мл 5 % карболової кислоти); 9) розчин Люголя (5 частин йоду, 10 частин йодиду калію і 85 частин води); 10) 1 % карболовий генціанвіолет (0,1 г карболовий генціанвіолет в 10 мл дистильованої води); 11) фарба за Романовським (0,1 % розчину Азура і 0,1 % розчину еозину); 12) 1 % судан (0,1 г судан в 10 мл дистильованої води); 13) 1 % бромфеноловий синій (0,1 г бромфеноловий синій в 10 мл дистильованої води); 14) 1 % помаранчевий G (0,1 г помаранчевий G в 10 мл дистильованої води); 15) 1 % бромкрезоловий зелений (0,1 г бромкрезоловий зелений в 10 мл дистильованої води); 16) 1 % сафранін (0,1 г сафранін в 10 мл дистильованої води); 17) фарба Задорожного-Дозморова, розведена 1 : 1 дистильованою водою; 18) фарба по Міхіну, розведена 1 : 1 дистильованою водою; 19) фарба по Муромцеву, розведена 1 : 1 дистильованою водою; 20) фарба по Ребігеру, розведена 1 : 1 дистильованою водою. Досліджувані розчини барвників в об'ємі 0,1 мл додавали в 0,1 мл препарату з вищевказаними нематодами. Експерименти проводили без зміни температури препарату і з нагріванням предметного скла до 60 °С.

Фарба Задорожного-Дозморова – це суміш 0,01 % розчину барвника АЗУР-II і 0,05 % розчину детергенту тритона Х-100. АЗУР-II – це суміш АЗУР-I і метиленового синього в співвідношенні 1 : 1. Фарбу за Муромцевим виготовили таким чином: у 100 мл киплячої води розчинили 5–8 г хімічно чистої бури та додали 2 г метиленового синього. Фарба за Міхіним – це 1 % розчин метиленового блакитного. Фарба за Ребігером готувалась таким чином: 15–20 г генціанвіолету розчиняли в 100 мл 40 % формаліну, відстоювали 8–10 годин за температури 20 °С і фільтрували.

Дослідження проходило таким чином: за допомогою методу виявлення стронгілоїдесів у фекаліях за Т. І. Поповою отримували суміш личинок і вільноживучих самців та самок *S. papillosus*, яку наносили на предметне скло в кількості 0,1 см³, додавали 0,1 см³ розчину барвника. Фарбування зразків кожним барвником здійснювали двома способами: у першому випадку після внесення фарби в зразок перемішували скляною паличкою, накривали покривним скельцем і відразу досліджували під мікроскопом; у другому випадку після внесення барвнику та перемішування скляною паличкою зразки короткочасно, впродовж 2–3 секунд, підігрівали до 60 °С з метою адсорбції нематод фарби, в подальшому накривали покривним скельцем і відразу розглядали під мікроскопом. Після фарбування зразки досліджували під мікроскопом за

збільшення × 100 та × 400 з послідуною мікрофотографією за допомогою цифрової камери мікроскопа CyberLink YouCam 5 Mpix (Китай).

Критерієм для визначення якості фарбування слугували інтенсивність забарвлення частин тіла (головного та хвостового кінців) та органів травної системи (стравохід і кишечник).

Результати та їх обговорення

Ефективність діагностики залежить від точного визначення видової належності паразитів. Ідентифікують збудників проводили за морфологічними особливостями, які не завжди чітко проглядаються, тому іноді до препаратів додають різні розчини барвників (Siddiqui & Berk, 2001; Larsson et al., 2007; DeRosa et al., 2008; Srisuphanunt et al., 2009; Areskog et al., 2014).

Запропонований спосіб життєвої діагностики стронгілоїдозу кролів включає дослідження суміші личинок і вільноживучих самців та самок *S. papillosus*, отриманої шляхом їх виявлення у фекаліях за Т. І. Поповою (Ponomar et al., 2015), та додавання різних барвників з метою фарбування внутрішніх органів нематоди з подальшою фіксацією фарби шляхом короткочасного підігрівання зразку, та без її фіксації.

Для фарбування *S. papillosus* дослідили 20 барвників: алізаровий червоний, діамантовий синій, розчин Тюрка, діамантовий зелений, метиленовий синій, амідочорний 10В, еозин, фуксин Ціля, розчин Люголя, фарбу за Романовським, судан, бромфеноловий синій, помаранчевий G, бромкрезоловий зелений, карболовий генціанвіолет, сафранін, фарбу Задорожного-Дозморова, фарбу за Міхіним, фарбу за Муромцевим, фарбу за Ребігером (табл. 1).

Живі збудники *S. papillosus*, без температурної фіксації, пропускають лише розчини Люголя та сафраніну. При цьому личинки і вільноживучі самці та самки у разі додавання розчину Люголя інтенсивно забарвлюються в яскраво-коричневий колір, їх стравохід і клітини кишечника – у темно-коричневий (рис. 1), а у разі додавання розчину сафраніну фарбується тільки кишечник в яскраво-рожевий колір і має слабкий ступінь забарвлення.

Вищий ступінь фарбування показали всі інші барвники, але тільки за умови підігріву препарату 2–3 секунди до 60 °С. Разом з тим фарби показали різний ступінь забарвлення. Несприйнятливими до забарвлення виявилися досліджувані нематоди розчинами Тюрка, амідочорного 10В, еозину, фарби за Романовським, судану, помаранчевого G. Їхні покриви слабо пропускали діамантовий синій і карболовий генціанвіолет, середнє – алізаровий червоний, сафранін, фарбу Задорожного-Дозморова. Високий ступінь фарбування проявили діамантовий зелений, метиленовий синій, фуксин Ціля, розчин Люголя, бромфеноловий синій, бромкрезоловий зелений, фарба за Міхіним, фарба за Муромцевим, фарба за Ребігером.

Так, у разі використання метиленового синього *S. papillosus* набували інтенсивного яскраво-синього кольору, а темно-синього забарвлення – стравохід та

кишечник (рис. 2 А). З діамантовим зеленим вони мали яскраво-зелене забарвлення всього тіла, темно-зелене – стравоходу і кишечнику (рис. 2 В). При за-

стосуванні фуксину Ціля все тіло збудника забарвлювалось в яскраво-рожевий, травна система – в темно-рожевий колір (рис. 2 С).

Таблиця 1

Результати фарбування *S. papillosus*

Барвник	Інтенсивність забарвлення		Колір забарвлення частин тіла та органи травної системи			
	-t	+t	головного кінця	хвостового кінця	стравоходу	кишечнику
Метиленовий синій	–	+++	яскраво-синій	яскраво-синій	темно-синій	темно-синій
Діамантовий зелений	–	+++	яскраво-зелений	яскраво-зелений	темно-зелений	темно-зелений
Розчин Тюрка	–	–	–	–	–	–
Фуксин Ціля	–	+++	яскраво-рожевий	яскраво-рожевий	темно-рожевий	темно-рожевий
Алізаровий червоний	–	++	блідо-рожевий	блідо-рожевий	рожевий	рожевий
Амідо чорний 10В	–	–	–	–	–	–
Еозин	–	–	–	–	–	–
Діамантовий синій	–	+	яскраво-синій	яскраво-синій	темно-синій	темно-синій
Розчин Люголя	+++	+++	світло-коричневий	яскраво-коричневий	темно-коричневий	темно-коричневий
Фарба за Романовським	–	–	–	–	–	–
Судан	–	–	–	–	–	–
Бромфеноловий синій	–	+++	яскраво-синій	яскраво-синій	темно-синій	темно-синій
Помаранчевий G	–	–	–	–	–	–
Бромкрезоловий зелений	–	+++	світло-зелений	зелений	зелений, стінка бульбуса – темно-зелена	зелений, стінка – темно-зелена
Карболовий генціанвіолет	–	+	світло-фіолетовий	світло-фіолетовий	фіолетовий	фіолетовий
Сафранін	+	++	яскраво-рожевий	яскраво-рожевий	темно-рожевий	темно-рожевий
Фарба Задорожного-Дозморова	–	++	яскраво-синій	яскраво-синій	темно-синій	темно-синій
Фарба за Міхінім	–	+++	яскраво-синій	яскраво-синій	темно-синій	темно-синій
Фарба за Муромцевим	–	+++	яскраво-синій	яскраво-синій	темно-синій	темно-синій
Фарба за Ребігером	–	+++	яскраво-синій	яскраво-синій	темно-синій	темно-синій

Примітка: -t – без фіксації температурою, +t – з фіксацією температурою; ступінь забарвлення +++ – інтенсивне, ++ – середнє, + – слабке, – – не зафарбоване

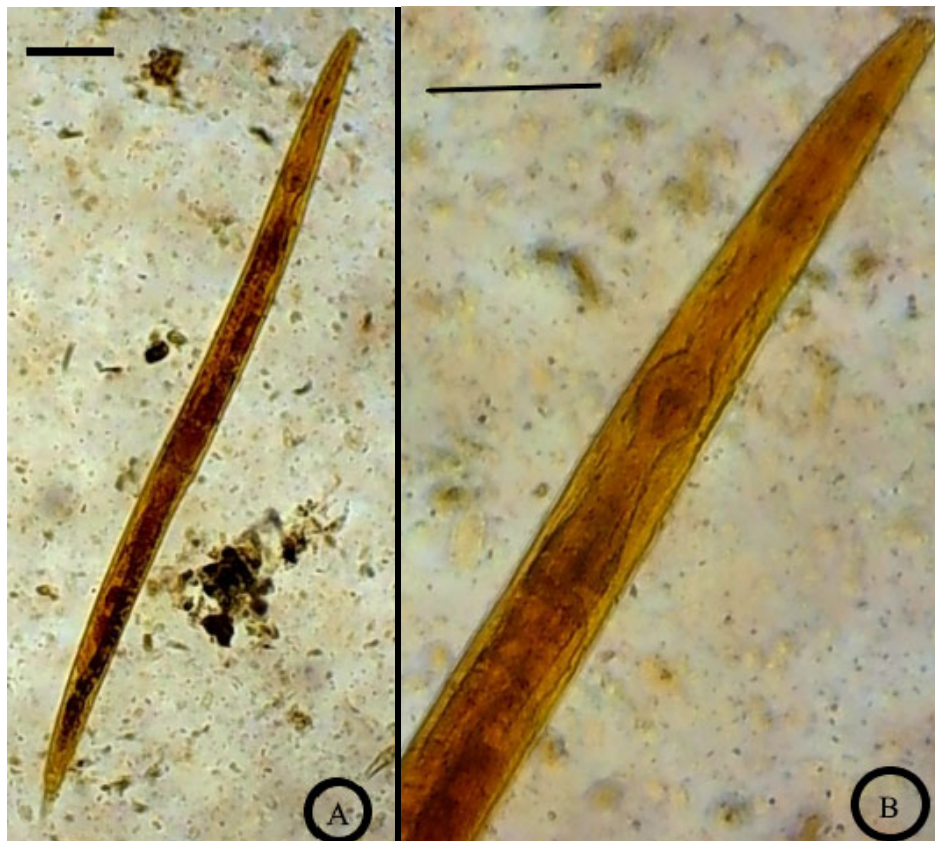


Рис. 1. Результати фарбування *S. papillosus* розчином Люголя (А) x100, (В) x400; bar = 50 μm

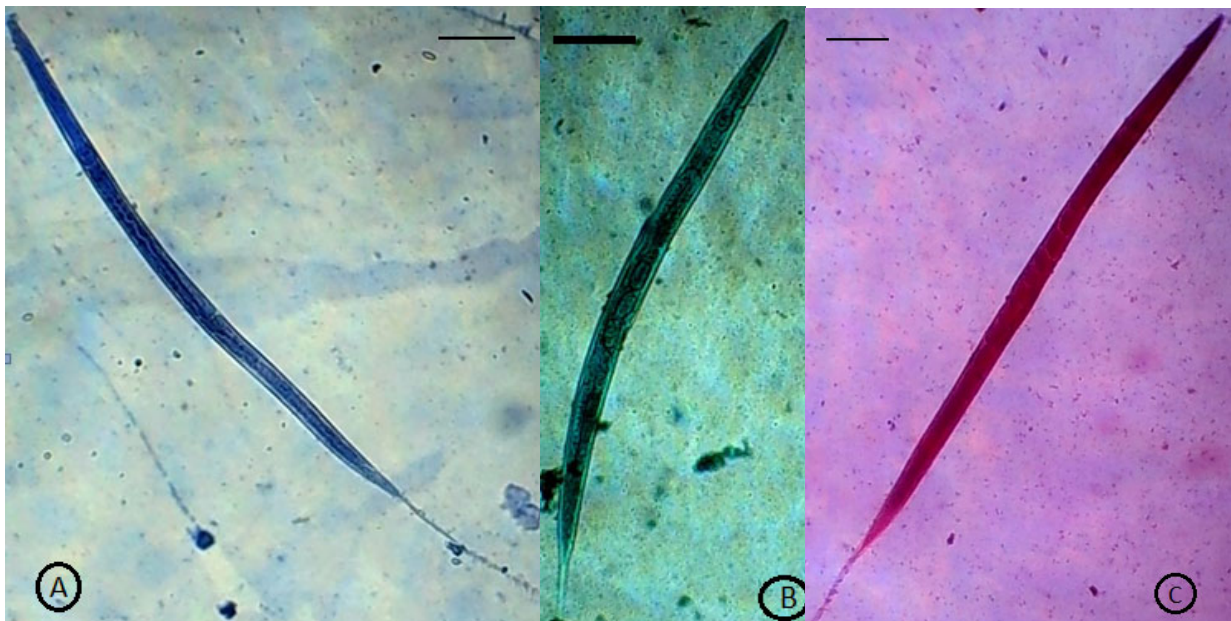


Рис. 2. Результати фарбування *S. papillosus* з температурною фіксацією метиленовим синім (А), діамантовим зеленим (В), фуксином Ціля (С); bar = 50 μ m

Після обробки алізарином червоним та нагрівання препарату *S. papillosus* набували блідо-рожевого кольору, органи травної системи – темно-рожевого (рис. 3 А). За використання діамантового синього вони мали яскраво-синє забарвлення всього тіла, тем-

но-синій колір стравоходу і кишечника (рис. 3 В). При використанні бромкрезолового зеленого нематоди набували зеленого кольору, а оболонки частини стравоходу (бульбуса) та кишечника – темно-зеленого (рис. 3 С).

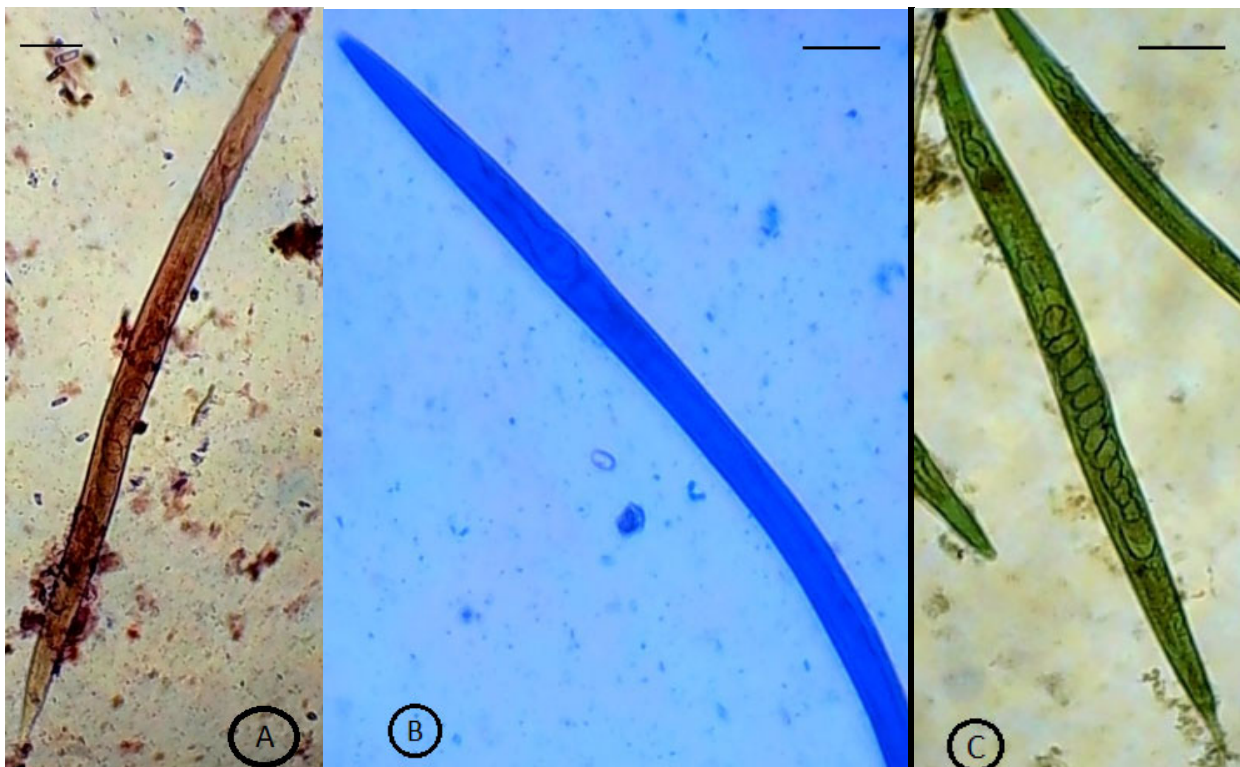


Рис. 3. Результати фарбування *S. papillosus* з температурною фіксацією алізариновим червоним (А), діамантовим синім (В), бромкрезоловим зеленим (С); bar = 50 μ m

При застосуванні карболового генціанвіолету тіло личинок і вільноживучих самців та самок *S. papillosus* мало світло-фіолетове, а стравохід і кишечник – фіолетове забарвлення (рис. 4 А). Якщо збудника фарбу-

вали сафраніном, колір всього тіла ставав яскраво-рожевим, а стравохід і кишечник – темно-рожевим (рис. 4 В).

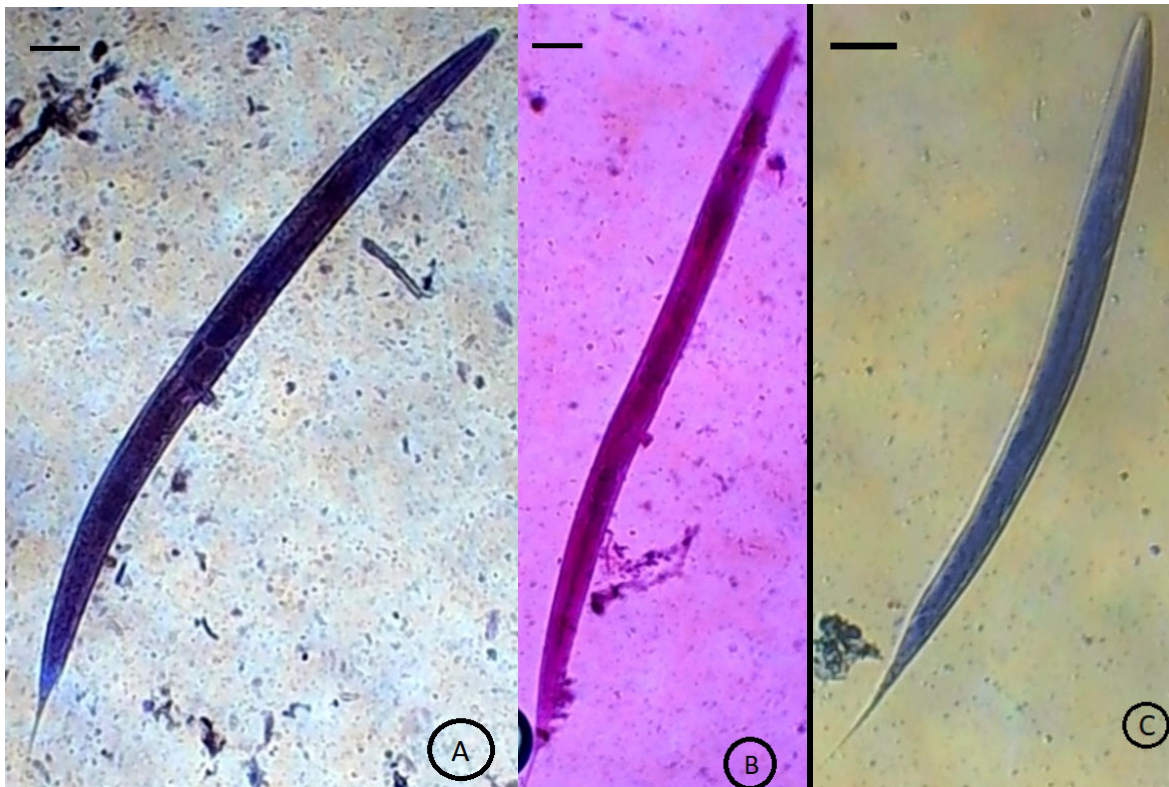


Рис. 4. Результати фарбування *S. papillosus* з температурною фіксацією карболовим генціанвіолетом (А), сафраніном (В), фарбою Задорожнього-Дозморова (С); bar = 50 μ m

В експерименті ми також використовували готові фарби Задорожнього-Дозморова (рис. 4 С), за Рома-

новським, за Міхіним (рис. 5 А), за Муромцевим (рис. 5 В), за Ребігером (рис. 5 С).

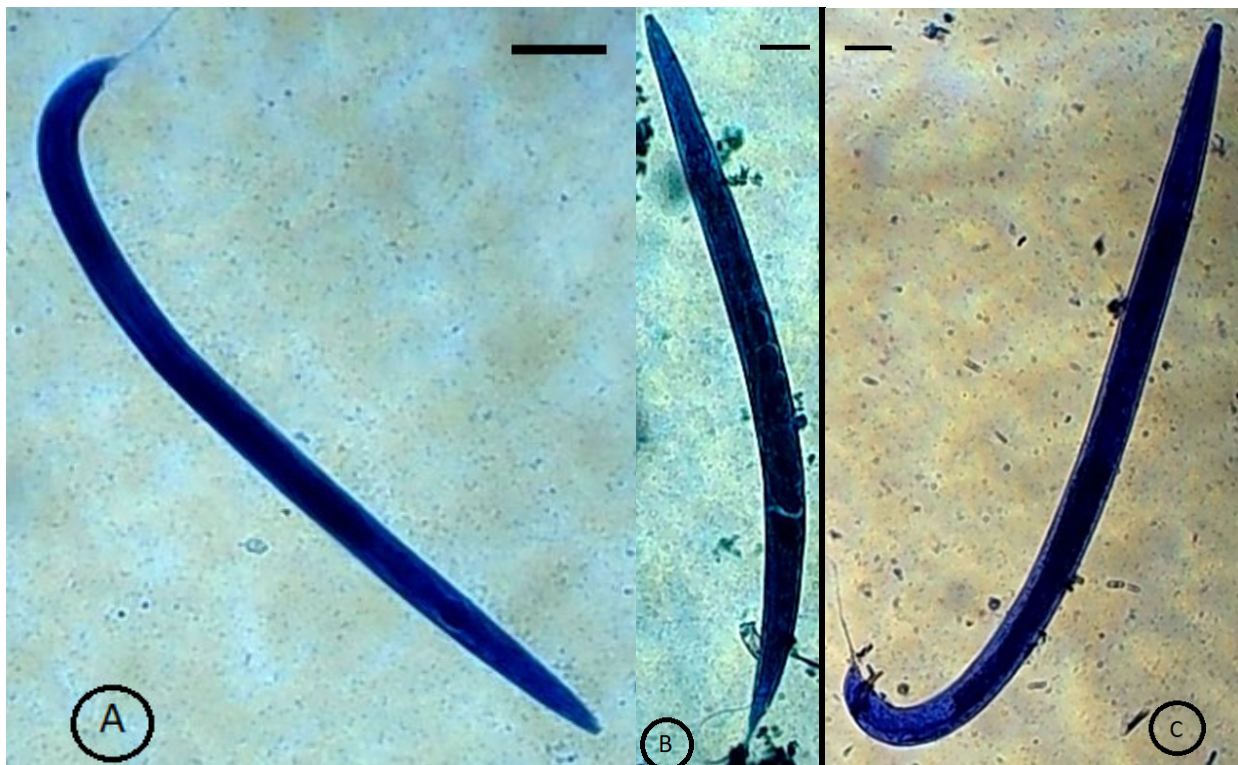


Рис. 5. Результати забарвлення *S. papillosus* з температурною фіксацією фарбою за Міхіним (А), фарбою за Муромцевим (В), фарбою за Ребігером (С); bar = 50 μ m

До складу фарби Задорожнього-Дозморова входить розчин барвника азури-ІІ та розчин детергенту тритона Х-100; за Романовським – азури-ІІ та еозин; за Міхіним – розчин метиленового блакитного; за Муромцевим – бура та метиленовий синій; за Ребігером – генціанвіолет і розчин формаліну. Використовуючи ці фарби, окрім фарби за Романовським, тільки у разі підігрівання препаратів тіло *S. papillosus* забарвлювалося в яскраво-синій колір, а стравохід і кишечник – у темно-синій.

О. О. Войко та співавтори (Boyko et al., 2016) проводили порівняння різних методів фарбування тільки личинок *S. papillosus*, де використовували лише 14 барвників. Нами запропоновано для фарбування личинок і вільноживучих самців та самок стронгілоїдесів 20 барвників, з яких бромкрезоловий зелений чітко фарбував стінки внутрішніх органів гельмінта. Це дозволяло провести точну ідентифікацію та диференціацію *S. papillosus*.

Встановлено, що він забезпечує високий ступінь видимості личинок і вільноживучих самців та самок стронгілоїдесів під час мікроскопії, при цьому спрощує підрахунок і визначення стадії розвитку *S. papillosus* та дозволяє встановити остаточний діагноз, визначити інтенсивність стронгілоїдозної інвазії і встановлювати ефективність лікувально-профілактичних заходів.

Висновки

Таким чином, із 20 запропонованих барвників лише розчини Люголя та сафраніну пропускають для фарбування внутрішніх органів живі збудники *S. papillosus*. Всі інші барвники показали різний ступінь фарбування, але тільки за умови підігріву препарату 2–3 секунди до 60 °С. Із них чітко фарбував стінки внутрішніх органів гельмінта лише бромкрезоловий зелений, що спрощує підрахунок і визначення стадії розвитку *S. papillosus*.

Перспективи подальших досліджень. Оновлення морфометричних параметрів личинок і вільноживучих самців та самок *Strongyloides papillosus*.

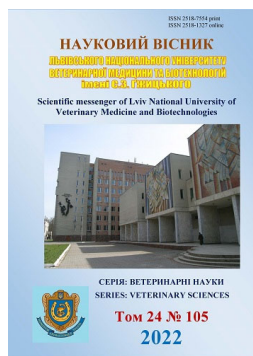
Відомості про конфлікт інтересів

Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Areskog, M., Sollenberg, S., Engström, A., Samson-Himmelstjerna, G., & Höglund, J. (2014). A controlled study on gastrointestinal nematodes from two Swedish cattle farms showing field evidence of ivermectin resistance. *Parasites and Vectors*, 7, 13. DOI: 10.1186/1756-3305-7-13.
- Boyko, O. O., Duda, Y. V., Pakhomov, O. Y., & Brygadyrenko, V. V. (2016). Comparative analysis of different methods of staining the larvae *Haemonchus contortus*, *Mullerius sp.* (Nematoda, Strongylida) and *Strongyloides papillosus* (Nematoda, Rhabditida). *Folia Oecologica*, 43(2), 129–137. URL: <https://dspace.dsau.dp.ua/bitstream/123456789/119/1/Boyko%205.pdf>.
- Dakhno, I. S., & Lazorenko, L. M. (2010). Efektyvnist koproovoskopichnykh metodiv diahnozyki nematodoziv u konei. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterinarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S. Z. Gzhytskoho. Seriya: Veterynarni nauky*, 12(2(44)), 71–73 (in Ukrainian).
- Derkachev, D. Ju., Orobev, V. A., & Zaichenko, I. V. (2014). Sravnitel'naja ocenka jeffektivnosti kolichestvennykh metodov koproovoskopii. *Rossijskij parazitologicheskij zhurnal*, 3, 68–73. URL: <https://vniigis.elpub.ru/jour/article/view/258/261> (in Russian).
- DeRosa, A. A., Chirgwin, S. R., Williams, J. C., & Klei, T. R. (2008). Isolation and characterization of a gene encoding carbonic anhydrase from *Ostertagia ostertagi* and quantitative measurement of expression during in vivo exsheathment. *Veterinary Parasitology*, 154(1-2), 58–66. DOI: 10.1016/j.vetpar.2008.02.021.
- Dovhii, Yu., Vakhovskyi, I., Didkivskiy, O., Zhuravlova, O., & Zhuravlov, V. (2004). Patent Ukrainy № 58688. Kyiv: Ukrainskyi instytut intelektualnoi vlastnosti. URL: <https://uapatents.com/?search=58688&type=number> (in Ukrainian).
- Duda, Y. V., & Kuneva, L. V. (2020). Diagnostika i sezonnaja dinamika strongiloidoza u krolivov. *Uchenye Zapiski uchrezhdenija obrazovanija Vitebskoj ordena "Znak pocheta" gosudarstvennoj akademii veterinarnoj medicyny*, 56(1), 33–38. URL: <https://dspace.dsau.dp.ua/handle/123456789/3112> (in Russian).
- Duda, Y. V., Kunieva, L. V., Shevchyk, R. S., & Taibov, E. E. (2018). Vplyv *Strongyloides papillosus* na morfolohichni pokaznyky krovi kroliv. *Vynakhidnytstvo ta ratsionalizatorstvo u medytsyni, biolohii ta ekolohii: Mizhnarodna naukovo-praktychna konferentsiia studentiv ta molodykh vchenykh, Dnipro, 19–20 veresnia 2018: tezy dopovidi, Dnipro, 48–49*. URL: <https://dspace.dsau.dp.ua/handle/123456789/2864> (in Ukrainian).
- Duda, Y. V., Prus, M. P., & Lytvynenko, O. P. (2020). Naukovo-praktychni rekomendatsii z diahnozyki ta zakhodiv borotby z osnovnymy shlunkovo-kyshkovymy parazytozamy kroliv, Dnipro (in Ukrainian).
- Huhosian, Y. A. (2018). Stronhiloidoz konei (poshyrennia, diahnozyka, zakhody borotby): avtoref. na zdobuttia nauk. stupenia kand. vet. nauk: 16.00.11. Lviv. nats. un-t vet. medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Gzhytskoho, Lviv URL: https://lvet.edu.ua/images/step/2018/04/25/avtoref_huhosjan.pdf (in Ukrainian).
- Ievstafieva, V. O., Halat, V. F., & Halat, M. V. (2007). Zastosuvannia lichylnoi kamery dlia zazhyttievoi diahnozyki invaziynykh khvorob. *Visnyk Derzhavnoho ahroekolohichnoho universytetu*, 2(19), 260–265. URL: http://ir.znau.edu.ua/bitstream/123456789/6578/1/VZ_NAU_2007_2_1_260-265.pdf (in Ukrainian).
- Kobayashi, I., & Horii, Y. (2008). Gastrointestinal motor disturbance in rabbits experimentally infected with *Strongyloides papillosus*. *Veterinary Parasitology*, 158(1-2), 67–72. DOI: 10.1016/j.vetpar.2008.08.017.

- Korchan, L. M., & Korchan, M. I. (2011). Porivnialna efektyvnist okremykh helmintarvoskopichnykh sposobiv diahnostryky lehenevykh nematodoziv u dribnoi rohatoi khudoby. Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii. Poltava, 3, 117–119 URL: <https://www.pdau.edu.ua/sites/default/files/visnyk/2011/03/117.pdf> (in Ukrainian).
- Kotel'nikov, G. A. (1984). Gel'mintologicheskie issledovaniya zhivotnyh i okruzhajushhej sredy. M.: Kolos (in Russian).
- Larsson, A., Dimander, S. O., Waller, A., Ugglä, A., & Höglund, J. (2007). A 3-year field evaluation of pasture rotation and supplementary feeding to control parasite infection in first-season grazing cattle – dynamics of pasture infectivity. Veterinary Parasitology, 145(1-2), 129–137. DOI: 10.1016/j.vetpar.2006.12.005.
- Liashchenko Ye., Shendryk Kh., & Soroka N. (2012). Patent Ukrainy № 69062. Kyiv: Ukrainskyi instytut intelektualnoi vlastnosti. URL: <https://uapatents.com/5-69062-sposib-pidrakhunku-yaehc-gelmintiv-u-fekaliyakh.html> (in Ukrainian).
- Nakamura, Y., & Motokawa, M. (2000). Hypolipemia associated with the wasting condition of rabbits infected with *Strongyloides papillosus*. Veterinary Parasitology, 88(1–2), 147–151. DOI: 10.1016/S0304-4017(99)00194-6.
- Novitska, O. V., & Semenko, O. V. (2015). Zarazni khvoroby kroliv. K: TOV NVP “Interservis” (in Ukrainian).
- Ponomar, S. I., Artemenko, L. P., Lytvynenko, O. P., & Honcharenko, V. P. (2011). Dovidnyk z laboratornykh metodiv diahnostryky invaziynykh khvorob tvaryn. Bila Tserkva (in Ukrainian).
- Ponomar, S. I., Honcharenko, V. P., & Soloviova, L. M. (2010). Dovidnyk z dyferentsiiuvannia zbudnykiv invaziynykh khvorob tvaryn. Kyiv: Ahrarna osvita (in Ukrainian).
- Ponomar, S. I., Soroka, N. M., Lytvynenko, O. P., Antipov, A. A., Honcharenko, V. P., Artemenko, L. P., Nebeshchuk, D., Soloviova, L. M., Palamarchuk, O. V., Nebeshchuk, L. V., & Yerokhina, O. M. (2008). Rekomendatsii shchodo helmintologichnykh doslidzhen tvaryn. Bila Tserkva (in Ukrainian).
- Ponomar, S. I., Soroka, N. M., Nebeshchuk, O. D., Honcharenko, V. P., Semenko, O. V., & Ponomar, Z. S. (2015). Dovidnyk z vyznachennia helmintiv tvaryn. Bila Tserkva: TOV “Offset” (in Ukrainian).
- Prus, M. P., & Duda, Y. V. (2021). Zbudnyky khvorob travnoho kanalu kroliv u skladi parazytosenoziv. Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterinarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S. Z. Gzhytskoho. Seriya: Vetrynarni nauky, 23(102), 93–98. DOI: 10.32718/nvlvet10214 (in Ukrainian).
- Prykhodko, Y. O., Byrka, V. I., Fedorova, O. V. Ponomarenko, V. I., Mazanniy, O. V., Ponomarenko, A. M., & Nikiforova, O. V. (2017). Laboratorna diahnostryka invaziynykh khvorob tvaryn: metod. rekom. Kh. (in Ukrainian).
- Safullin, R. T., Shibitov, S. K., & Kotkov, A. V. (2008). Sistema probopodgotovki dlja parazitologicheskikh issledovaniy «Parasep» i ee aprobatsiya dlja diagnostiki gel'mintozov svinej. Rossijskij parazitologicheskij zhurnal, 3, 81–86. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sistema-probopodgotovki-dlya-parazitologicheskikh-issledovaniy-parasep-i-ee-aprobatsiya-dlya-diagnostiki-gelmintozov-svinej> (in Russian).
- Siddiqui, A. A., & Berk, S. L. (2001). Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. Clinical Infectious Diseases, 33(7), 1040–1047. DOI: 10.1086/322707.
- Srisuphanunt, M., Saksirisampant, W., & Karanis, P. (2009). Detection of *Cryptosporidium* oocysts in green mussels (*Perna viridis*) from shell-fish markets of Thailand. Parasite, 16(3), 235–239. DOI: 10.1051/parasite/2009163235.
- Taira, N., Minami, T., & Smitanon, J. (1991). Dynamics of faecal egg counts in rabbits experimentally infected with *Strongyloides papillosus*. Veterinary Parasitology, 39(3–4), 333–336. DOI: 10.1016/0304-4017(91)90050-6.
- Thamsborg, S., Ketzis, J., Horii, Y., & Matthews, J. (2017). *Strongyloides spp.* infections of veterinary importance. Parasitology, 144(3), 274–284. DOI: 10.1017/S0031182016001116.
- Torgerson, P. R., Paul, M., & Furrer, R. (2014). Evaluating faecal egg count reduction using a specifically designed package “eggCounts” in R and a user friendly web interface. Int. J. Parasitol., 44(5), 299–303. DOI: 10.1016/j.ijpara.2014.01.005.
- Trach, V. N. (1992). Rekomendatsii po primeneniju novogo metoda ucheta jaic gel'mintov i cist prostejshih v fekalijah zhivotnyh. Kiev: Gosagroprom USSR (in Russian).
- Yevstafieva, V. O. (2007). Patent Ukrainy № 26038. Kyiv: Ukrainskyi instytut intelektualnoi vlastnosti. URL: <https://uapatents.com/?search=26038&type=number> (in Ukrainian).
- Zajac, A. M., & Conboy, G. A. (2012). Veterinary clinical parasitology 8th ed. UK John Wiley Sons Ltd.
- Zeeshan, M., Zafar, A., & Saeed, Z. (2011). Use of “Parasep filter fecal concentrator tubes” for the detection of intestinal parasites in stool samples under routine conditions. Indian Journal of Pathology and Microbiology, 54(1), 121–123. DOI: 10.4103/0377-4929.77358.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10515

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:615.36:619:616.981:636.5

Agglutination test and passive hemagglutination test as immunological methods of antigenicity assessment of vaccines against poultry salmonellosis

O. P. Boiko¹, B. M. Kurtyak^{2✉}, O. M. Sen¹, M. S. Romanovych², G. V. Sobko², T. O. Pundyak², P. K. Boiko¹

¹Lesya Ukrainka Volyn National University, Lutsk, Ukraine

²Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

Article info

Received 04.02.2022

Received in revised form

07.03.2022

Accepted 08.03.2022

Lesya Ukrainka Volyn National
University, Prosp. Voli, 13, Lutsk,
43025, Ukraine.

E-mail: inter-dep@eenu.edu.ua

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.

Tel.: +38-097-698-93-71

E-mail: kurtakbohdan@gmail.com

Boiko, O. P., Kurtyak, B. M., Sen', O. M., Romanovych, M. S., Sobko, G. V., Pundyak, T. O., & Boiko, P. K. (2022). Agglutination test and passive hemagglutination test as immunological methods of antigenicity assessment of vaccines against poultry salmonellosis. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 102–108. doi: 10.32718/nvlvet10515

Salmonellosis ranks first among acute intestinal infections with an established pathogen in Ukraine. Poultry products are the most frequent source of human salmonellosis is the highest in both the world and Ukraine. Therefore, Salmonella-specific prevention measures in most countries are an issue of great importance. The study's goal was to compare the levels of antibodies against Salmonella to the enteritidis, Typhimurium, and infantis monoantigens in the serum of poultry immunized with the experimental bivalent, the trivalent vaccine against salmonellosis using the Agglutination test (AT) and Passive Hemagglutination test (PHA). The research of two Salmonella inactivated emulsified vaccines – bivalent (*S. enteritidis*) and trivalent (*S. enteritidis*, *S. typhimurium* and *S. infantis*) was conducted on one of the poultry farms of the Lviv region. The birds were vaccinated two times in the 14th day's interval. The sera samples were taken on the 14, 21, and 28th days after the last shot. The antibody (agglutinin) levels were assessed in the AT and PHA. Both vaccines (bivalent and trivalent) induced an intense immune response in birds' organisms. The average antibody titers were 1 : 512 – 1 : 717 using the AT and 1 : 4096 – 1 : 5734 using the PHA. The highest antibody levels were detected for *S. Enteritidis*: 1 : 5734 for trivalent vaccine and 1 : 5120 for bivalent one using PHA. AT antibody levels were lower: 1 : 717 for the trivalent vaccine and 1 : 640 for the bivalent. The antibody levels to *S. typhimurium* were: 1 : 4915 for trivalent vaccine and 1 : 4710 for bivalent (PHA) and 1 : 640 for trivalent vaccine 1 : 589 for bivalent on (AT). The lowest antibody levels were detected in *S. Infantis* in both tests. An interesting fact of *S. infantis* agglutinins presence in serum samples from poultry vaccinated with the bivalent vaccine in both tests may be explained by cross-immunity formed by *S. enteritidis* – *S. typhimurium* vaccine.

Key words: poultry, salmonella, vaccine, agglutination test, indirect hemagglutination test, antigenicity, antigenic affinity.

РА і РНГА – як імунологічні методи контролю антигенності вакцин проти сальмонельозу птиці

О. П. Бойко¹, Б. М. Куртяк^{2✉}, О. М. Сень¹, М. С. Романович², Г. В. Собко², Т. О. Пундяк², П. К. Бойко¹

¹Волинський національний університет імені Л. Українки, м. Луцьк, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, м. Львів, Україна

Ефективність специфічної профілактики інфекційних хвороб, в т. ч. й сальмонельозу птиці визначається імуногенністю вакцин. Контроль імуногенності вакцин – справа кропітка, складна і зазвичай відображає якийсь один найбільш вагомий у цьому випадку бік оцінки формування напруженості імунітету. Тому в багатьох країнах за серійного виробництва засобів специфічної

профілактики інфекційних хвороб використовують визначення їхньої антигенності в імунологічних реакціях, зокрема в реакції аглютинації (РА), непрямій гемаглютинації (РНГА), імуноферментного аналізу (ІФА), дифузної преципітації (РДП), непрямій імуофлуоресценції (РНІФ) тощо. В статті наведено результати порівняльної оцінки антигенності двох емульсованих вакцин проти сальмонельозу птиці – двовалентної та тривалентної з використанням двох імунологічних реакцій – РА і РНГА. Обидві вакцини містили сумарно однакову (по 6 млрд/см³) концентрацію мікробних клітин інактивованих формальдегідом та концентрованих аеросилом А-300 сальмонел таких видів, як *Salmonella enterica subsp. enterica* Typhimurium та *Enteritidis* (двовалентна вакцина) і *Salmonella enterica subsp. enterica* Typhimurium, *Enteritidis* та *Infantis* (тривалентна). Встановлено, що у сироватці крові птиці, щепленої двовалентною і тривалентною вакцинами з допомогою РА, для постановки якої було використано соматичні моноантигени згаданих вище видів сальмонел, виявилися значно нижчі рівні аглютининів, ніж з допомогою РНГА, для постановки якої були використані еритроцитарні монодіагностикуми. Застосування білків джгутикового антигену та анатоксинів сальмонел для виготовлення еритроцитарних монодіагностикумів із досліджуваних видів сальмонел суттєво підвищує чутливість РНГА. Між обома імунологічними реакціями виявлено тісний корелятивний зв'язок ($r = 0,97$). Це дає підставу вважати, що обидві реакції з однаковим успіхом можуть бути використані як інструменти оцінки імунної відповіді організму птиці за лабораторного чи виробничого випробування сальмонельозних вакцин, а також з метою встановлення антигенної спорідненості між окремими видами мікроорганізмів.

Ключові слова: птиця, сальмонели, вакцина, реакція аглютинації, реакція непрямой гемаглютинації, антигенність, антигенна спорідненість.

Вступ

За даними European Food Safety Authority (2020) сальмонельоз як харчова токсикоінфекція продовжує стабільно займати друге місце (після кампілобактеріозу) за кількістю харчових токсикоінфекцій серед людей (Boelaert, 2019; Milczarek et al., 2019; Gourishankar, 2021; European Food Safety Authority, 2021).

За цим критерієм сальмонельоз в Україні посідає перше місце серед гострих кишкових інфекцій з встановленим збудником (Zarytskyi et al., 2016; Halka et al., 2019).

Питома вага саме продуктів птахівництва у виникненні біоризиків сальмонельозу людини є найвищою у всьому світі і в Україні зокрема (Ianko et al., 2018; Boiko et al., 2018). Так, згідно з даними, отриманими Т. О. Гаркавенко та ін. (2021), за період з 2016 по 2020 роки в Україні найбільш контамінованими щодо збудника сальмонельозу були продукти птахівництва: м'ясо (0,18 %), напівфабрикати (0,10 %), субпродукти (0,23 %) та яйця (0,07 %) (Harkavenko et al., 2021).

Виробництво м'яса птиці має тенденцію до зростання. Україна за підсумками 2020 року стала третім найбільшим постачальником м'яса птиці до країн Європейського союзу і посіла шосте місце серед світових виробників курятини. В структурі споживання м'яса українців курятина займає майже 50 %.

Зважаючи на це профілактика харчових токсикоінфекцій сальмонельозної природи насамперед базується на профілактиці сальмонельозу на птахівничих фермах і великих птахівничих господарствах (Shivaprasad et al., 1992; Foley et al., 2008; Larock et al., 2015; Wideman et al., 2016; Huang et al., 2022).

Контроль епізоотичного процесу за сальмонельозу птиці здійснюють на всіх трьох ланках – виявлення та ізоляція хворої птиці і сальмонелозносіїв (джерело збудника інфекції), знищення збудника на об'єктах довкілля, що мають стосунок до птиці, (механізм передачі збудника) і створення активного імунного прошарку серед маточного поголів'я (сприйнятлива птиця) (Boiko et al., 2014; Kuczkowski & Wieliczko, 2015). При цьому специфічній профілактиці сальмонельозної інфекції в усіх країнах світу відводиться особливе місце (Methner, 2007; Singh, 2020).

Зважаючи на це, серологічний моніторинг рівня сальмонельозних антитіл в сироватці крові імунізованої птиці є важливим заходом в системі контролю епізоотичного процесу за сальмонельозу птиці.

Мета роботи. Вивчити в порівняльних дослідках рівні антитіл в реакціях аглютинації та непрямой гемаглютинації до моноантигенів ентеритідіс, тифімуріум та інфантіс в сироватці крові птиці, імунізованої експериментально-дослідними серіями дво- і тривалентної емульсованої вакцини проти сальмонельозу в умовах виробничого випробування.

Матеріал і методи досліджень

Виробничі випробування двох сальмонельозних емульсованих вакцин – двовалентної (*S. enteritidis* і *S. typhimurium*) і тривалентної (*S. enteritidis*, *S. typhimurium* і *S. infantis*) проводили в одному із птахівничих господарств Львівщини. Вакцинували птицю дворазово; другий раз вакцину вводили на 14 добу після першого уведення. Кров для серологічного моніторингу за рівнем сальмонельозних антитіл брали на 14, 21 і 28 добу після початку вакцинації.

Накопичення мікробної маси для виготовлення обох вакцин проводили за однією технологією. Виробничі штами *S. typhimurium*, *S. enteritidis* і *S. infantis* вирощували на триптон-соевому дріжджовому бульйоні (ТСДБ), за помірної аерації та постійному помішуванні у спеціально сконструйованому реакторі. Культури інактивували додаванням нейтрального формаліну з розрахунку 0,15 % кінцевої концентрації формальдегіду до об'єму культури; інактивацію проводили у початковій стадії стаціонарної фази її росту, коли рухова активність кожного штаму була найвищою; анакультури витримували за 37 °С впродовж 24 год, періодично помішуючи.

Для адсорбування і концентрування розчинних і корпускулярних антигенів використали аеросил А-300, який додавали до інактивованої культури з розрахунку 3 мг/см³. Для емульсування концентрованих антигенів сальмонел як поверхнево-активну речовину використали Twin-80, а як олійну основу – мінеральну олію з додаванням Span. Концентрація мікробних тіл кожного штаму у двовалентній вакцині становила 3 млрд./см³, а у тривалентній – 2 млрд./см³.

Рівні аглютининів в сироватці крові визначали в реакції аглютинації (РА) і в реакції непрямой гемаглютинації (РНГА).

РА ставили в об'ємі 1 см³, а РНГА – в об'ємі 0,5 см³; оцінювали реакції в плюсах.

Моноантигенами для РА слугували триміліардні суспензії вбитих кип'ятінням протягом 30 хв. і двічі відмитих 0,85 % забуференим розчином натрію хлориду мікробних клітин 18-годинних культур *Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis* і *S. infantis*.

Моноантигени для РНГА – 1 % суспензії формалінізованих і танізованих еритроцитів барана, сенсibilізованих анатоксинами і джгутиковими антигенами згаданих вище штамів сальмонел.

За граничний титр антитіл приймали найвище розведення досліджуваної сироватки, за якого реакція оцінювалася не менше, ніж на 2 плюси.

Результати та їх обговорення

Результати серологічного моніторингу за виробничого випробування двох експериментально-дослідних серій емульсованих вакцин проти сальмо-

нельозу птиці, виконаного за допомогою імунологічного дослідження сироватки крові курей, щеплених цими вакцинами, наведено в таблицях 1, 2 і 3. У першій і другій таблицях наведені середньоарифметичні дані граничних титрів антитіл відповідно на 7 і 14 добу, а в третій – на 28 добу після початку імунізації птиці обома вакцинами.

Дані табл. 1 свідчать, що продукція антитіл до імуногенів обох вакцин починається інтенсивно вже з перших днів після уведення вакцини і триває впродовж двох (табл. 2) і чотирьох (табл. 3) тижнів.

При цьому титри аглютининів до моноантигенів всіх трьох видів сальмонел у РНГА є значно вищими, ніж в РА у птиці, щепленої обома вакцинами (табл. 1, 2 і 3).

Аналізуючи дані, наведені у всіх трьох таблицях, можна зазначити, що обидві вакцини формують в організмі щепленої птиці напружену імунну відповідь на двократне уведення вакцини, що підтверджується високими граничними титрами аглютининів, які ми виявляли як за допомогою РА, так і РНГА. Так, середньоарифметичні титри антитіл в РА були в межах 1 : 512 – 1 : 717, а в РНГА – 1 : 4096 – 1 : 5734.

Таблиця 1

Середньоарифметичні титри аглютининів, виявлених у РА і РНГА, до моноантигенів сальмонел в сироватці крові птиці, вакцинованої дво- і тривалентною вакцинами, на 7 добу після щеплення (n = 10; P > 0,05)

Вакцина	Середньоарифметичні титри аглютининів до моноантигенів сальмонел					
	в РА			в РНГА		
	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс
Двовалентна	1 : 45	1 : 38	1 : 9	1 : 361	1 : 301	1 : 67
Тривалентна	1 : 79	1 : 67	1 : 50	1 : 396	1 : 349	1 : 116

Таблиця 2

Середньоарифметичні титри аглютининів, виявлених у РА і РНГА, до моноантигенів сальмонел в сироватці крові птиці, вакцинованої дво- і тривалентною вакцинами, на 14 добу після щеплення (n = 10; P > 0,05)

Вакцина	Середньоарифметичні титри аглютининів до моноантигенів сальмонел					
	в РА			в РНГА		
	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс
Двовалентна	1 : 192	1 : 157	1 : 35	1 : 1581	1 : 1396	1 : 301
Тривалентна	1 : 221	1 : 198	1 : 169	1 : 1671	1 : 1489	1 : 1257

Таблиця 3

Середньоарифметичні титри аглютининів, виявлених у РА і РНГА, до моноантигенів сальмонел в сироватці крові птиці, вакцинованої дво- і тривалентною вакцинами, на 28 добу після (n = 10; P > 0,05)

Вакцина	Середньоарифметичні титри аглютининів до моноантигенів сальмонел					
	в РА			в РНГА		
	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс	Ентеритідіс	Тифімуриум	Інфантіс
Двовалентна	1 : 640	1 : 589	1 : 74	1 : 5120	1 : 4710	1 : 614
Тривалентна	1 : 717	1 : 640	1 : 512	1 : 5734	1 : 4915	1 : 4096

Аналіз даних всіх трьох таблиць однозначно свідчить про те, що РНГА є значно чутливішою, ніж РА. Так, титри аглютининів до моноантигенів ентеритідіс в РНГА становили 1 : 5734 (тривалентна вакцина) і 1 : 5120 (двовалентна), до моноантигенів тифімуриум 1 : 4915 і 1 : 4710 відповідно, тимчасом як у РА аглютинини до ентеритідіс становили – 1 : 717 (тривалент-

на вакцина) і 1 : 640 (двовалентна), а до тифімуриум – 1:640 (тривалентна вакцина) і 1 : 589 (двовалентна).

Подібну картину спостерігаємо, порівнюючи середньоарифметичні значення граничних титрів аглютининів до моноантигенів інфантіс – вони також значно вищі у РНГА, ніж у РА, як у птиці щепленої тривалентною, так і двовалентною вакцинами. Отримані дані вказують на тісну кореляцію (ρ = 0,97) між показни-

ками рівнів аглютининів, виявлених з допомогою РНГА і РА, у всіх випадках паралельного їх застосування з метою визначення антигенності обох вакцин.

Таким чином, залежно від можливостей тієї чи іншої лабораторії та наявності у них тих чи інших діагностикумів, кожна із цих реакцій може бути використана як метод об'єктивної оцінки антигенності сальмонельозних вакцин, а отже як інструмент серологічного моніторингу напруженості поствакцинального імунітету.

Продовжуючи аналіз даних [рисунку 1](#), спостерігаємо, що найвищі рівні антитіл в обох імунологічних реакціях виявлені до антигенів *S. enteritidis* (1 : 640–717 в РА і 1 : 5120–5713 в РНГА), дещо нижчі до *S. typhimurium*. Найнижчі рівні антитіл у сироватці крові птиці, щепленої двовалентною вакциною, виявлено до антигенів *S. infantis*. Це можна пояснити тим, що двовалентна вакцина взагалі не містила антигенних структур цього штаму. З одного боку, результати

обох імунологічних реакцій свідчать про значний рівень перехресного імунітету, що його формують імуногени двовалентної вакцини до антигенів *S. infantis*. З іншого боку, можна говорити про високу антигенну спорідненість між поверхневими морфологічними структурами *S. infantis* та двома іншими видами сальмонел, з яких виготовлено вакцинний препарат. Цей факт насамперед засвідчує тісну антигенну спорідненість між цими трьома штамами як на рівні О-антигену, так і на рівні Н-антигенів. Так, *S. enteritidis* і *S. typhimurium* мають спільні 9 і 12 соматичні антигени, тимчасом як *S. infantis* має антигенну спорідненість із цими видами сальмонел за другою фазою джгутикового антигену (H² 1). Крім цього, перехресні серологічні реакції сальмонел між собою та іншими бактеріями родини *Enterobacteriaceae* можливі за рахунок спільності окремих антигенних детермінант ендотоксину сальмонел ([Plitov, 2011](#)).

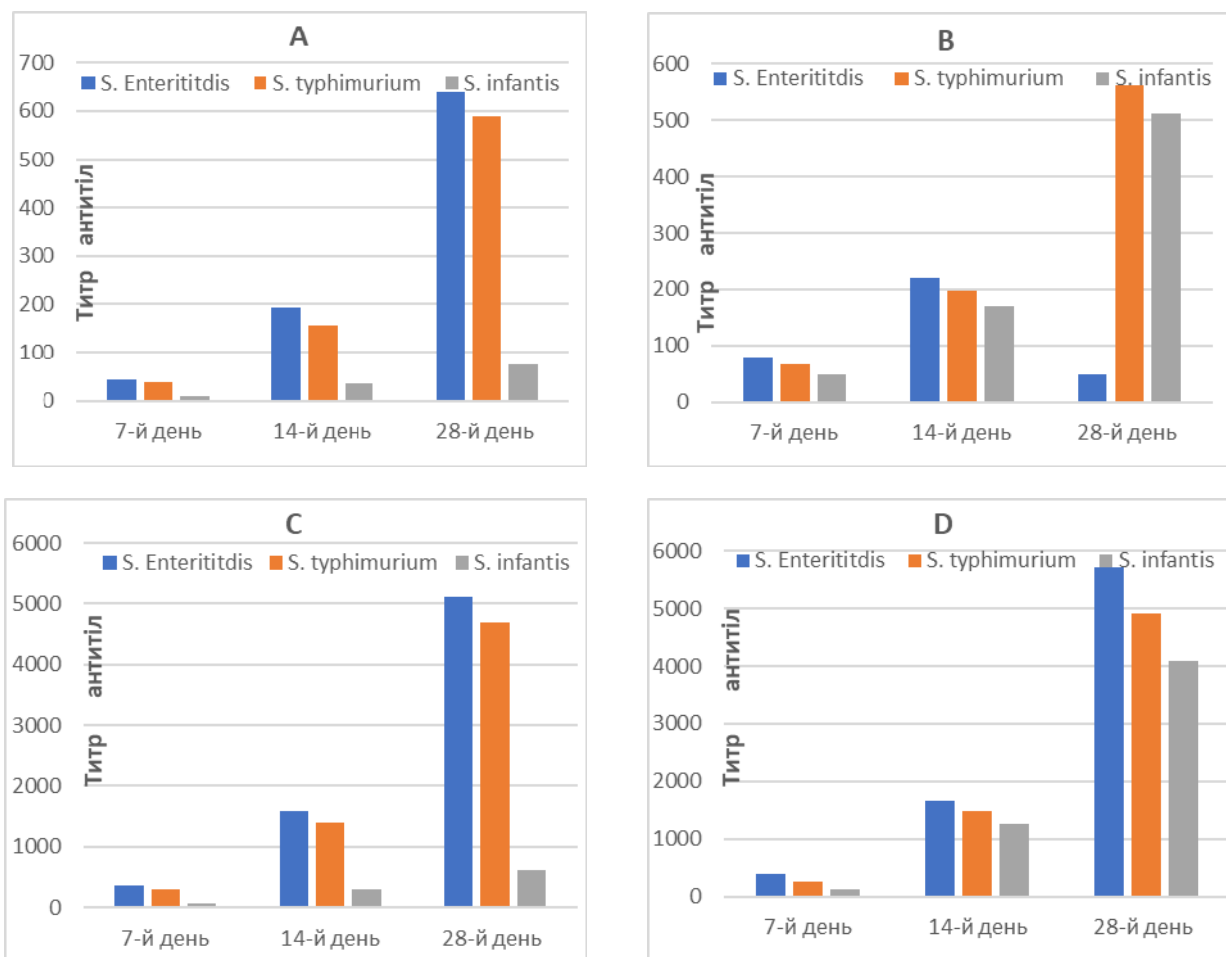


Рис. 1. Динаміка титрів сальмонельозних антитіл за серологічного моніторингу сироватки крові птиці, щепленої проти сальмонельозу двовалентною (А і С) і тривалентною (В і D) вакцинами у РА (А і В) та у РНГА (С і D)

Варто зазначити, що *S. infantis* не має значення в інфекційній патології тварин, тимчасом як з епідеміологічної точки зору цей вид сальмонел часто причетний до харчових токсикоінфекцій. В низці розвинених країн останнє є об'єктивним підґрунтям для уведення імуногенів *S. infantis* до складу протисальмонельозних вакцин, що використовуються у птахівництві. Власне

це й було мотивацією до конструювання тривалентної вакцини проти сальмонельозу птиці, яка, крім загальноприйнятих видів імуногенів, має на увазі *S. enteritidis* і *S. typhimurium*, містила б імуногени *S. infantis*.

Варто зазначити, що всі три види сальмонел характеризуються високою рухливістю, що свідчить про наявність у них добре розвинених джгутиків – повер-

хневих органел руху бактерій, які головним чином складаються з білків. Деякими вченими було встановлено, що вони володіють високою антигенністю та імуногенністю (Busol et al., 2010). Проте ці структури є дуже лабільними. Їхня кількість на поверхні бактеріальної клітини, як і тривалість перебування на поверхні бактеріальної клітини, залежить від багатьох факторів, зокрема генетичних та фенотипових (склад середовища, температурні умови інкубування, фаза її розвитку культури тощо) (Mandyhra et al., 2015).

Для цього у низці попередніх дослідів, результати яких ми ще не публікували, нами було вивчено вплив аерації, складників середовища та фазових періодів культур сальмонел на їхню рухову активність та загальну концентрацію мікробної маси. Було встановлено, що найвища рухова активність сальмонел перебуває в дуже короткому часовому інтервалі з точки зору тривалості інкубування культур. В період найвищої рухової активності сальмонел концентрація їх в культурі зазвичай на цілий логарифм нижча від кінцевої, тобто у фазу відмирання культури.

Тому при конструюванні протисальмонельозних вакцин нам довелося робити вибір – інактивацію культур сальмонел проводити у пік їх найвищої рухової активності чи у фазу відмирання, коли культура досягне максимальної концентрації мікробної маси, але рухова активність сальмонел тоді буде зведена нанівець. Перевагу у цьому виборі ми віддали фактору найвищої рухової активності сальмонел, зрозуміло, що при цьому ми суттєво втрачали на виході загальної бактеріальної маси, а можливо, й екзотоксинів, які продукують сальмонели в процесі росту і особливо при відмиранні клітин.

Підставою для такого вибору були результати наших досліджень імуногенності та антигенності вакцинних препаратів. Нами тоді було встановлено, що вакцини, виготовлені на основі бактеріальних клітин, позбавлених джгутиків, мали значно нижчу імуногенну активність порівняно з тими, що як імуноген містили бактеріальні клітини, не позбавлені джгутиків, і тривалість імунітету була значно коротшою (Busol et al., 2010; Mandyhra et al., 2015).

Зрозуміло, що рівні антигенності вакцинних препаратів можуть не відповідати рівню імуногенності. Проте тісний корелятивний зв'язок між цими показниками доведений (Obukhovska et al., 2012). Тому у випадках, коли в силу тих чи інших причин немає можливості проводити паралельне визначення імуногенності та антигенності нових експериментально-дослідних серій вакцинних препаратів, то в більшості випадків орієнтуються на останній показник, використовуючи для цього одну чи дві із цих імунологічних реакцій – РА, РНГА, ІФА або РНІФ.

Зважаючи на те, що перші дві імунологічні реакції є простими у виконанні, недорогими за вартістю діагностиків та обладнання і характеризуються чіткою візуалізацією результатів реакції, у наших дослідах ми віддали їм перевагу. До того ж, готуючи антигени для обох реакцій, ми мали змогу дати порівняльну оцінку впливу поверхневих антигенів сальмонел (соматичного і джгутикового) на чутливість цих реакцій.

Так, моноантигени всіх трьох видів сальмонел, що були виготовлені на основі соматичних антигенних детермінант сальмонельозних клітин, виявили в РА низькі ($1 : 74 - 1 : 717$) титри аглютининів порівняно із моноантигенами, що були виготовлені на основі джгутиків та екзотоксинів сальмонел і використані в РНГА – $1 : 563 - 1 : 5734$.

Порівнюючи результати, отримані з допомогою обох імунологічних реакцій, зауважуємо, що титри аглютининів у РА співвідносяться із титрами у РНГА як $1 : 11,7$. Постає питання, що могло мати такий суттєвий вплив на візуалізацію цих двох, на перший погляд дуже подібних, імунологічних реакцій. Чим обумовлена така значна різниця у чутливості цих двох реакцій?

Очевидно, що не лише рівнями аглютининів, бо досліджувалися одні й ті ж сироватки паралельно в обох реакціях. Зрозуміло, що умови та експозиція взаємодії аглютининів та антигенів теж не могли так суттєво вплинути на показники обох реакцій, бо вони були застосовані в апробований для кожної реакції спосіб, коли обидва реагенти реакції найповніше взаємодіють між собою.

Ймовірно, що на кінцеві результати обох реакцій мали вплив властивості антигенних детермінант моноантигенів, що були використані у реакціях.

Як було зазначено у розділі “Матеріали і методи”, еритроцитарні діагностикими для РНГА були виготовлені на основі сенсibilізації танізованих еритроцитів білками джгутиків та екзотоксинів сальмонел. Вони виявляють значно вищі рівні сальмонельозних антитіл, ніж соматичні моноантигени цих же видів у РА, що в разі підвищує чутливість РНГА і можливості візуалізації її результатів.

З іншого боку, РНГА з використанням джгутикового або інших поверхневих антигенів сальмонел може служити ефективним інструментом для вивчення антигенної спорідненості польових ізолятів сальмонел із виробничо-контрольними штамами і тим самим бути інструментом під час конструювання аутогенних протисальмонельозних вакцин в епізоотичних вогнищах сальмонельозу.

Таким чином, РНГА для оцінки антигенності сальмонельозних вакцин на етапі їх розробки чи виробничого випробування, а також з метою серологічного моніторингу рівня сальмонельозних антитіл в стадах птиці, щепленої проти сальмонельозу, з погляду на її чутливість, показовість та об'єктивність є значно ефективнішою імунологічною реакцією порівняно із РА.

Висновки

1. Обидві імунологічні реакції (РА і РНГА) виявили високий рівень кореляції за визначення титрів аглютининів, а тому можуть бути використані для оцінки антигенності вакцинних препаратів, а також з метою серологічного моніторингу рівня сальмонельозних антитіл в стадах птиці, щепленої проти сальмонельозу, виявлення антигенної спорідненості окремих видів та ізолятів сальмонел.

2. Застосування білків джгутикового антигену та анатоксину сальмонел для сенсibilізації еритроцитів при виготовленні еритроцитарного сальмонельозного діагностикуму суттєво підвищило чутливість РНГА порівняно із РА.

3. РНГА як метод серологічного моніторингу поствакцинальних сальмонельозних антитіл у щепленої птиці є чутливішою та економічно вигіднішою, бо не потребує значних витрат як діагностикуму, так і розхідних матеріалів, а отже ефективнішою, ніж РА.

Перспективи подальших досліджень:

1. Вивчення тривалості напруження імунітету у щепленої сальмонельозними вакцинами птиці за показниками рівня аглютининів.

2. Проведення імунологічного скринінгу за рівнем аглютининів у сироватці крові неімунізованої птиці м'ясних і яйценосних стад до моноантигенів епідемічно значущих видів сальмонел.

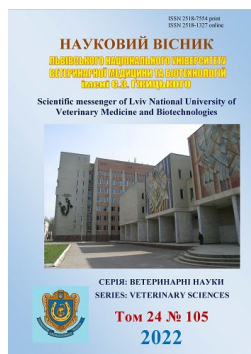
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Boelaert, F. (2019). The stalled Salmonella situation in EU and assessment of current EU reduction targets. 24th EURL-Salmonella Workshop. 28-29 May 2019. URL: https://www.eurlsalmonella.eu/sites/default/files/2019-06/2%20Frank%20EFSA_Salm_sit_ass%20190528.pdf.
- Boiko, O. P., Boiko, P. K., Voloshyn, R. V., Kurtiak, B. M., Pundiak, T. O., Romanovych, M. S., & Sobko, H. (2018). Porivnialna kharakterystyka napruzhenosti epizootychnoi ta epidemichnoi sytuatsii shchodo salmonelozu na terytorii Lvivskoi oblasti. Veternarna biotekhnolohiia, 32(2), 51–60. URL: http://vetbiotech.kiev.ua/volumes/JRN32/2_7.pdf (in Ukrainian).
- Boiko, P. K., Sen, O. M., Pundiak, T. O., & Sobko, H. V. (2014). Osoblyvosti kontroliu epizootychnoho protsesu za salmonelozu ptytsi u ptakhivnychkh hospodarstvakh Ukrainy. Naukovyi visnyk LNUVMB imeni S. Z. Gzhytskoho, 16(3(60)), 58–64 (in Ukrainian).
- Busol, V. O., Boiko, P. K., & Boiko, O. P. (2010). Kharakterystyka postvaksynalnoho imunitetu u tvaryn, shcheplenikh vaksynoiu "EMKARVAK". Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veternarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Gzhytskoho, 12(2(44)), 28–35. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2010_12_2%281%29_8 (in Ukrainian).
- European Food Safety Authority (2021). The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. EFSA Journal, 19(2), e6406. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6406.
- Foley, S. L., Lynne, A. M., & Nayak, R. (2008). Salmonella Challenges: Prevalence in Swine and Poultry and Potential Pathogenicity of Such Isolates. J Anim Sci., 86, E149–162. DOI: 10.2527/jas.2007-0464.
- Gourishankar, A. (2021). Geospatial analysis of salmonellosis and its association with socioeconomic status in Texas. Fam Med Community Health, 9(4), e001214. DOI: 10.1136/fmch-2021-001214.
- Halka, I. V., Muzykina, L. M., Mandyhra, S. S., Chekhun, A. I., Sydorenko, T. V., & Kravtsova, O. L. (2019). Poshyrennia salmonelozu tvaryn ta ptytsi v Ukraini u 2015–2018 rokakh. Veternarna biotekhnolohiia, 35, 22–29. DOI: 10.31073/vet_biotech35-03 (in Ukrainian).
- Harkavenko, T. O., Andriashchuk, V. O., Horbatiuk, O. I., Kozyt'ska, T. H., Musiits, I. V., & Harkavenko, V. M. (2021). Rezultaty bakteriologichnykh doslidzhen ta spektr serologichnykh variantiv salmonel, vydilyenykh iz kharchovykh produktiv tvarynnoho pokhodzhennia, v Ukraini za period 2016–2020 rr. Veternarna biotekhnolohiia, 39, 29–43. DOI: 10.31073/vet_biotech39-03 (in Ukrainian).
- Huang, S., Rong, X., Liu, M., Liang, Z., Geng, Y., Wang, X., Zhang, J., Ji, C., Zhao, L., & Ma, Q. (2022). Intestinal Mucosal Immunity-Mediated Modulation of the Gut Microbiome by Oral Delivery of Enterococcus faecium Against Salmonella Enteritidis Pathogenesis in a Laying Hen Model. Front. Immunol, 13, 853954. DOI: 10.3389/fimmu.2022.853954.
- Ianko, N. V., Boiko, O. P., & Kraivanovych, N. (2018). Features of the Epidemic Process of Salmonellosis in Ukraine Based on the Example of Volyn Oblast. Third Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium and Peer review Session, 62. URL: <https://swmpprogramua.com/wp-content/uploads/2018/04/2018-swmp-symposium-abstract-index-lowres-final.pdf>.
- Kuczkowski, M., & Wieliczko, A. (2015). Immunoprofilaktyka salmoneloz u drobiu. Życie Weterynaryjne, 90(1), 28–32. URL: <https://www.vetpol.org.pl/dmdocuments/ZW-01-2015-3.pdf>.
- Larock, D. L., Chaudhary, A., & Miller, S. I. (2015). Salmonellae Interactions With Host Processes. Nat Rev Microbiol, 13, 191–205. DOI: 10.1038/nrmicro3420.
- Mandyhra, M. S., Boiko, P. K., & Boiko, O. P. (2015). Metodychni pidkhody do konstruiuvannia bakterialnykh vaksyn na prykladi inaktyvovanykh vaksyn proty emfizematoznoho karbunkulu. Veternarna medytsyna: mizhvidomchyi tematychnyi naukovyi zbirnyk, 101, 211–214. URL: http://jvm.kharkov.ua/sbornik/101/10_62.pdf (in Ukrainian).
- Methner, U. (2007). Vaccination of poultry against Salmonella: what is the ideal vaccine strain? URL: https://www.cabi.org/Uploads/animal-science/worlds-poultry-science-association/WPSA-czech-republic-2007/8_Methner%20Ulrich.pdf.
- Milczarek, M., Sadkowska-Todys, M., Czarkowski, M. P., & Kitowska, W. (2019). Salmonellosis in Poland in 2017. Przegl Epidemiol, 73(4), 463–477. DOI: 10.32394/pe.73.44.
- Obukhovska, O. V., Stehni, B. T., Zavhorodnii, A. I., Petrenchuk, E. P., Hliebova, K. V., Kriukova, N. V., & Vovk, S. I. (2012). Vyvchennia imunohennykh ta protektyvnykh vlastyvostei eksperymentalnykh serii inaktyvovanykh vaksyn proty salmonelozu ptytsi. Veternarna medytsyna, 96, 166–168 (in Ukrainian).

- Plitov, I. S. (2011). Indikacija patogenykh bakterij, cirkulirujushhih v pticevodcheskih hozjajstvah. *Probl. vet. sanitarii, gigieny i jekologii*, 1(5), 63–65 (in Russian).
- Shivaprasad, H. L., Timoney, J. F., Morales, S., Lucio, B., & Baker, R. C. (1990). Pathogenesis of Salmonella Enteritidis Infection in Laying Chickens. I. Studies on Egg Transmission, Clinical Signs, Fecal Shedding, and Serologic Responses. *Avian Dis*, 34, 548–557. DOI: 10.2307/1591243.
- Singh, A. K. (2020) Vaccination in commercial poultry (layers, breeders & broilers). URL: <https://www.pashudhanpraharee.com/vaccination-in-commercial-poultry-layers-breeders-broilers>.
- Wideman, N., Bailey, M., Bilgili, S.F., Thippareddi, H., Wang, L., Bratcher, C., et al. (2016). Evaluating Best Practices for Campylobacter and Salmonella Reduction in Poultry Processing Plants. *Poultry Sci*, 95, 306–315. DOI: 10.3382/ps/pev328.
- Zarytskyi, A. M. Hlushkevych, T. H., & Bubalo, V. O. (2016). Aktualnist salmoneloziv v Ukraini. *Infektsiini khvoroby*, 13(85), 5–9. DOI: 10.11603/1681-2727.2016.3.6881 (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10516

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:615.22:619:616.1:636.7

Experimental assessment of the toxicity of a cardiac drug based on a phosphodiesterase-3 inhibitor and ethylmethylhydroxypyridine succinate

I. S. Varkholiak¹✉, B. V. Gutyj¹, O. B. Zolototska¹, L. P. Goralskyi², I. M. Sokulskyi², V. I. Khalak³,
V. V. Parchenko⁴, A. R. Shcherbatyy¹, T. V. Martyshuk¹, Z. A. Guta¹

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

²Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

³State Institution Institute of Grain Crops of NAAS of Ukraine, Dnipro, Ukraine

⁴Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine

Article info

Received 07.02.2022

Received in revised form

07.03.2022

Accepted 08.03.2022

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-096-486-26-85
E-mail: irykavet@ukr.net

Polissia National University,
Staryj Boulevard, 7, Zhytomyr,
10002, Ukraine.
Tel.: +38-097-785-73-20
E-mail: sokulskyi_1979@ukr.net

State Institution Institute of
grain crops of NAAS, V. Vernadsky
Str., 14, Dnipro, 49027, Ukraine.
Tel.: +38-067-892-44-04
E-mail: v16kh91@gmail.com

Zaporizhzhia State Medical
University, Majakovskogo, Str., 26,
Zaporizhzhia, 69035, Ukraine.
Tel.: +38-066-405-52-64
E-mail: parchenko@ukr.net

Varkholiak, I. S., Gutyj, B. V., Zolototska, O. B., Goralskyi, L. P., Sokulskyi, I. M., Khalak, V. I., Parchenko, V. V., Shcherbatyy, A. R., Martyshuk, T. V., & Guta, Z. A. (2022). Experimental assessment of the toxicity of a cardiac drug based on a phosphodiesterase-3 inhibitor and ethylmethylhydroxypyridine succinate. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 24(105), 109–119. doi: 10.32718/nvlvet10516

The study aimed to establish the parameters of chronic toxicity of the newly developed drug based on phosphodiesterase-3 inhibitor and ethylmethylhydroxypyridine succinate in experiments on laboratory animals. The analysis was performed on white sexually mature young male Wistar rats weighing 170–185 g. Four groups of white rats were formed. The first experimental group was administered Bendamine based on a phosphodiesterase-3 inhibitor and ethylmethylhydroxypyridine succinate at a therapeutic dose. Rats of the second experimental group were injected with the experimental drug in a 5-fold dose. Rats of the third experimental group were administered the drug in a 10-fold dose. The fourth group served as control. The study of chronic toxicity of Bendamine in white rats indicates that long-term 30-day administration in therapeutic doses or 5-fold dose does not cause clinical signs of poisoning, as evidenced by the physiological limits of fluctuations in the studied morphological and biochemical parameters of blood rats. Prolonged administration of Bendamine to rats in a 10-fold dose is accompanied by a slight suppression of the body's physiological state, as indicated by a decrease in total erythrocytes and hemoglobin by 10.1 % against an increase in white blood cells by 59.8% ($P < 0.001$). In addition, there was a decrease in the functional state of the liver, as evidenced by a probable reduction in total protein by 8.0% and urea – by 13.5 %, as well as an increase in ALT, AST, and alkaline phosphatase by 31.6 %, 7.4 %, and 53.9% respectively. Probable changes in the coefficients of liver and spleen mass have been established. When administered intramuscularly to rats with the drug Bendamine for 30 days, the macroscopic and microscopic structure of the studied internal organs is preserved in all groups of animals. The second experimental group revealed reversible moderate histostructural changes in the liver and kidneys. In rats treated with ten times the therapeutic dose of the drug, histologically found hemodynamic disorders and alterations in dystrophic nature, mainly of protein origin, with focal localization in the parenchyma of the liver, kidneys, and myocardium, which in most cases are reversible and result from the compensatory response. Macroorganism on the introduction of a high dose of the study drug.

Key words: rats, toxicology, pharmacology, ethylmethylhydroxypyridine succinate, a phosphodiesterase-3 inhibitor, Bendamine.

Експериментальна оцінка токсичності кардіологічного препарату на основі інгібітора фосфодіестерази-3 та етилметилгідроксипіридину сукцинату

І. С. Вархоляк^{1✉}, Б. В. Гутий¹, О. Б. Золотоцька¹, Л. П. Горальський², І. М. Сокульський², В. І. Халак³, В. В. Парченко⁴, А. Р. Щербатий¹, Т. В. Мартишук¹, З. А. Гута¹

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

³Державна установа “Інститут зернових культур НААН України”, м. Дніпро, Україна

⁴Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, Україна

Метою роботи було у дослідях на лабораторних тваринах встановити параметри хронічної токсичності новоствореного препарату на основі інгібітора фосфодіестерази-3 та етилметилгідроксипіридину сукцинату. Дослідження проводили на білих статевозрілих молодих щурах-самцях лінії Вістар масою 170–185 г. Було сформовано чотири групи. Першій дослідній групі вводили препарат “Бендамін” на основі інгібітора фосфодіестерази-3 та етилметилгідроксипіридину сукцинату у терапевтичній дозі. Щурам другої дослідної групи вводили дослідний препарат у 5-ти кратній дозі. Щурам третьої дослідної групи вводили препарат у 10-ти кратній дозі. Четверта група слугила контролем. Дослідження хронічної токсичності Бендаміну на білих щурах вказує на те, що тривале 30-добове його введення у терапевтичній дозі або у 5-кратній дозі, не викликає клінічних ознак отруєння, про що свідчать фізіологічні межі коливань досліджуваних морфологічних та біохімічних показників крові щурів. Тривале введення щурам дослідного препарату в 10-кратній дозі супроводжується незначним пригніченням фізіологічного стану організму, на що вказує зниження загальної кількості еритроцитів і вмісту гемоглобіну на 10,1 % на тлі підвищення кількості лейкоцитів на 59,8 % ($P < 0,001$). Крім цього встановлено зниження функціонального стану печінки, про що свідчить вірогідне зменшення вмісту загального протеїну на 8,0 % і сечовини – на 13,5 %, також підвищення активності АлАТ, АсАТ і лужної фосфатази на 31,6 %, 7,4 % і 53,9 % відповідно. Встановлено вірогідні зміни коефіцієнтів маси печінки та селезінки. За внутрішньолункового застосування щурам препарату “Бендамін” упродовж 30 діб макроскопічна та мікроскопічна структура досліджуваних внутрішніх органів збережена у всіх групах тварин. У другій дослідній групі виявлені помірні гістоструктурні зміни в печінці і нирках, які мали зворотний характер. У щурів, яким застосовували 10-кратну терапевтичну дозу препарату, гістологічно встановлено порушення гемодинаміки та зміни дистрофічного характеру, переважно білового походження, із вогнищевою локалізацією в паренхімі печінки, нирок та міокарду, що носять у більшості випадків зворотний характер і є наслідком компенсаторної реакції з боку макроорганізму на введення підвищеної дози досліджуваного препарату.

Ключові слова: щури, токсикологія, фармакологія, етилметилгідроксипіридин сукцинат, інгібітор фосфодіестерази-3, Бендамін.

Introduction

Cardiovascular diseases in dogs are widespread, but their causes are not always known. Cardiac pathology in animals may not be clinically evident for a long time, making it difficult to diagnose (Borgarelli & Buchanan, 2012; Varkholiak & Guttyj, 2018). In the case of detection of cardiovascular pathology in dogs, it is important to establish the degree of hemodynamic disorders and diseases of other organs that may be crucial for the course and prognosis (Borgarelli et al., 2007; Varkholiak et al., 2021). It is known that 10 % of all animals suffer from pathologies of the cardiovascular system of varying severity (Undhad et al., 2012). Animals of various breeds and age groups are admitted to the cardiologist. Cardiomyopathies are most often registered in large breeds of dogs (Trofimiak & Slivinska, 2021) (more often dilatation, less arrhythmogenic) and in small breeds – valvular pathology (endocardiosis of atrioventricular valves). Pericarditis and congenital disabilities are less common (Merveille et al., 2015; Ramirez et al., 2016; Yata et al., 2019; Morgan et al., 2020).

Disorders of the cardiovascular system lead to irreversible processes throughout the body, which in most cases end in death (Fox, 2012; Zhulikova, 2016; Tjostheim et al., 2019).

It should be noted that this pathology often takes a long time in a latent form, which does not manifest itself clinically and does not cause concern among owners. As a result, animals are referred to specialists during the period

of decompensation of chronic heart failure. In addition, timely detection of pathology and the beginning of treatment can significantly extend the life of a sick animal (Hollmer et al., 2017).

The development, research, and implementation of new cardiac drugs for the prevention and treatment of animals with cardiovascular diseases, in the mechanism of which the development of oxidative stress, is on time and have significant prospects. It is advisable to use veterinary medicine for heart failure in animals with phosphodiesterase-3 inhibitors and antioxidants (Martyshuk, 2016; Lavryshyn et al., 2016; Martyshuk et al., 2016; Brett et al., 2019; Oldach et al., 2019; Martyshuk & Guttyj, 2019; Varkholiak et al., 2021; Martyshuk & Guttyj, 2021).

That is why the development of domestic cardio preparation for dogs for pathologies of the cardiovascular system and the study of its pharmaco-toxicological parameters is relevant.

The work aimed to establish the parameters of chronic toxicity of the newly developed drug based on phosphodiesterase-3 inhibitor and ethylmethylhydroxypyridine succinate in experiments on laboratory animals.

Materials and Methods

Experimental studies were conducted following the requirements of drug-biological experiments in selecting analogs, control, compliance with the same feeding and maintenance conditions during the investigation, and

accounting for results (Kotsiumbas et al., 2006; Todorciuk et al., 2018).

The study was performed on white sexually mature young male Wistar rats of 2–3 months of age, weighing 170–185 g, which were kept on the standard diet of the institute vivarium of the State Research Control Institute of Veterinary Drugs and Feed Additives. Four groups of white rats were formed. The first experimental group (R1) was administered the drug Bendamine in a therapeutic dose. The second experimental group (R2) of rats was administered the test drug in a 5-fold dose. The third experimental group (R3) of rats was administered Bendamine in a 10-fold dose. The fourth group served as control (K).

The drug in the above doses was administered at a particular time, daily for 30 days, orally, on an empty stomach, using a probe for laboratory animals.

Bendamine is an animal medicine that affects the cardiovascular system. The drug contains a phosphodiesterase-3 inhibitor and ethylmethylhydroxypyridine succinate. The latter has a pronounced antioxidant, antihypoxic, anxiolytic, membrane, and stress-protective activity.

At the experiment's beginning and end, the rats of the experimental and control groups were weighed. During the investigation, the clinical condition and behavior of the animals were monitored. Behavioral reactions of animals were studied according to the following criteria: horizontal motor activity, vertical motor activity, grooming, and vigorous activity.

On day 31 of the start of the administration, five white rats from each group were tested for liver detoxification function using a thiopental test. To do this, laboratory animals were administered 1 % sodium thiopental solution at a dose of 45 mg/kg. Then the average sleep time from when the animal took a lateral position was recorded (Kotsiumbas et al., 2006; Guttyj et al., 2016; 2017).

Simultaneously, the other five rats were tested for swimming by M. L. Rylova (Rylova, 1964). A glass aquarium was used for the experiment. The water column in the aquarium is 50 cm. The water temperature is 12–13 °C. Experimental animals were attached to the load (metal samples) – 5 % body weight. Before the experiment, the rat was weighed and attached to the tail of the load corresponding to its weight, then allowed to swim with experimental and control animals of approximately the same weight. Make sure that the animals are constantly swimming. An indicator of efficiency is when the ani-

mal can stay on the water. The animals swam the entire descent to the bottom.

The next day laboratory animals under light ether anesthesia were decapitated, performed hematological and biochemical studies according to generally accepted methods dissected, and determined the mass coefficients of organs compared with the control group (Malanin et al., 1988; Vlizlo et al., 2012).

All animal manipulations were performed following the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Scientific Purposes (Official Journal of the European Union L276/33, 2010).

The analysis of research results was performed using the software package Statistica 6.0. Student's t-test assessed the probability of differences. The results were considered plausible at $P \leq 0.05$.

Results and Discussion

According to studies to determine the chronic toxicity of the newly developed cardiac drug, it was found that from giving white rats the drug in therapeutic doses and 5-fold and 10-fold therapeutic doses, no visible clinical signs of drug intoxication were observed. Throughout the experiment (30 days), appetite was maintained in experimental animals. Significant violations of appearance and general condition were also not detected. Probable changes in the behavior of experimental animals were not observed (Table 1), and the characteristic behavioral reactions reflected the normal functional state of the central nervous system. It is also worth noting the slight suppression of the body of rats of the third experimental group, which received ten times the dose of the drug.

Studies of emotional and behavioral responses of laboratory animals after administration of the drug “Bendamine” for 30 days in the therapeutic and five times higher than the therapeutic dose did not show a significant effect on the nervous system. Under these conditions, there was a tendency to suppress in rats given the drug “Bendamine” in a dose ten times higher than therapeutic, characterized by a decrease in horizontal (number of crossed squares) and vertical motor activity (number of lifts on the hind limbs), grooming (number washing). Under these conditions, the experimental (number of animal visits to the kidneys) and emotional (number of defecation and urination) activity did not differ from the animals of all experimental and control groups.

Table 1

Indicators of physiological condition and activity of white rats with 30-day administration of the drug “Bendamine” ($M \pm m$, $n = 6$)

Group of animals	Indicators					
	Number of intersections	Number of racks	Number of visits to the burrows	Number of washes (grooming)	Number of defecations	Number of urinations
Control	13.5 ± 1.57	1.83 ± 0.60	4.17 ± 0.83	2.33 ± 0.42	2.33 ± 0.42	1.5 ± 0.43
First research	13.2 ± 1.57	2.0 ± 0.51	4.0 ± 0.93	2.5 ± 0.43	2.17 ± 0.31	1.16 ± 0.31
Second research	12.67 ± 1.33	1.5 ± 0.43	3.83 ± 0.70	2.16 ± 0.31	2.0 ± 0.45	1.33 ± 0.21
Third research	11.3 ± 1.08	1.0 ± 0.37	4.0 ± 0.68	1.66 ± 0.67	2.17 ± 0.40	1.67 ± 0.42

One of the integral indicators that reflects the level of metabolic processes in the body of animals in their intoxication is the change in body weight and individual internal organs. Owing to this, it is essential to study the toxicity of the drug "Bendamine" to determine individual internal organs' body weight and weight ratios. Figures 1 and 2 show body weight data and weight coefficients of individual internal organs of rats on the 31st day of the experiment to study the chronic toxicity of the newly developed drug. It was found that the introduction of the drug in a 10-fold dose caused a decrease in body weight of white rats by 5% compared with the control group (Fig. 1). Under these conditions, we noted that the rats of the first and second experimental groups tended to increase body weight slightly.

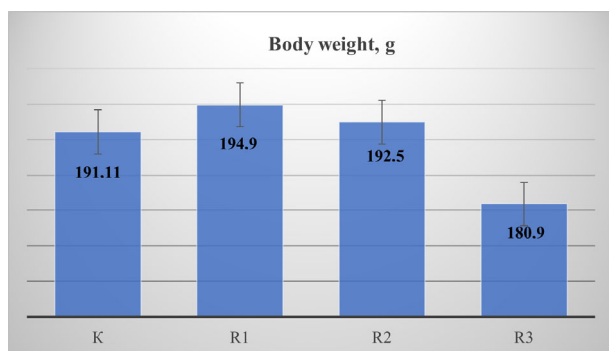


Fig. 1. Bodyweight of rats on the 31st day of the experiment to study the chronic toxicity of the drug "Bendamine" ($M \pm m$, $n = 6$)

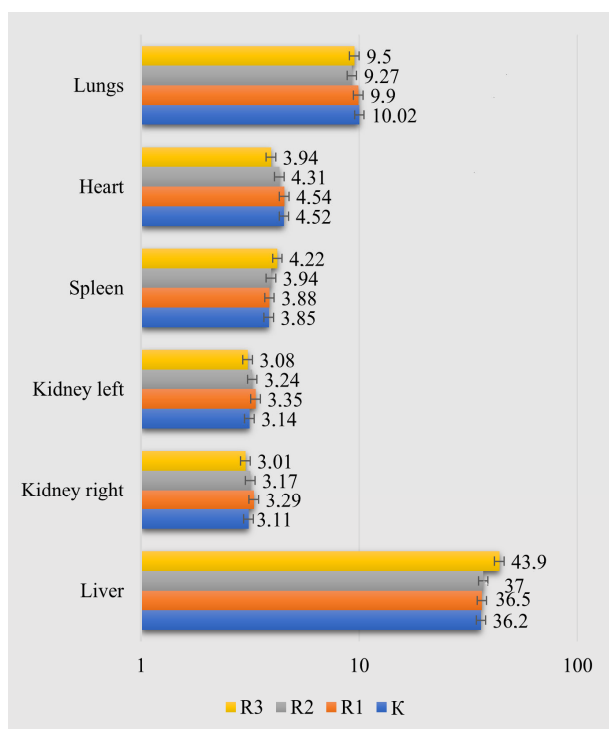


Fig. 2. Coefficients of mass of individual internal organs of rats on the 31st day of the experiment to study the chronic toxicity of the drug "Bendamine" ($M \pm m$, $n = 6$)

In the study of relative weights of internal organs, it was found that the introduction of the drug in a 10-fold dose led to a possible change in the relative weight of the liver, spleen (43.9 ± 2.10 ; 4.22 ± 0.47) against the corresponding control values 36.2 ± 1.70 ; 3.85 ± 0.32).

The drug "Bendamine" in therapeutic and 5-fold doses contributed to a slight increase in the weight of the kidneys, while the introduction of the test drug at a much higher dose showed a decrease in the weight of the studied organs.

In the 10-fold dose of the drug relative to the therapeutic, a decrease in the heart rate of the third experimental group by 12.8% relative to the control group. The decrease in lung mass occurred after administration of the drug in 5- and 10-fold doses relative to the therapeutic, respectively, 9.27 ± 0.91 and 9.50 ± 0.75 .

It is known that the duration of thiopental sleep in animals depends on the ability of microsomal liver enzymes to neutralize thiopental by glucuronidation. Usually, in clinically healthy rats, with a normal functional state of the liver, sleep lasts 25–30 minutes. The duration of sleep of animals was counted from the moment of their adoption of the lateral position to the first attempts to change it and expressed in minutes.

It was found that the rats of the control group had an average sleep time of 28.7 ± 1.66 minutes. In rats given the 10-fold therapeutic dose, the mean thiopental test increased by 23 %. The average swimming time of rats in this experimental group was also found to be 9.01 ± 1.32 min, while in the control group, the average swimming time was 12.58 ± 1.45 min (Fig. 3). In therapeutic and 5-fold doses, the drug did not affect the results of functional tests, as indicated by the average sleep time in rats of the second and third experimental groups, 29.4 ± 1.88 and 30.7 ± 0.65 min, and the average swimming time – 12.87 ± 1.57 and 11.69 ± 1.72 min.

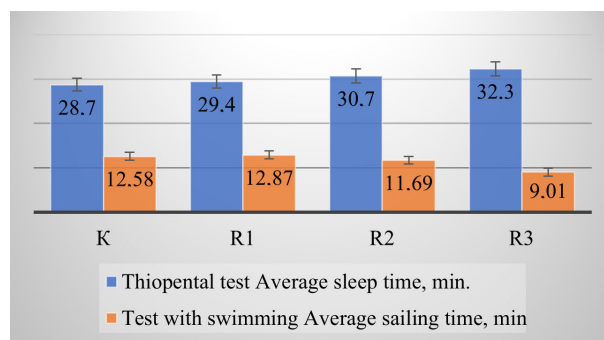


Fig. 3. The results of functional tests ($M \pm m$, $n = 5$)

Therefore, the drug "Bendamine" after administration in therapeutic and 5-fold doses for 30 days does not significantly affect the functional state of the internal organs of experimental animals.

The study of hematological parameters in all animals administered the drug "Bendamine" showed a tendency to increase, compared with the control, the level of hemoglobin in the blood and the average hemoglobin content in erythrocytes, namely: in animals of group R1 by 10.3 and 4.7 %, groups R2 – by 5.1 and 4.1 % (Fig. 4).

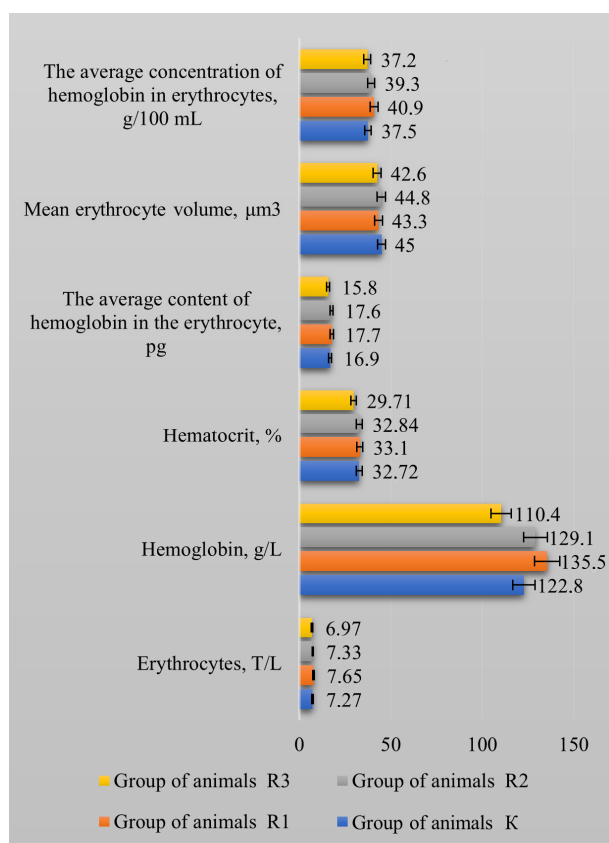


Fig. 4. Morphological parameters of the blood of white rats on the 31st day of the experiment to study the chronic toxicity of the drug “Bendamine” ($M \pm m$, $n = 6$)

After administering the drug to rats at ten times the therapeutic dose, the level of hemoglobin in the blood of rats of the experimental group R3 decreased to 110.4 ± 3.2 g/L, and the average hemoglobin content in erythrocytes decreased by 6.5 % relative to the control group of rats. The number of erythrocytes in the blood of experimental groups R1 and R2 increased by 5.2 and 1 %,

while the experimental group R3 decreased by 4.1 % compared to the control group. The mean erythrocyte volume was lowest in the R1 and R3 rats. In experimental group R2, the mean erythrocyte volume was close to that of the control group of rats. Administration of the drug “Bendamine” to animals of the first experimental group for 30 days led to an increase in hematocrit to 33.10 ± 1.50 %. The lowest hematocrit was in the third experimental group, 29.71 ± 2.53 %.

After administering the test drug to rats of the experimental groups, an increase in the number of leukocytes in the blood of rats R1, R2, and R3 were observed by 4.5, 26.9, and 59.7 %, respectively. The number of platelets in the blood increased only in the first experimental group. The number of lymphocytes in the blood of rats of the experimental groups increased relative to the administered dose. Thus, in the blood of the first experimental group, the number of lymphocytes increased by 1.7 %, in the blood of the second – by 4.1 %, and in the third – by 10 % relative to the control group (Table 2).

In the leukogram of the blood of rats, there was a decrease in the relative number of monocytes to 1.90 ± 0.49 % in the blood of experimental group R3, to 2.12 ± 0.25 % in the blood of rats of group R2 and up to 2.50 ± 0.50 % in the blood of rats of group R1.

The leukogram also showed a slight decrease in the number of rod and segmental neutrophils in the blood of rats of experimental groups R1 and R2. The lowest data were in rats of experimental group R3, which were fed the drug “Bendamine” at a dose ten times higher than the therapeutic, whereas compared to the control group, it decreased by 1.4 and 2.9 %.

The percentage of eosinophils and basophils was lowest in the third experimental group, where it was 1.40 ± 0.25 and 1.91 ± 0.24 %, respectively. In comparison, it was significantly higher in the control group of rats and ranged from 2.50 ± 0.50 and 1.97 ± 0.26 %.

Table 2

Leukogram in white rats on the 31st day of the experiment to study the chronic toxicity of the drug “Bendamine” ($M \pm m$, $n = 6$)

Indexes	Control group	Research groups		
		First	Second	Third
Leukocytes, G/L	7.28 ± 1.13	7.61 ± 1.65	9.24 ± 2.10	$11.63 \pm 1.10^{**}$
Platelets, G/L	499.5 ± 67.4	553.0 ± 75.0	489.8 ± 97.1	497.0 ± 62.4
Lymphocytes, %	61.46 ± 1.93	62.50 ± 2.22	64.00 ± 3.05	$67.60 \pm 1.33^*$
Monocytes, %	2.60 ± 0.41	2.50 ± 0.50	2.12 ± 0.25	1.90 ± 0.49
Eosinophils, %	2.50 ± 0.50	2.00 ± 0.57	1.67 ± 0.66	$1.40 \pm 0.25^*$
Basophils, %	1.97 ± 0.26	1.83 ± 0.16	1.93 ± 0.22	1.91 ± 0.24
Neutrophils (segmental), %	25.30 ± 2.67	25.51 ± 1.64	25.00 ± 2.00	22.40 ± 1.17
Neutrophils (rod-shaped), %	6.17 ± 1.74	5.66 ± 0.90	5.28 ± 1.35	4.79 ± 1.50

In addition, a slight increase in the nonspecific part of the immune system of white rats, namely: phagocytic activity of neutrophils and phagocytic index (Fig. 5).

It was found that the highest phagocytic activity of neutrophils was in the blood of the third experimental group, where it increased by 2.43 % compared to the control group. Similar changes were found after the study

of the phagocytic index, which was higher in the blood of experimental groups R1 and R3 by 2.1 and 21 %. In comparison, in the blood of rats of the experimental group, R2, this figure was lower by 7.6 % relative to the control group.

The results of biochemical studies of serum of rats on the 30th day of administration of the drug “Bendamine”

in different doses are given in the table. 3. It was found that at the therapeutic dose of the drug, there were no deviations in blood parameters that characterize the functional state of the liver.

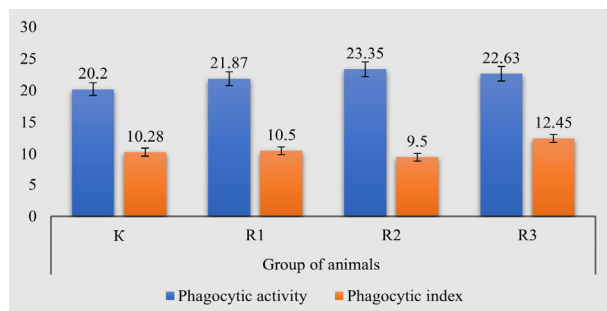


Fig. 5. Indicators of nonspecific immunity in white rats on the 31st day of the experiment to study the chronic toxicity of the drug “Bendamine” ($M \pm m$, $n = 6$)

Table 3

Biochemical parameters of the blood of white rats on the 31st day of the experiment to study the chronic toxicity of the drug “Bendamine” ($M \pm m$, $n = 6$)

Indicators	Control group	Research groups		
		First	Second	Third
ALT, unt/L	53.4 ± 2.45	54.2 ± 3.16	60.2 ± 4.10	70.3 ± 3.34**
AST, unt/L	173.4 ± 3.85	178.2 ± 5.01	180.1 ± 3.50	186.2 ± 4.24*
LF, mkkat/L	1.80 ± 0.30	2.00 ± 0.42	2.25 ± 0.25*	2.77 ± 0.42*
Creatinine, μmol/L	74.07 ± 2.66	67.4 ± 2.11*	70.16 ± 2.85	86.6 ± 3.14*
Urea, mmol/L	5.65 ± 0.20	5.70 ± 0.32	5.76 ± 0.26	4.89 ± 0.47
Total protein, g/L	66.65 ± 2.70	69.36 ± 3.55	66.91 ± 4.10	61.32 ± 4.02
Albumins, g/L	26.30 ± 1.82	31.00 ± 3.64	25.04 ± 3.36	18.95 ± 3.11*
Globulins, g/L	40.35 ± 3.61	38.36 ± 4.85	41.87 ± 5.20	42.37 ± 5.31

After studying the protein fractions in the serum of rats of experimental groups, it was found that the level of albumin in rats of the first experimental group increased by 17.9 %, while in the third experimental group decreased by 17.9 %. The level of globulins in the blood of rats of the first experimental group decreased by 5 %. In contrast, in rats of the second and third experimental groups, globulins increased by 4 and 5 % relative to the control group.

Probable ($P < 0.001$) increase in serum of rats of the third experimental group of creatinine level of $86.6 \pm 3.14 \mu\text{mol/L}$ and a decrease in urea concentration to $4.89 \pm 0.47 \text{ mmol/L}$ by 20.5 % indicates the presence of systemic disorders of not only the liver but also the kidneys.

Therefore, summarizing the results of clinical, morphological, and biochemical parameters, it can be argued that the introduction of the experimental drug “Bendamine” in therapeutic and 5-fold doses for 30 days does not cause visible clinical signs of intoxication, and the studied hematological and biochemical parameters are not obtained animals of the control group.

After a pathological autopsy in the carcasses of rats of control and experimental groups, no external damage was found; the fur is uniform, smooth, shiny, well kept in the hair follicles, and natural openings are closed without a discharge.

With the introduction of the experimental drug in 5-fold and 10-fold doses, rats of experimental groups R2 and R3 showed increased alanine aminotransferase activity by 12.7 and 31.6 % relative to the control group of rats. Similar changes were found in the determination of serum aspartate aminotransferase activity, which increased by 3.9 % in experimental group R2 and 7.4 % in experimental group R3 in rats of the control group. The serum of experimental rats found an increase in alkaline phosphatase activity by 11 % (R1), 25 % (R2), and 54 % (R3), respectively.

Protein-synthesizing and detoxifying functions of the liver in animals of the experimental groups did not change significantly, and the indicators that characterize them tended to increase slightly. Thus, the total protein level in the serum of the first experimental group increased by 4 %, and the concentration of urea increased by 1 %. Only in the third experimental group were inhibition of protein-synthesizing and detoxifying function of the liver, which indicates a decrease in serum total protein to $61.32 \pm 4.02 \text{ g/L}$ and urea concentration to $4.89 \pm 0.47 \text{ mmol/L}$.

An internal examination revealed that the location of the thoracic and abdominal cavities was anatomically correct. Peritoneum smooth, shiny, moist, without layers. Content in the thoracic and abdominal cavities - little, transparent, watery consistency. Lungs pale pink, loose, divided into lobes, pulmonary and costal pleura smooth, shiny without layers. The heart is conical; the pericardium is transparent without layers, and the myocardium is elastic and uniformly colored red. Stomach, small intestines are moderately filled with food masses, large intestines - with formed fecal masses, mucous membrane pale pink, shiny, moist, without layers. Liver dark red, smooth capsule, sharp edges, with a characteristic structure in section, elastic consistency, in rats receiving ten times the therapeutic dose of Bendamin, noted the presence of single foci of light brown color with a smoothed pattern of parenchyma on the incision.

Bean-shaped kidneys, dark red, the edges of the incision converge, the boundary between the cortical and cerebral areas is preserved, and the capsule is easily removed; in some rats receiving ten times the therapeutic dose of Bendamine, observed a slight increase in organ with the uneven color of the subcapsular surface. Spleen dark cherry color, sharp edges, the cut structure is preserved, the scrape is small or moderate in various individuals. The bladder is

moderately filled with urine; the wall is not thickened, and the mucous membrane is pale pink, without layers.

Histological examination of the liver structure of all studied groups of rats was preserved and represented by a lobular structure. The radial placement of liver beams around the central vein, triad zone without structural features, and organ vessels devastated or moderately filled (Fig. 6). Hepatocytes are polygonal; the cytoplasm is homogeneous, well-colored, with round nuclei, clearly contoured (Fig. 7).

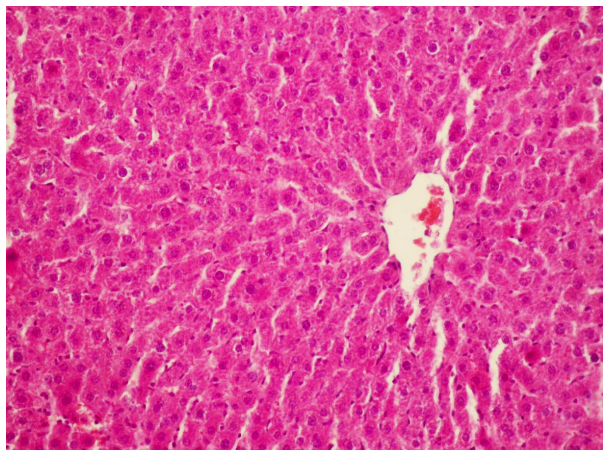


Fig. 6. Histological structure of the rat liver of the control group. Hepatocytes are radially arranged. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 20

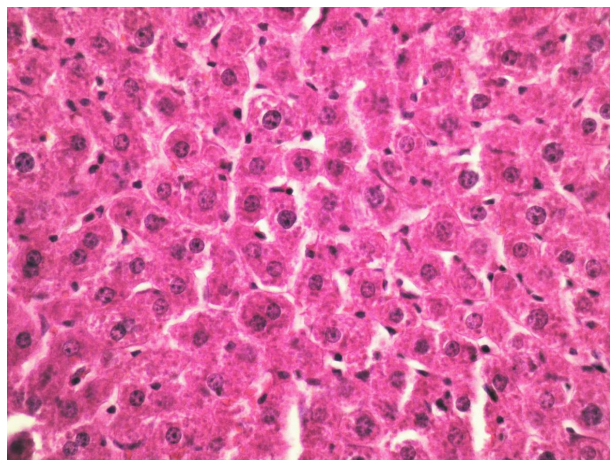


Fig. 7. Rat liver of the control group. Hepatocytes are polygonal; the cytoplasm is homogeneous, and the nucleus is preserved. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 40

In rats of the second experimental group, given a 5-fold dose of the drug, we observed moderate dilation of intra lobule capillaries and venous lumen, granular dystrophy of hepatocytes in the centrilobular part of the lobe.

Rats of the third experimental group, which received a 10-fold therapeutic dose of the drug Bendamine, more often found a discomplexation of the lamellar structure of the liver lobes. Hepatocytes were placed out of order, sinusoidal capillaries dilated. The presence of hepatocytes with heterogeneous cytoplasmic color and granularity was observed over the entire area of the lobes. Enlightened hepatocytes with enlightened cytoplasm were more common. Among them were cells with lysed and pyknotic

nuclei and blurred cell contours. Isolated clusters of round-cell elements were observed in the triad region. The identified changes indicate the development of protein dystrophy and necrobiotic processes (Fig. 8–11).

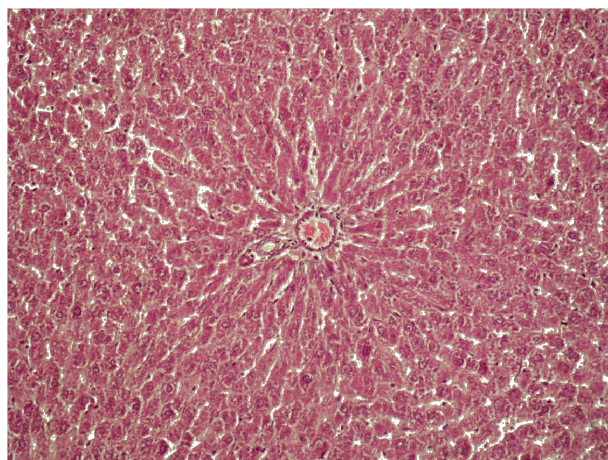


Fig. 8. Histological structure of rat liver of the second experimental group. Triad. Moderate varicose veins. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 10

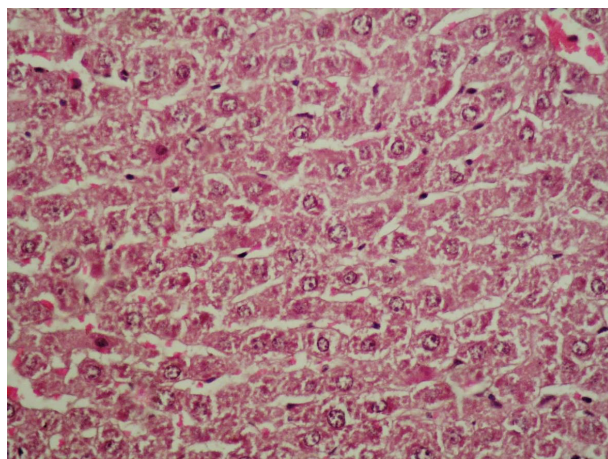


Fig. 9. Rat liver of the third experimental group. Discomplexation of the lamellar structure of the lobe. Sinusoidal capillaries are dilated. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 20

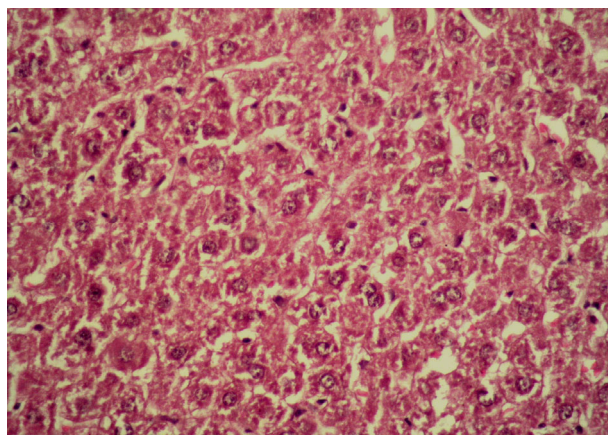


Fig. 10. Rat liver of the third experimental group. The cytoplasm of hepatocytes is granular, unevenly stained, devastated; some nuclei are hypertrophied. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 20

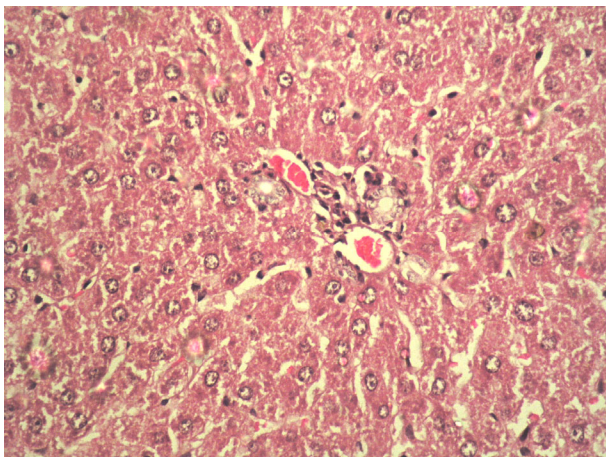


Fig. 11. Rat liver of the third experimental group. Minor cellular infiltration in the hepatic triad. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 20

The histological structure of the kidneys of rats of all study groups is preserved. No changes were detected in rats of the first and second experimental groups (Fig. 12–14).

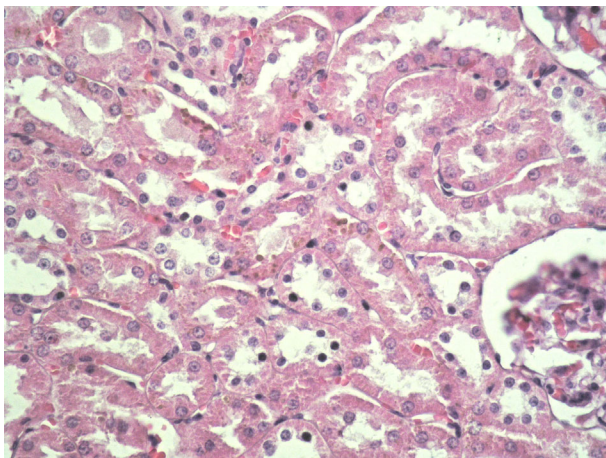


Fig. 12. Tortuous renal tubules of the rat control group. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 20

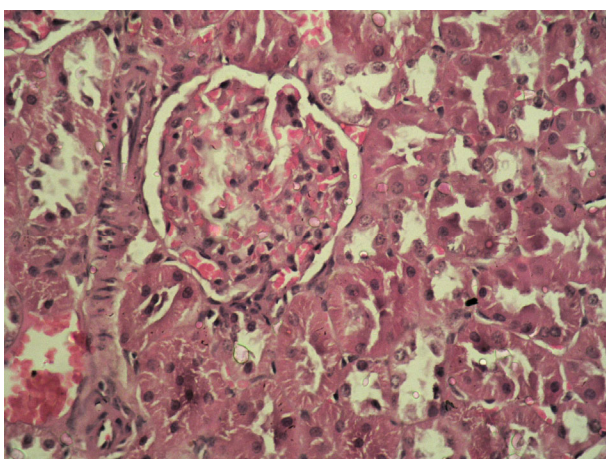


Fig. 13. Renal glomerulus and tortuous canal rats of the first experimental group. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 40

In the kidneys of rats treated with a 10-fold therapeutic dose of the drug “Bendamine” for 30 days, focal granular protein dystrophy of the epithelium of the tortuous

renal tubules with narrowing of their lumen was detected. The nuclei of some nephroepitheliocytes are enlarged, some with signs of karyopyknosis and karyorrhexis. The capillary network of individual glomeruli is compacted, the lumen between the Shumlyansky-Bowman capsule is enlarged, and the contents are absent (Fig. 12–16).

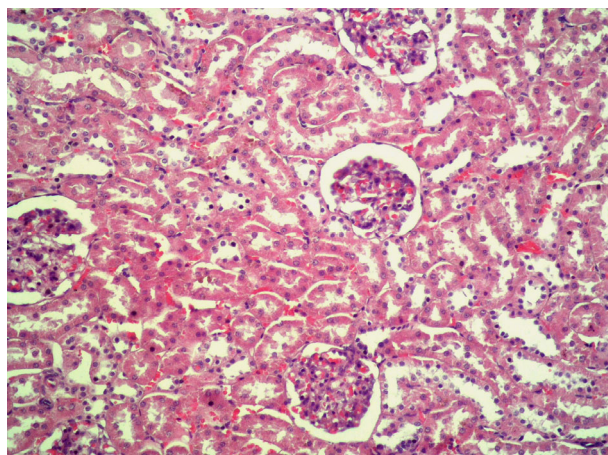


Fig. 14. Histological structure of the rat kidney of the second experimental group. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 10

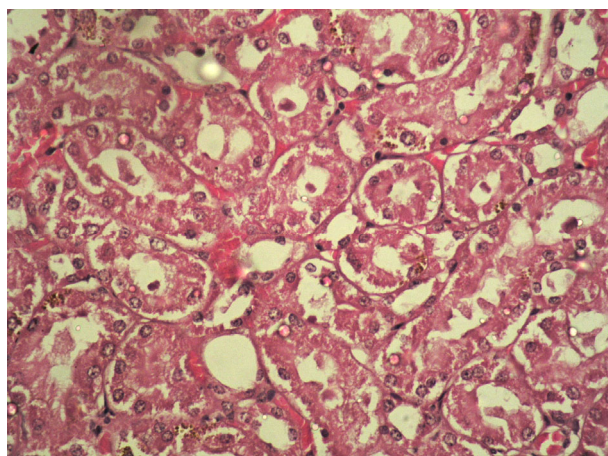


Fig. 15. Rat kidney of the third experimental group. Granular dystrophy of the epithelium of the tortuous renal tubules. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 20

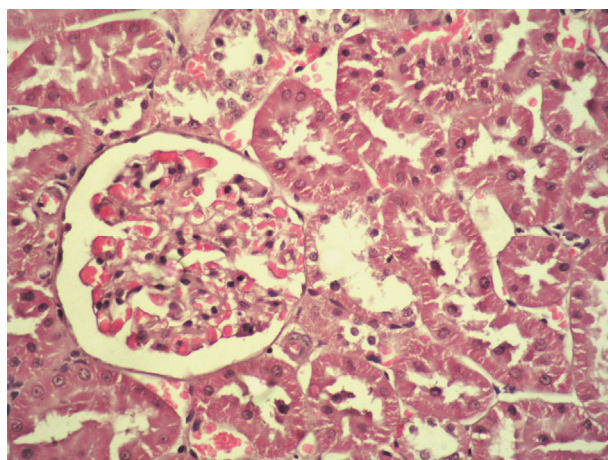


Fig. 16. Rat kidney of the third experimental group. Sealing of the capillary network of the renal glomerulus. ep. 10, lens 40

The myocardium of rats of the control and the first and second experimental groups is represented by bundles of muscle fibers with preserved transverse striation; the nuclei of cardiomyocytes are clear and located in the center of the cell (Fig. 18). A moderate accumulation of transudate was observed in the intermuscular lumen (Fig. 19). In the myocardium of rats of the third experimental group, foci of fibrosis, thickening, fragmentation of muscle fibers, and loss of transverse and longitudinal striation were observed.

Sarcoplasm in some places contained acidophilic granularity; the nuclei are mostly preserved, some swollen with low chromatin content, intermuscular lumen moderately dilated, impregnated with weakly oxyphilic transudate, indicating the development of moderate edema and dystrophic processes in the body (Fig. 17–21).

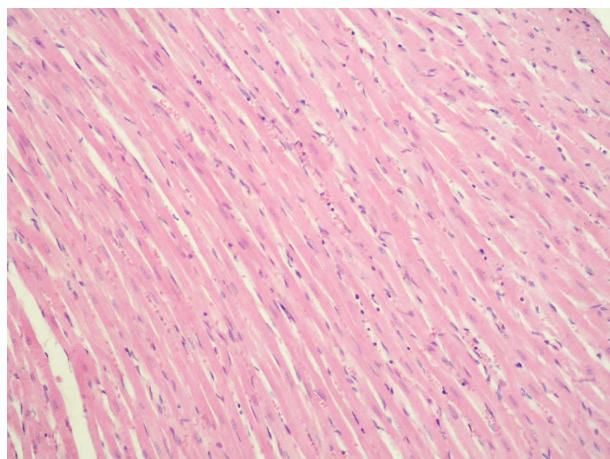


Fig. 17. Histological structure of the rat myocardium of the control group. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 10

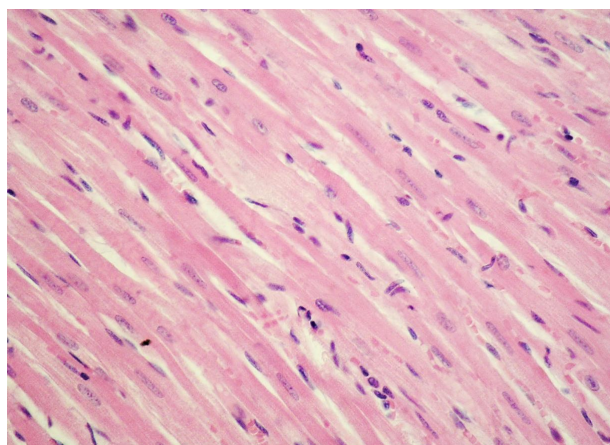


Fig. 18. Rat myocardium of the control group. The sarcoplasm of cardiomyocytes is homogeneous, the nuclei are clearly delineated. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 20

Therefore, when administered intramuscularly to rats with the drug “Bendamine” for 30 days, the macroscopic and microscopic structure of the studied internal organs is preserved in all groups of animals. The second experimental group revealed reversible moderate histostructural changes in the liver and kidneys. In rats treated with ten times the therapeutic dose of Bendamine, histologically revealed hemodynamic abnormalities and alterations in

dystrophic nature, mainly of protein origin, with focal localization in the parenchyma of the liver, kidneys, and myocardium, which in most cases are reversible and result from compensatory response macroorganism on the introduction of a high dose of the study drug.

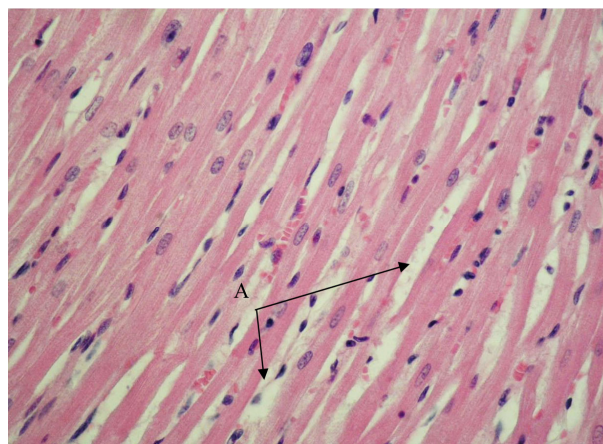


Fig. 19. Histological structure of the rat myocardium of the first experimental group. A – moderate intermuscular edema; Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 20

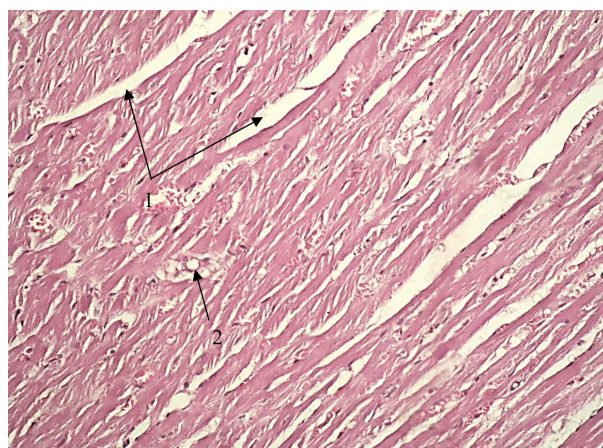


Fig. 20. Rat myocardium of the third experimental group. Loosening of connective tissue fibers, thickening of muscle fibers. Perivascular edema. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens 10

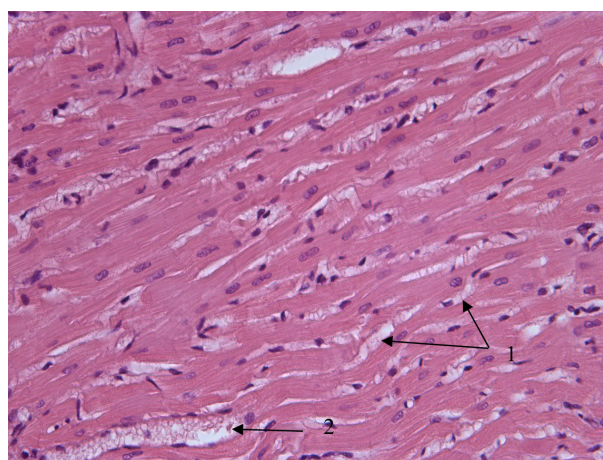


Fig. 21. Rat myocardium of the third experimental group. Permeation of intermuscular fibers with transudate. Hyperemia. Hematoxylin and eosin. ep. 10, lens. 40

Conclusions

1A study of the chronic toxicity of the drug “Bendamine” in white rats indicates that prolonged 30-day administration in therapeutic doses or 5-fold dose does not cause clinical signs of poisoning, as evidenced by physiological limits of fluctuations in morphological and biochemical parameters of blood rats.

2. Prolonged administration to rats of the drug “Bendamine” in a 10-fold dose is accompanied by a slight suppression of the physiological state of the body, as indicated by a decrease in total erythrocytes and hemoglobin by 10.1 % against an increase in white blood cells by 59.8 % ($P < 0.001$). In addition, there was a decrease in the functional state of the liver, as evidenced by a probable decrease in total protein by 8.0 % and urea – by 13.5 %, as well as an increase in ALT, AST, and alkaline phosphatase by 31.6 %, 7.4 %, and 53.9 % respectively. Probable changes in the coefficients of liver and spleen mass have been established.

3. Under the conditions of administration of 10 times the therapeutic dose of Bendamine to rats, there is a violation of hemodynamics of various organs on the background of dystrophic changes, protein origin, with focal localization in the parenchyma of the liver, kidneys, and myocardium. The established changes are a consequence of the compensatory reaction of the macroorganism to the introduction of an increased dose of the study drug and are mostly reversible.

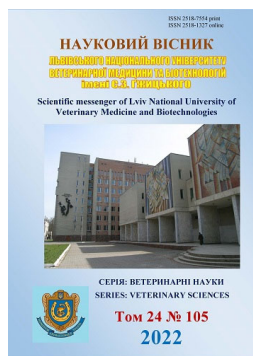
Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

References

- Borgarelli, M., & Buchanan, J. W. (2012). Historical review, epidemiology, and natural history of degenerative mitral valve disease. *Journal of Veterinary Cardiology*, 14(1), 93–101. DOI: 10.1016/j.jvc.2012.01.011.
- Borgarelli, M., Tarducci, A., Zanatta, R., & Haggstrom, J. (2007). Decreased systolic function and inadequate hypertrophy in large and small breed dogs with chronic mitral valve insufficiency. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(1), 61–67. DOI: 10.1892/0891-6640(2007)21[61:dsfaih]2.0.co;2.
- Brett, J., Wylie, C., & Brown, J. (2019). A case of significant hypotension following a human ingestion of veterinary pimobendan. *Clin Toxicol (Phila)*, 20, 1–2. DOI: 10.1080/15563650.2019.1613550.
- Fox, P. R. (2012). Pathology of myxomatous mitral valve disease in the dog. *Journal of Veterinary Cardiology*, 14(1), 103–126. DOI: 10.1016/j.jvc.2012.02.001.
- Gutyj, B., Khariv, I., Binkevych, V., Binkevych, O., Levkivska, N., Levkivskyj, D., & Vavrysevich, Y. (2017). Research on acute and chronic toxicity of the experimental drug Amprolinsyl. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(1), 41–45. DOI: 10.15421/021708.
- Gutyj, B., Paska, M., Levkivska, N., Peleny, R., Nazaruk, N., & Guta, Z. (2016). Study of acute and chronic toxicity of ‘injectable mevesel’ investigational drug. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnitskiy Melitopol State Pedagogical University*, 6(2), 174–180. DOI: 10.15421/201649.
- Hollmer, M., Willesen, J. L., Tolver, A., & Koch, J. (2017). Left atrial volume and function in dogs with naturally occurring myxomatous mitral valve disease. *Journal of Veterinary Cardiology*, 19(1), 24–34. DOI: 10.1016/j.jvc.2016.08.006.
- Kotsiumbas, I. Ia., Malyk, O. H., & Patereha, I.P. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv*. L.: Triada plus (in Ukrainian).
- Lavryshyn, Y. Y., Varkholyak, I. S., Martyschuk, T. V., Guta, Z. A., Ivankiv, L. B., Paladischuk, O. R., Murska, S. D., Gutyj, B. V., & Gufriy, D. F. (2016). The biological significance of the antioxidant defense system of animals body. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhyskyj*, 18, 2(66), 100–111. DOI: 10.15421/nvlvet6622.
- Malanin, L. P., Morozov, A. P., & Selivanova, A. S. (1988). *Metodicheskie ukazaniya po opredeleniyu toksicheskikh svoystv preparatov, primenyaemykh v veterinarii i zhivotnovodstve*. Veterinarnye preparaty: Spravochnik. Moskva: Agropromizdat, 239–289 (in Russian).
- Martyschuk, T. V. (2016). The influence of oxidative stress on the state of the antioxidant defense system in the organism of rats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 7(1), 8–12. DOI: 10.15421/021602.
- Martyschuk, T. V., & Hutyi, B. V. (2021). *Imunofiziologichnyi stan ta antyoksydantnyi potentsial orhanizmu porosiat za umov oksydatsiinoho stresu ta dii koryhuiuchykh chynnykiv: monohrafiia*. Lviv: SPOLOM (in Ukrainian).
- Martyschuk, T. V., Gutyj, B. V., & Vishchur, O. I. (2016). Level of lipid peroxidation products in the blood of rats under the influence of oxidative stress and under the action of liposomal preparation of “Butaselmavit”. *Biological Bulletin of Bogdan Khmelnytsky Melitopol State Pedagogical University*, 6(2), 22–27. DOI: 10.15421/201631.
- Martyschuk, T., & Gutyj, B. (2019). Influence of feed additive “Butaselmavit-Plus” on antioxidant status of rats in conditions of oxidative stress. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural Sciences*, 21(90), 76–81. DOI: 10.32718/nvlvet-a9013.
- Menciotti, G., Borgarelli, M., Aherne, M., Wesselowski, S., Haggstrom, J., Ljungvall, I., Lahmers, S. M., & Abbott, J. A. (2017). Mitral valve morphology assessed by three-dimensional transthoracic echocardiography in healthy dogs and dogs with myxomatous mitral valve disease. *Journal of Veterinary Cardiology*, 19(2), 113–123. DOI: 10.1016/j.jvc.2017.01.002.
- Merveille, A.-C., Bolen, G., Krafft, E., Roels, E., Gomart, S., Etienne, A.-L., Clercx, C., & Entee, K. Mc. (2015). Pulmonary Vein-to-Pulmonary Artery Ratio is an Echocardiographic Index of Congestive Heart Failure in Dogs with Degenerative Mitral Valve Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(6), 1502–1509. DOI: 10.1111/jvim.13634.
- Morgan, K. R. S., Monteith, G., Raheb, S., Colpitts, M., & Fonfara, S. (2020). Echocardiographic parameters for the assessment of congestive heart failure in dogs

- with myxomatous mitral valve disease and moderate to severe mitral regurgitation. *The Veterinary Journal*, 263, 1–25. DOI: 10.1016/j.tvjl.2020.105518.
- Oldach, M. S., Ueda, Y., Ontiveros, E. S., Fousse, S. L., Harris, S. P., & Stern, J. A. (2019). Cardiac Effects of a Single Dose of Pimobendan in Cats With Hypertrophic Cardiomyopathy; A Randomized, Placebo-Controlled, Crossover Study. *Front Vet Sci*, 6, 15. DOI: 10.3389/fvets.2019.00015.
- Ramírez, V. L., Berrío, A., & Arias, M. P. (2016). Correlation between the clinical stage, echocardiographic findings and systemic blood pressure in dogs with Degenerative Disease of the Mitral Valve. *CES Veterinary medicine and Zootechnics*, 11(2), 61–72. DOI: 10.21615/cesmvz.11.2.5.
- Rylova, M. L. (1964). *Metody issledovaniya hronicheskogo dejstviya vrednyh faktorov sredy v jeksperimente*. L. (in Russian).
- Tjostheim, S. S., Kellihan, H. B., Grint, K. A., & Stepien, R. L. (2019). Effect of sildenafil and pimobendan on intracardiac heartworm infections in four dogs. *J Vet Cardiol*, 23, 96–103. DOI: 10.1016/j.jvc.2019.02.001.
- Todoriuk, V. B., Hunchak, V. M., Guttyj, B. V., Gufriy, D. F., Hariv, I. I., Khomyk, R. I., & Vasiv, R. O. (2018). Preclinical research of the experimental preparation “Ferosel T”. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 1(1), 3–9. DOI: 10.32718/ujvas1-1.01.
- Trofimiak, R., & Slivinska, L. (2021). Diagnostic value of echocardiographic indices of left atrial and ventricular morphology in dogs with myxomatous mitral valve disease (MMVD). *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 4(1), 16–23. DOI: 10.32718/ujvas4-1.04.
- Undhad, V. V., Fefar, D. T., Jivani, B. M., Gupta, H., Ghodasara, D. J., Joshi, B. P. & Prajapati, K. S. (2012). Cardiac troponin: an emerging cardiac biomarker in animal health. *Vet. World*, 5, 508–511. URL: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012076537>.
- Varkholiak, I. S., & Guttyj, B. V. (2018). Determination of acute toxicity of “Bendamin” drug in laboratory animals. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 20(92), 209–212. DOI: 10.32718/nvlvet9243.
- Varkholiak, I. S., Guttyj, B. V., Leskiv, Kh. Ya., Kushnir, V. I., Hariv, I. I., Martyshuk, T. V., & Guta, Z. A. (2021). The effect of bendamine on antioxidant protection of rats' myocardium in doxorubicin intoxication. *Colloquium-journal*, 7(94), 18–21. DOI: 10.24412/2520-6990-2021-794-18-21.
- Varkholiak, I., Guttyj, B., Gufriy, D., Sachuk, R., Mylostyvyi, R., Radzykhovskiy, M., Sedilo, H., & Izboldina, O. (2021). The effect of the drug “Bendamine” on the clinical and morphological parameters of dogs in heart failure. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 4(3), 76–83. DOI: 10.32718/ujvas4-3.13.
- Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., & Raty'ch, I. B. (2012). *Laboratorni metody doslidzhen' u biologiyi, tvary'ny'czty ta vetery'narnij medy'cy'ni: dovidny'k*. L'viv: Spolom (in Ukrainian).
- Yata, M., Kooistra, H. S., & Beijerink, N. J. (2019). Cardiorenal and endocrine effects of synthetic canine BNP1-32 in dogs with compensated congestive heart failure caused by myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med*, 33(2), 462–470. DOI: 10.1111/jvim.15416.
- Zhulikova, O. A. (2016). Monitoring rasprostraneniya serdechno-sosudistyh zabolevanij sredi koshek i sobak v g. Blagoveshensk amurskoj oblasti. *Dal'nevostochnyj agrarnyj vestnik*, 2(38), 49–56. <https://cyberleninka.ru/article/n/monitoring-rasprostraneniya-serdechno-sosudistyh-zabolevanij-sredi-koshek-i-sobak-v-g-blagoveshensk-amurskoj-oblasti> (in Russian).



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10517

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 631.57: 664.126 (4778)

Veterinary and sanitary assessment of food products on quality and safety indicators in Zhytomyr region

V. A. Kotelevych¹✉, I. A. Volkivskiy², O. V. Pinskyi³, L. V. Matseiko³, L. M. Davydenko³, O. V. Stoliarenko³

¹Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

²Main Department of the State Food and Consumer Service in Zhytomyr Oblast, Zhytomyr, Ukraine

³Zhytomyr Regional State Laboratory of the Service of Ukraine for Food Safety and Consumer Protection, Zhytomyr, Ukraine

Article info

Received 08.02.2022

Received in revised form

09.03.2022

Accepted 10.03.2022

Polissia National University,
Stryk Boulevard, 7, Zhytomyr,
10008, Ukraine.
Tel.: +38-067-456-23-80
E-mail: valya.kotelevich@ukr.net

Main Department of the State Food
and Consumer Service in Zhytomyr
Oblast, Zhytomyr, Ukraine.

Zhytomyr Regional State Laboratory
of the Service of Ukraine for
Food Safety and Consumer
Protection, Zhytomyr, Ukraine.

Kotelevych, V. A., Volkivskiy, I. A., Pinskyi, O. V., Matseiko, L. V., Davydenko, L. M., & Stoliarenko, O. V. (2022). Veterinary and sanitary assessment of food products on quality and safety indicators in Zhytomyr region. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 120–128. doi: 10.32718/nvlvet10517

The veterinary and sanitary assessment results of food products according to SLVSE agro-food markets of Zhytomyr and Zhytomyr region and Zhytomyr regional state laboratory of the Service of Ukraine for Food Safety and Consumer Protection for 2021 are presented. In total, 68.151 tons of products were not allowed to be sold, and 8866 positive research results were obtained, including 50 carcasses and 3305 cases of invasive and non-communicable diseases. The main reason for the rejection of offal in 2021 was invasive and non-communicable diseases, which significantly worsened the sanitary indicators of product quality. MAFAnM of the liver, which was cleaned due to fasciolosis, is higher than in the same organ obtained from healthy animals by 86.0 %. The highest percentage of affected samples for *E. coli* was found in the study of the lungs (50.0 %), in the presence of *Klebsiella* – the heart (50.0 %). In terms of quality and safety (the content of toxic elements, pesticides, mycotoxins, antibiotics, radionuclides), the studied 212838 food samples in 47 exceeded the content of ¹³⁷Cs following the State Hygienic Standards. The most dangerous are the gifts of the forest. Excess was found in 30 samples of fresh mushrooms and 13 – dry. The specific activity of ¹³⁷Cs in the sample of fresh mushrooms from Popelny exceeded DR-2006 6.9 times, five samples from Lugin – 1.4–2.0 times, nine samples from Narodychi – the maximum exceedance 2.2 times, six samples from Novograd – 1.2–1.8 times, six samples from Ovruch – 1.2–1.7 times. The specific activity on the content of ¹³⁷Cs in 3 samples of dried mushrooms from Narodychi exceeded DR-2006 by 2.1–6.7 times, two samples from Olevsk – by 1.6 and 5.6 times, 1 sample from Lugin – by 2.6 times, four samples from Ovruch – 1.0–1.6 times, three samples from Yemilchino – 1.0–1.1 times). The system of monitoring sanitary-hazardous pathogens and residual amounts of toxic substances and radionuclides remains the guarantor of food safety in Ukraine. To eliminate the risk of food consumer hazards, it is necessary to improve the control system of raw materials used to manufacture products, safety indicators at all stages of production “from the field – to the table”, and remove substandard products.

Key words: food, toxic elements, pesticides, mycotoxins, antibiotics, radionuclides, *Salmonella*, food poisoning.

Ветеринарно-санітарна оцінка харчових продуктів за показниками якості та безпечності у Житомирській області

В. А. Котелевич¹✉, І. А. Волківський², О. В. Пінський³, Л. В. Мацейко³, Л. М. Давиденко³, О. В. Столяренко³

¹Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

²Головне управління Держспроодспоживслужби в Житомирській області, м. Житомир, Україна

³Житомирська регіональна державна лабораторія служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів, м. Житомир, Україна

Наведені результати ветеринарно-санітарної оцінки харчових продуктів за даними ДЛВСЕ агропродовольчих ринків м. Житомира і Житомирської області та Житомирської регіональної державної лабораторії служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів за 2021 рік. Всього не допущено до реалізації: 68,151 т продукції та отримано 8866 позитивних результатів досліджень, в тому числі 50 туш, 3305 випадків інвазійних та незаразних захворювань. Основною причиною вибраковки субпродуктів у 2021 році були інвазійні та незаразні захворювання, які значно погіршують санітарні показники якості продукції. МАФАНМ печінки, яка зачищена з причин фасціолюзу, вища, ніж в цьому ж органі, отриманому від здорових тварин, на 86,0 %. Найбільший відсоток уражених проб за *E. coli* було виявлено при дослідженні легень (50,0 %), за наявності клесієли – серце (50,0 %). За показниками якості та безпечності (вміст токсичних елементів, пестицидів, мікотоксинів, антибіотиків, радіонуклідів) з досліджених 212838 зразків харчових продуктів у 47 виявлено перевищення за вмістом ¹³⁷Cs відповідно до Державних гігієнічних нормативів. Найбільш небезпечними залишаються дари лісу. Перевищення виявлено в 30 пробах свіжих грибів і 13 – сухих. Питомі активності за вмістом ¹³⁷Cs у зразку свіжих грибів з Попельні перевищили ДР-2006 у 6,9 раза, 5 зразків з Лугін – у 1,4–2,0 раза, 9 зразків з Народичів – максимальне перевищення у 2,2 раза, 6 зразків з Новограда – у 1,2–1,8 раза, 6 зразків з Овруча – у 1,2–1,7 раза. Питомі активності за вмістом ¹³⁷Cs у 3 зразках сухих грибів з Народичів перевищили ДР-2006 у 2,1–6,7 раза, 2 проб з Олевська – у 1,6 та 5,6 раза, 1 зразка з Лугін – у 2,6 раза, 4 зразків з Овруча – у 1,0–1,6 раза, 3 проб з Ємільчино – у 1,0–1,1 раза). Гарантом безпечності харчової продукції в Україні залишається система моніторингу санітарно-небезпечних збудників та залишкових кількостей токсичних речовин, радіонуклідів. Для усунення ризику небезпек споживача харчових продуктів необхідно удосконалювати систему контролю сировини, яку використовують для виготовлення продуктів, за показниками безпечності на всіх етапах виробництва “від лану – до столу” та вилучати неякісну продукцію.

Ключові слова: харчові продукти, токсичні елементи, пестициди, мікотоксини, антибіотики, радіонукліди, *Salmonella*, харчові отруєння.

Вступ

На сучасному етапі розвитку суспільства найважливішу роль відіграє якісна та безпечна продукція, яку споживає населення (Gutyj et al., 2017; Bogatko, 2019; Nachak et al., 2019; Piven et al., 2020; Kotelevych et al., 2021). На думку фахівців (Pawsey Rosa, 2009; Bohatko, 2011; 2019), виникла загроза генетичної сутності людини. Спеціалісти (лікарі, біологи, хіміки) встановили причини серйозного погіршення здоров'я людей. Це пов'язано з наявністю шкідливих хімічних та інших речовин у питній воді, повітрі, але найбільше (80 %) – у продуктах харчування. Тому актуальною проблемою сьогодення є забезпечення якості та безпечності продуктів харчування для життя і здоров'я людини, відсутність ризику для генетичних і патологічних змін в організмі людини.

Варто наголосити, що однією з головних причин виникнення захворювань харчового походження є біологічні небезпеки в продуктах харчування тваринного походження. М'ясо – цінний харчовий продукт для людини, але водночас може бути сприятливим середовищем для життєдіяльності мікроорганізмів. За даними науковців (Pennacchia et al., 2011; Salata, 2017; Salata et al., 2017; Kyryliuk, & Kyryliuk, 2018), бактеріальне обсіменіння туші може відбуватися при порушенні технологічного процесу забою, забрудненими інструментами, руками, одягом працівників тощо. Проведення ветеринарно-санітарної експертизи продуктів забою на належному рівні на агропродовольчих ринках є важливим завданням спеціалістів ветеринарної медицини (Adam et al., 2010; Bruckner et al., 2012; Alonso-Hernando et al., 2013; Kukhtyn et al., 2020).

Продукти тваринництва належать до категорії найбільш цінних продуктів харчування. Виробництво продукції тваринництва високої якості передбачає дотримання санітарно-гігієнічних умов із використанням ефективних методів і засобів санітарної обробки обладнання та виробничих приміщень. Провідну роль

для отримання якісних продуктів забою тварини відіграє первинна переробка, у т. ч. оглушення, знекровлення, знімання шкур (чи шпарка для свинячих туш), видалення нутроців та інші операції і подальші автолітичні процеси (Casaburi et al., 2014; Popelka et al., 2016; Cantalejo et al., 2016; Salata, 2017; Kotelevych, 2018).

Засіяння мікрофлорою може виявлятися у продуктах забою, що були отримані від тварин, які не мали клінічних ознак захворювання (Kotelevych, 2017; 2018; 2019). Спалахи харчових отруєнь можуть виникати як наслідок секундарної контамінації продукції тваринного походження в процесі заготівлі, забою, розбирання туш, зберігання у холодильниках і виготовлення їжі. Для запобігання виникнення цим захворюванням необхідно проводити санітарно-гігієнічні заходи упродовж усього харчового ланцюга (Dave & Ghaly, 2011; Doulgeraki et al., 2012; Kotelevych, 2018; 2019). Отже, особливої уваги заслуговують питання ветеринарно-санітарної експертизи продуктів забою тварин як основної ланки профілактики харчових токсикоінфекцій і токсикозів людей, викликаних зокрема м'ясом і м'ясними продуктами. Безпека харчових продуктів передбачає здійснення всіх заходів на належному рівні, щоб запобігти виникненню харчових захворювань. Мається на увазі, що виробники та реалізатори продуктів харчування повинні дотримуватись низки процедур, щоб уникнути потенційно серйозних небезпек для здоров'я. Як зазначає ВООЗ, достатня кількість безпечного та збалансованого харчування є важливим фактором для підтримки життя та зміцнення здоров'я. Якість і безпечність харчових продуктів особливо важливі для новонароджених та немовлят, людей похилого віку та хворих.

Беручи до уваги те, що ланцюг поставок продуктів харчування носить міжнародний характер, лише ефективна співпраця між урядами держав, виробниками і споживачами харчової продукції буде сприяти їх безпечності (Kyryliuk & Kyryliuk, 2018). Серед них і наша держава намагається вирішувати питання продовольчої

безпеки на законодавчому рівні. Однак це питання не лише держави, а й кожного з нас. Відповідальне ставлення до вибору продуктів та складання раціону є основою збереження здоров'я та профілактики захворювань, що пов'язані зі способом харчування. Харчові токсикоінфекції і токсикози, крім шкоди для здоров'я окремої людини, завдають значних втрат для економіки та іміджу держави, виробничих підприємств, торгівлі, туризму. Щоб відвернути ці несприятливі наслідки у кожній державі здійснюють певні заходи та приймають низку нормативних документів. В Україні діючими є Закон “Про якість та безпеку харчових продуктів та продовольчої сировини”, “Про державний контроль за дотриманням законодавства про харчові продукти, корми, побічні продукти тваринного походження, здоров'я та благополуччя тварин” ([Закон України № 2042](#)), “Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів” ([Закон України, 1998](#)). Згідно з цими Законами, пріоритетним є збереження здоров'я людини та її право на безпечну і якісну продукцію. Відповідальність за безпечність харчових продуктів несе виробник, а контроль – на боці держави у межах компетенцій Державної служби з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів. Саме тому питання якості та безпечності харчових продуктів були й залишаються актуальним предметом наукових досліджень.

Мета досліджень. Метою наших досліджень є надати ветеринарно-санітарну оцінку харчовим продуктам у Житомирській області за показниками якості та безпечності. Для вирішення цієї мети перед нами були поставлені такі завдання:

- провести аналіз звітної документації державних лабораторій ветсанекспертизи агропродовольчих ринків м. Житомира і

Житомирської області за 2021 рік на предмет визначення якості та безпечності харчових продуктів;

- провести аналіз якості та безпечності харчових продуктів, що надходили на дослідження в ЖРД-ЛДПСС протягом 2021 року;

- провести бактеріологічні дослідження зразків субпродуктів від здорових тварин та після зачистки з причин інвазійних і незаразних хвороб.

Матеріал і методи досліджень

Матеріалом наших досліджень була звітна документація Житомирської регіональної державної лабораторії ДПСС (ЖРДЛДПСС) за 2021 рік та державних лабораторій ВСЕ агропродовольчих ринків м. Житомира і Житомирської області; зразки харчових продуктів. Наші дослідження включали: органолептичні, фізико-хімічні, мікробіологічні показники, визначення токсичних елементів, антибіотиків, радіонуклідів. Бактеріологічні дослідження зразків субпродуктів від здорових тварин та після зачистки з причин інвазійних і незаразних хвороб проводили відповідно до ДСТУ 8381:2015 “М'ясо і м'ясні продукти. Організація та методи мікробіологічних досліджень” в бактеріологічній лабораторії ДУ “Житомирський обласний лабораторний центр МОЗ України”.

Результати та їх обговорення

На 1.01.2022 р. в Житомир-ський області та в м. Житомирі діє 39 агропродовольчих ринків, на яких розміщено 33 акредитованих на право вимірювань державних лабораторій ветсанекспертизи (ДЛВСЕ). Спеціалістами ДЛВСЕ у 2021 році оглянуто і проведено експертиз 383931, лабораторних досліджень – 1060052 (табл. 1).

Таблиця 1

Оглянуто і проведено досліджень харчових продуктів спеціалістами ДЛВСЕ Житомирської області у 2021 році

№ п/п	Назва продукту	Кількість	Вага, тис. тонн
1	Яловичина	4164	0,35213
2	Свинина	44302	3,0376
3	Баранина	170	0,004442
4	Птиця	7130	0,132596
5	Інші види тварин (нутрії, кролі, дичина)	329	0,005041
6	Риба, рибопродукти	29583	26, 56841
7.	Яйця	8111	875,368
8.	Молоко, молоко-продукти	75914	0,92158
9	Мед	269	0,017626
10	Рослинна продукція	99100	14,10235
11	Рослинні жири та ін. харчові продукти	18698	1,68539
12	Продукція промислового виготовлення	96161	4,23651

За даними звітної документації ДЛВСЕ за 2021 рік не допущено до реалізації такі харчові продукти:

- риба та рибопродукти – 2,611 т (9,8 %) за результатами біохімічних досліджень, порушення термінів реалізації, відсутні документи, повторна дифростація;

- яйця – 0,54 т з причини побитостей, механічної

забрудненості, порушення термінів та умов зберігання, за результатами овоскопії;

- молоко та молокопродукти – 9,218 т з причини порушення термінів реалізації, механічної забрудненості, фальсифікації, незадовільних органолептичних показників, жир та кислотність не відповідали нормативним вимогам;

- мед – 0,019 т з причин фальсифікації;
- рослинні жири та інші харчові продукти – 0,74 т;
- рослинної продукції – 37, 885 т.

Всього не допущено до реалізації: 68,151 т продукції та отримано 8866 позитивних результатів досліджень, в т. ч. 50 туш, 3305 випадки інвазійних та незаразних захворювань; відсутність супровідних документів – 8,235 тонн; 5561 випадків інших продуктів харчування загальною вагою 59,916 тонн.

За даний період спеціалістами державних лабораторій ветеринарно-санітарної експертизи оглянуто і проведено експертиз 99100 (14,10235 тис. тонн), проведено лабораторних досліджень 271467. За результатами ветсанекспертизи відправлено на утилізацію 15,34 т, в т. ч. з причин інвазійних та незаразних хвороб 5, 686 тонн та інших продуктів харчування вагою 9,654 т. Певна частина продукції вибраковувалась через незадовільність органолептичних показників. Не допущено в реалізацію всього 37, 885 т харчових продуктів. В т. ч. яловичини – 0,939 т, свинини – 9,913, баранини – 0,051т, м'ясо птиці – 0,079 т, м'ясо інших тварин (кролі, нутрії та дичина) – 0,01 т, готових м'ясних продуктів – 5,946 т.

Проведений нами аналіз ветеринарно-санітарних показників якості продуктів забою великої рогатої худоби ТОВ “Житомирський м'ясокомбінат” за 2021 рік теж показав, що вибракована значна кількість субпродуктів з причин інвазійних та незаразних захворювань. Зокрема вибраковано: 37 т 21 кг субпродуктів, в т. ч. печінка з причин фасціольозу та токсичної дистрофії, легені – з причин пневмонії, плевриту та аспірації кров'ю, молочна залоза – з причин маститу, серце – з причин міокардита та перикардита, язик – з причин травм.

Проведені нами дослідження санітарної якості продуктів забою (печінка, легені, серце), отриманих після зачистки з причин фасціольозу та токсичної дистрофії (печінка), пневмонії, плевриту (легені), перикардиту (серце) встановили, що МАФАНМ цих субпродуктів порівняно з такими ж, які отримані від здорових тварин, значно вища. Зокрема, загальна кількість мікроорганізмів в печінці після зачистки з причин фасціольозу вища на 86 %. Порівняльний аналіз МАФАНМ печінки, легень і серця показав, що найбільшим цей показник був в печінці і легенях, дещо менше – в серці. З санітарно-показової мікрофлори було визначено лише *E. coli* та клебсієлли, сальмонели і протей були відсутні у всіх досліджуваних зразках. Найбільший відсоток уражених проб за наявністю *E. coli* було виявлено при дослідженні легень (50,0 %), за наявністю клебсієлли – серце (50,0 %). В продуктах забою, отриманих від здорових тварин, клебсієлли були відсутні, а кількість уражених кишковою паличкою проб була на рівні 10,0 %. У зразках легень, печінки та серця після зачистки з причин фасціольозу, токсичної дистрофії, пневмонії, плевриту та травматичного перикардиту було виявлено умовно патогенну мікрофлору (*E. coli* та *Klebsiella*).

За результатами бактеріологічних досліджень

Бродовського В. А. (Brodovsky, 2015), обсіменіння м'яса і печінки, отриманих від уражених фасціольозом і дикроцеліозом тварин, збільшувалось залежно від інтенсивності інвазії з 27,7 до 77,7 %. За високого ступеня інвазії БГКП виділялись з 11,1–44,4 % зразків м'яса і 16,6–55,5 % зразків печінки при фасціольозі та 5,5 і 22,8 % при дикроцеліозі відповідно. При високій інтенсивності інвазії з м'яса і печінки виділяли стафілококи з 16,6 і 22,2 % зразків та сальмонели з 11,1 % і 16,6 % зразків відповідно за фасціольозу та з 11,1 і 16,6 % зразків і 16,6 % зразків – за дикроцеліозу. Виділені БГКП були зараховані до сероваріантів 026, 0101 і 0111, сальмонели – до *S. paratyphi*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*. Всім виділеним сероваріантам були притаманні патогенні властивості та висока термостійкість. З виділених стафілококів більше ніж половина (54,6 %) були віднесені до *S. aureus*. Захворювання великої рогатої худоби фасціольозом і дикроцеліозом впливає на безпечність м'яса, отриманого при забої тварин. М'язовій тканині притаманна токсичність, як виявлено у 9,5–44,4 % досліджених туш, залежно від інтенсивності інвазії.

Аналіз звітної документації ДЛВСЕ показав, що певна частина тваринницької продукції вибраковувалась через незадовільність органолептичних показників: неспецифічний запах, забруднення та крововиливи, погане знекровлення. Незадовільне знекровлення туш знижує їхню стійкість при зберіганні.

Дослідженнями Бродовського В. А. (2016) встановлено, що для реалізації на агропромислові ринки м. Миколаєва з присадибних і фермерських господарств надходить від 18,1 % до 22,2 % яловичих і свинячих туш, забруднених бактеріями групи кишкової палички. Сильна патогенність була притаманна всім виділеним культурам і коливалась в межах 10,0–30,0 %. Найбільш патогенним був виділений серовар O127, дещо менше – O8 і O145, а найменше – O111, O115 і O126 (Brodovsky, 2016). Ці дані підтверджують вищевведені результати наших досліджень.

За результатами досліджень (Bohatko et al., 2013) зразків яловичини, свинини, козлятини, баранини, ягнятини, відібраних в умовах агропродовольчих ринків, встановлено найбільше бактеріальне обсіменіння у баранині – $4,22 \times 10 \pm 2,62$ КУО/г, що перевищувало у 1,3 раза в яловичині і козлятині та у 1,9 раза – зразки свинини. Але цей показник для всіх зразків відповідав нормативним вимогам в охолодженому м'ясі у відрубах – не більше ніж 1×10^3 КУО/г; а у парному свіжому м'ясі – 10 КУО/г). Ці дані теж підтверджують результати наших досліджень.

Щороку тисячі людей хворіють на харчові токсикоінфекції, що стало міжнародною проблемою. Бактеріальна нешкідливість харчових продуктів повинна відстежуватись по всьому харчовому ланцюгу і неякісна продукція повинна вилучатися, а лікарі ветеринарної медицини займають провідну ланку у вирішенні цієї проблеми. Саме тому, щоб гарантувати високий рівень захисту населення від хвороб харчового походження, особливо важливим є виробництво екологічно чистих кормів, забезпечення відповідних санітарно-гігієнічних

умов утримання тварин, профілактичні заходи щодо захворювання тварин, визначення усіх потенційних ризиків та вміле управління ними (Brodovsky, 2016; Kyryliuk, 2016; Hadzalo, 2017; Gorobei et al., 2018).

Для працівників, зайнятих у виробництві м'яса та м'ясних продуктів, найбільше значення мають знання про харчові отруєння мікробного походження, для яких властиві явища інтоксикації та шлунково-кишкові розлади. Вони відрізняються від інших кишкових інфекцій раптовістю виникнення, коротким інкубаційним періодом, одночасним захворюванням групи людей та коротким часовим перебігом хвороби (2–7 днів). Основним джерелом сальмонельозної інфекції для людини є тварини та птахи, серед яких спостерігається значна зараженість цим збудником. Цьому сприяє широка міжнародна торгівля тваринними кормовими продуктами (м'ясна, рибна, кісткова продукція, м'ясо-кісткове борошно), нерідко інфікованими різноманітними сероваріантами сальмонел, що і визначає виражений епідеміологічний ланцюг: тваринні корми – тварини – харчові продукти – людина, який і викликає підвищення захворюваності на сальмонельоз. У сирому м'ясі, зараженому сальмонелами різних типів, яке зберігалось при 16–20 °C, токсичні речовини накопичуються від 2 до 7 днів. Значно знижують природне обсіменіння туш такі заходи: максимальне ізолювання ділянки механічного знімання шкур від подальших технологічних операцій обробки туш; видалення знятих шкур без їхньої обробки у цеху забою худоби та розбирання туш; перев'язування стравоходу; суха зачистка розібраних туш; заборона вивільнення шлунків та кишечника тварин від вмісту в цеху забою худоби та розбирання туш; належний санітарно-гігієнічний стан обладнання, інвентарю, інструментів, спецодягу, рук працівників, особливо у процесах забилування, зняття шкур, нутрування (Kotelevych, 2017; Kovalenko et al., 2021).

Дослідженнями Салата В. З., Кухтин М. Д., Семеник В. І., Перкій Ю. Б. встановлено, що за дотримання усіх ветеринарно-санітарних вимог при заготівлі яловичини в забійних цехах при зберіганні через 8 діб за температури 0 °C загальна кількість мікроорганізмів на поверхні півтуш зростала у 16,6 раза ($P < 0,001$), а через 16 діб – у 3350 разів ($P < 0,001$) і перевищувала допустимий рівень згідно з нормативними вимогами відповідно у 1,3 раза та 258 разів (Salata et al., 2017).

У зв'язку з цим необхідна правильна організація ветеринарно-санітарного контролю м'яса та м'ясних продуктів на всіх етапах життєвого циклу: виробництво, транспортування, зберігання, реалізація, утилізація, що є одним із важливих завдань державного ветеринарного нагляду.

За 2021 рік відділом ветсанекспертизи ЖРД-ЛДПСС досліджено 1040 проб та проведено 1879 лабораторних досліджень. Визначення антибіотиків у харчових продуктах – 821 проба, 1660 лабораторних досліджень. Мікробіологічним методом на вміст антибіотиків у харчових продуктах та сировині проведено 1374 лабораторних досліджень, 535 проб, пози-

тивних не виявлено. В т. ч. м'ясо – 171 проба, субпродукти – 7 проб, м'ясопродукти – 23 проби, яйця – 30 проб, молоко та молочні продукти сухі – 55 проб, молоко та молокопродукти – 249 проб. За імуноферментним методом досліджено 46 проб м'яса, 90 зразків молока та молокопродуктів на вміст хлорамфеніколу; 10 проб сиру, 4 проби молокопродуктів на вміст меламіну. Тест-системами (Чарм-тест Хлорамфенікол, 4 sensors (антибіотики груп Бета-лактами, Тетрацикліни, Стрептоміцини, Хлорамфенікол) перевірено 136 проб сирого молока, позитивних не виявлено.

Проведений нами аналіз звітної документації державних лабораторій ветсанекспертизи північних районів Житомирської області за 2021 рік показав, що з досліджених 212838 зразків харчових продуктів у 47 виявлено перевищення за вмістом ^{137}Cs відповідно до Державних гігієнічних нормативів (табл. 2). Найбільш небезпечними залишаються дари лісу. Перевищення виявлено в 30 пробах свіжих грибів і 13 – сухих (рис. 1–2).

Зокрема, питома активність за вмістом ^{137}Cs у зразку свіжих грибів з Попельні перевищила ДР-2006 у 6,9 раза, 5 зразків з Лугін – у 1,4–2,0 раза, 9 зразків з Народичів – максимальне перевищення у 2,2 раза, 6 зразків з Новограда – у 1,2–1,8 раза, 6 зразків з Овруча – у 1,2–1,7 раза.

Питома активність за вмістом ^{137}Cs у 3 зразках сухих грибів з Народичів перевищила ДР-2006 у 2,1–6,7 раза, 2 проб з Олевська – у 1,6 та 5,6 раза, 1 зразка Лугін – у 2,6 раза, 4 зразків з Овруча – у 1,0–1,6 раза, 3 проб з Смільчине – у 1,0–1,1 раза).

Багаторічний досвід вивчення якості й безпечності харчових продуктів на забруднених внаслідок аварії на ЧАЕС територіях Поліського регіону свідчить, що внутрішнє опромінення населення, яке формується внаслідок надходження радіонуклідів по харчовому ланцюгу, переважно відбувається за рахунок дарів лісу, хоча певний внесок роблять і харчові продукти власних селянських господарств. Внаслідок цього у населення потерпілих районах відбувається скорочення тривалості життя, погіршення працездатності дорослого населення і стану здоров'я та рівня інтелектуального розвитку дітей. Одним з найважливіших чинників для загального добробуту та розвитку є продовольча безпека. Аналіз публікацій, присвячених впливу іонізуючого випромінювання на організм людей, свідчить про те, що збільшилась кількість онкологічних захворювань, особливо лейкози у дітей, захворювання нервової системи, низький коефіцієнт розумового розвитку, серцево-судинні захворювання, порушення ендокринної системи (Kotelevych et al., 2021). Вчені наголошують, що шкідливий вплив радіації для сьогодишнього і майбутнього поколінь є не лише на забруднених внаслідок аварії на ЧАЕС територіях, а й поза межами (Kotelevych, 2019; Kotelevych et al., 2021). Забруднення дарів лісу у потерпілих внаслідок аварії на ЧАЕС районах Житомирської області є дуже високим і вони становлять основне джерело небезпеки для населення.

Таблиця 2

Вміст радіонуклідів ^{137}Cs в харчових продуктах в північних районах Житомирської області у 2021 році

Харчовий продукт	Кількість проб з перевищенням ^{137}Cs	Допустимий вміст ^{137}Cs за ДР – 2006	Питома активність зразків з перевищенням за вмістом ^{137}Cs	Райони, з яких доставлено зразки з перевищенням
Баранина	1	200 Бк/кг	334 Бк/кг	Народичі
Картопля	1	60 Бк/кг	66 Бк/кг	Лугіни
Буряк	1	40 Бк/кг	49 Бк/кг	Лугіни
Капуста	1	40 Бк/кг	52 Бк/кг	Лугіни
Гриби свіжі	1	500 Бк/кг	3480 Бк/кг	Попільня
	5	500 Бк/кг	724,4–2030 Бк/кг	Лугіни
	9	500 Бк/кг	528–1145 Бк/кг	Народичі
	1	500 Бк/кг	1103 Бк/кг	Олевськ
	8	500 Бк/кг	629,3–861 Бк/кг	Новоград
	6	500 Бк/кг	629,3–861 Бк/кг	Овруч
Гриби сушені	3	2500 Бк/кг	5375–16786 Бк/кг	Народичі
	2	2500 Бк/кг	4233 та 14250 Бк/кг	Олевськ
	3	2500 Бк/кг	2608–2846 Бк/кг	Смільчине
	1	2500 Бк/кг	6670 Бк/кг	Лугіни
	4	2500 Бк/кг	2689–4000 Бк/кг	Овруч

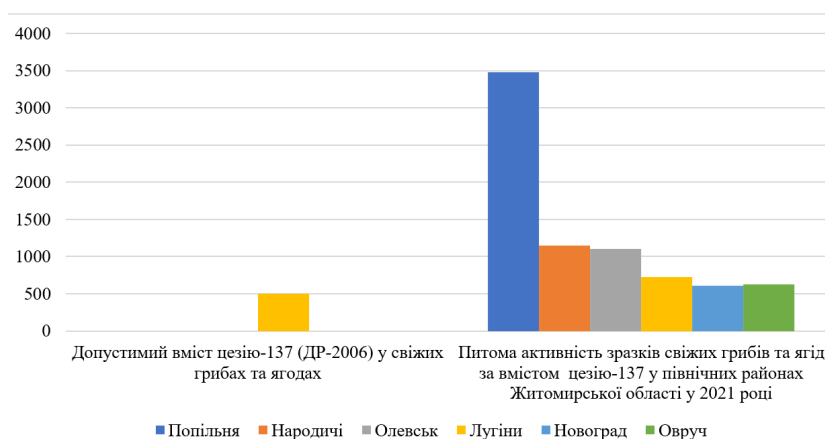


Рис. 1. Питома активність за вмістом ^{137}Cs у зразках свіжих грибів та ягід у 2021 році

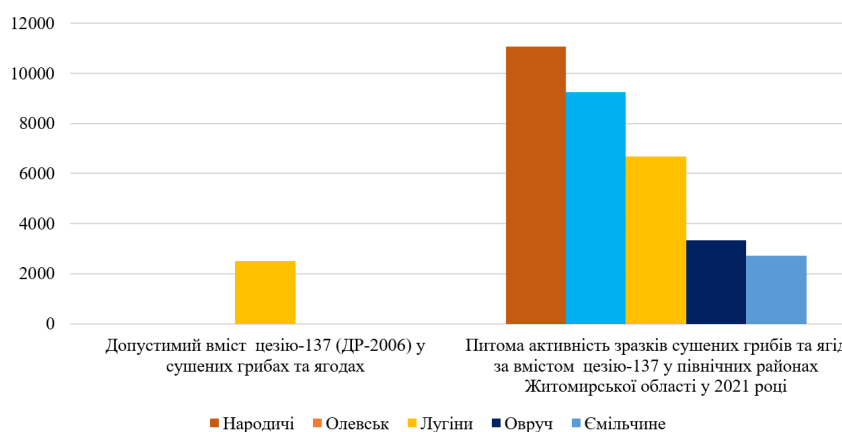


Рис. 2. Питома активність за вмістом ^{137}Cs у зразках сухих грибів та ягід в 2021 році

За результатами наших досліджень в умовах Овруцької та Коростенської міжрайонних державних лабораторій встановлено, що вміст ^{137}Cs у зразках чорниці та журавлини з Овруцького району відповідно становив 461 Бк/кг та 135 Бк/кг (при ДР 70 Бк/кг). Перевищення у зразках чорниці – в 6,58 раза, журавлини – у 1,93 раза. Питома активність у зразках ожини з Коростенського району становила 450 Бк/кг, журав-

лини – 130 Бк/кг. Відповідно перевищення були у 6,42 раза та у 1,85 раза. Під час аварії на ЧАЕС ліси Полісся України завдяки територіальному розміщенню та будові виконали свої природні функції, захистили населені пункти та сільськогосподарські угіддя від ще більшого радіоактивного забруднення. Вони акумулювали велику кількість радіонуклідів і стали джерелом забруднення дарів лісу. Тому основним джерелом

внутрішнього опромінення населення у віддалений після аварії на ЧАЕС період є дари лісу, А зважаючи на те, що споживання продукції навіть із низьким вмістом радіонуклідів призводить до збільшення внутрішньої дози опромінення, це становить загрозу для здоров'я населення.

Висновки

1. Державні лабораторії ветсанекспертизи господарчих ринків Житомирської області і Житомирська регіональна державна лабораторія ДПСС проводять велику роботу в плані недопущення до реалізації недоброякісної та шкідливої харчової продукції.

2. Встановлено, що основною причиною вибірки субпродуктів за 2021 рік були інвазійні та незаразні захворювання. МАФАНМ печінки, яка зачищена з причин фасціолюзу, вища, ніж в цьому ж органі, отриманому від здорових тварин, на 86,0 %. У зразках легень, печінки та серця після зачистки з причин фасціолюзу, токсичної дистрофії, пневмонії, плевриту та травматичного перикардиту було виявлено умовно патогенну мікрофлору (ешеріхії та клебсієлли).

3. За показниками якості та безпечності (вміст токсичних елементів, пестицидів, мікотоксинів, антибіотиків, радіонуклідів) з досліджених 212838 зразків харчових продуктів у 47 виявлено перевищення за вмістом ^{137}Cs . Найбільш небезпечними залишаються дари лісу.

4. Вміст радіонуклідів у грибах, ягодах, дичині та продуктах власного виробництва у забруднених внаслідок аварії на ЧАЕС районах Житомирської області в більшості випадків значно перевищує допустимі рівні, що формує великі дози внутрішнього опромінення і негативно впливає на стан здоров'я населення.

5. Актуальність продовольчої безпеки у потерпілих внаслідок аварії на ЧАЕС районах Поліського регіону вимагає прийняття рішень на державному рівні, адже продовольча безпека держави забезпечується за рахунок гарантування продовольчої безпеки в кожному її регіоні.

6. Для усунення ризику небезпек споживача харчової продукції необхідно удосконалювати систему контролю сировини і харчових продуктів за показниками безпечності на всіх етапах виробництва “від лану – до столу” та вилучати у випадку її невідповідності.

Вважаємо за доцільне звернути увагу фахівців ветеринарної медицини на профілактику інвазійних та незаразних хвороб у тварин.

Перспективи подальших досліджень будуть спрямовані на вивчення санітарної якості та біологічної цінності субпродуктів після зачистки з причин інвазійних захворювань.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Adam, K. H., Flint, S. H., & Brightwell, G. (2010). Psychrophilic and psychrotrophic clostridia: sporulation and germination processes and their role in the spoilage of chilled, vacuum-packaged beef, lamb and venison. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(8), 1539–1544. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2010.02320.x.
- Alonso-Hernando, A., Alonso-Calleja, C., & Capita, R. (2013). Growth kinetic parameters of gram-positive and gram-negative bacteria on poultry treated with various chemical decontaminants. *Food Control*, 33(2), 429–432. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.03.009.
- Bogatko, N. (2019). The effects of falsification of meat of slaughtered animals with sodium hydrocarbonate on their quality and safety. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 21(95), 66–74. DOI: 10.32718/nvlvet9512.
- Bohatko, N. M. (2011). Bezpechnist kharchovykh produktiv, vidstezhennia v kharchovomu lantsiuzi ta zastosuvannia systemy shvydkoho kharchuvannia. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu vet. medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Hzhyskoho*, 13(2(48)), 330–335 (in Ukrainian).
- Bohatko, N. M., Salata, V. Z., Bohatko, D. L., Shakh, L. V. & Holub, O. Yu. (2013). Identyfikatsiia m'iasa tvaryn za pokaznykamy yakosti ta bezpechnosti. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu vet. medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Hzhyskoho*, 15(1(55)), 8–12 (in Ukrainian).
- Brodovsky, V. (2016). Contamination of beef and pork coming to the realization of a homestead and farms, coliform bacteria. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 18(1), 202–206. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/118> (in Ukrainian).
- Brodovsky, V. A. (2015). Veterinary-sanitary assessment of meat and by-products derived from slaughtered cattle affected fasciolosis and dykrotseliozom. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 17(1), 220–226. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/297> (in Ukrainian).
- Bruckner, S., Albrecht, A., Petersen, B., & Kreyenschmidt, J. (2012). Characterization and comparison of spoilage processes in fresh pork and poultry. *Journal of Food Quality*, 35(5), 372–382. DOI: 10.1111/j.1745-4557.2012.00456.x.
- Cantalejo, M. J., Zouaghi, F., & Pérez-Arnedo, I. (2016). Combined effects of ozone and freeze-drying on the shelf-life of Broiler chicken meat. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 400–407. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.12.058.
- Casaburi, A., De Filippis, F., Villani, F., Ercolini, D. (2014). Activities of strains of *Brochothrix thermosphacta* in vitro and in meat. *Food Research International*, 62, 366–374. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.03.019.

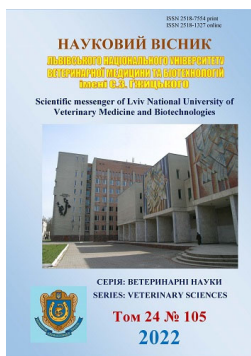
- Dave, D., & Ghaly, A. E. (2011). Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(4), 486–510. DOI: 10.3844/ajabssp.2011.486.510.
- Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., & Nychas, G. J. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 130–141. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.020.
- Gorobei, A., Khimich, M., Mikhelson, L., Matviishyn, T., Gorobei, A., & Rudenko, E. (2018). Monitoring of epidemiological factors in the system of safety and quality management for the products of slaughter of cattle. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 20(83), 176–182. DOI: 10.15421/nvlvet8334.
- Gutyj, B., Hachak, Y., Vavrysevych, J., & Nagovska, V. (2017). The influence of cryopowder “Garbuz” on the technology of curds of different fat content. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 2(10(86)), 20–24. DOI: 10.15587/1729-4061.2017.98194.
- Hachak, Y., Slyvka, N., Gutyj, B., Vavrysevych, J., Sobolev, A., Bushueva, I., Samura, T., Paladiychuk, O., Savchuk, L., & Pikhtirova, A. (2019). investigation of the influence of cryopowders “Broccoli” and “Laminaria” on quality parameters of cheese masses of different FAT. *EUREKA: Life Sciences*, 1, 28. DOI: 10.21303/2504-5695.2019.00839.
- Hachak, Y., Slyvka, N., Gutyj, B., Vavrysevych, J., Sobolev, A., Bushueva, I., Samura, T., Paladiychuk, O., Savchuk, L., & Pikhtirova, A. (2019). Effect of the cryopowder “beet” on quality indicators of new curd desserts. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 1(11(97)), 52. DOI: 10.15587/1729-4061.2019.154942.
- Hadzalo, Ya. M. (2017). Vyrishennia prodovolchoi bezpeky Ukrainy v konteksti realizatsii spilnoi stratehii MEB, VOOZ ta FAO “Iedyne zdorovia”. *Veterynarna medytsyna*, 103, 5–7 (in Ukrainian).
- Kotelevych, V. (2018). Veterinary and sanitary assessment of quality and safety of meat and meat products in the marshes of LLC “Riton” Vinnytsa. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 20(88), 24–28. DOI: 10.32718/nvlvet8804.
- Kotelevych, V. (2019). Actual problems of quality and safety of food products in the context of providing food security in the Zhytomyr region. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 21(93), 155–159. DOI: 10.32718/nvlvet9327.
- Kotelevych, V. A. (2017). Ekologichni aspekty yakosti ta bezpeky kharchovykh produktiv u Zhytomyrskomu rehioni. *Visnyk Zhytomyrskoho natsionalnoho ahroekologichnoho universytetu*, 2(63), 123–127 (in Ukrainian).
- Kotelevych, V. A. (2017). Veterinary and sanitary assessment of food quality and safety in Zhytomyr region. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(78), 58–61. DOI: 10.15421/nvlvet7812.
- Kotelevych, V., Volkivskiy, I., Pinskyi, O., & Davydenko, L. (2021). Food quality and safety as the keys to the health of future generations. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(103), 179–186. DOI: 10.32718/nvlvet10325.
- Kovalenko, V. V., Haltsev, I. V., Rud, V. O. & Tarasenko, L. O. (2021). Veterynarno-sanitarna otsinka yakosti ta bezpechnosti produktiv zaboju za ekhinokokozu. Suchasni aspekty likuvannia i profilaktyky khvorob tvaryn, materialy V Vseukrainskoi naukovo-praktychnoi Internet-konferentsii. Poltava, 192–194 (in Ukrainian).
- Kukhtyn, M., Salata, V., Berhilevych, O., Malimon, Z., Tsvihun, A., Gutyj, B., & Horiuk, Y. (2020). Evaluation of storage methods of beef by microbiological and chemical indicators. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 14, 602–611. DOI: 10.5219/1381.
- Kyryliuk, I. M. & Kyryliuk, Ye. M. (2018). European and Ukrainian technical regulation systems in the area of animal product quality and safety: socio-economic aspects. *Financial and credit activity: problems of theory and practice*, 2(25), 455–464. DOI: 10.18371/fcaptp.v2i25.136527.
- Kyryliuk, I. M. (2016). Suchasni pidkhody do harantuvannia yakosti ta bezpechnosti produktsii tvarynnystva v YeS. *Efektivna ekonomika*, 12. URL: <http://www.economy.nayka.com.ua/?op=1&z=5330> (in Ukrainian).
- Kyryliuk, I. M. (2019). Upravlinnia bezpechnistiu produktsii tvarynnystva v suchasnykh umovakh. *Efektivna ekonomika*, 11. DOI: 10.32702/2307-2105-2019.11.68 (in Ukrainian).
- Kyryliuk, I. M., & Kyryliuk, Ye. M. (2017). Efficiency of the functioning of the state control system for the safety and quality of animal products in Ukraine. *Food Science and Technology*, 11(4), 44–54. DOI: 10.15673/fst.v11i4.730.
- Pawsey Rosa, K. (2009). Food and its safety. *Med. Conflict Surv.*, 16(2), 192–200.
- Pennacchia, C., Ercolini, D., & Villani, F. (2011). Spoilage-related microbiota associated with chilled beef stored in air or vakuum pack. *Food Microbiology*, 28(1), 84–93. DOI: 10.1016/j.fm.2010.08.010.
- Piven, O. T., Khimych, M. S., Salata, V. Z., Gutyj, B. V., Naidich, O. V., Skrypka, H. A., Koreneva, Z. B., Dvylyuk, I. V., Gorobey, O. M., & Rud, V. O. (2020). Contamination of heavy metals and radionuclides in the honey with different production origin. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(2), 405–409. DOI: 10.15421/2020_117.
- Popelka, P., Jevinová, P., & Marcincák, S. (2016). Microbiological and chemical quality of fresh and frozen whole trout and trout fillets. *Potravinarstvo*, 10(1), 431–436. DOI: 10.5219/599.
- Salata, V. (2017). Microbiological characteristics of frozen beef during storage. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(82), 25–29. DOI: 10.15421/nvlvet8206.
- Salata, V., Kuhtyn, M., Semanjuk, V., & Perkij, Y. (2017). Dynamics of microflora of chilled and frosted beef during storage. *Scientific Messenger of LNU of*

Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 19(73), 178–182. DOI: 10.15421/nvlvet7337.

Zakon Ukrainy (Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy (VVR), 1998, № 19, st. 98). Pro osnovni pryntsypy ta vymohy do bezpechnosti ta yakosti kharchovykh produktiv. № 2639-VIII. URL:

<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/771/97-вр#Text> (in Ukrainian).

Zakon Ukrainy № 2042 (2018). Pro derzhavnyi kontrol za dotrymanniam zakonodavstva pro kharchovi produkty, kormy, pobichni produkty tvarynnoho pokhodzhennia, zdorovia ta blahopoluchchia tvaryn. (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10518

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.7:595.775.1:615.285

Insecticidal efficacy of modern remedies for ctenocephalidosis of dogs

V. Yevstafieva[✉], K. Horb, V. Melnychuk

Poltava State Agrarian University, Poltava, Ukraine

Article info

Received 09.02.2022

Received in revised form

09.03.2022

Accepted 10.03.2022

Poltava State Agrarian University,

Skovorody Str., 1/3, Poltava,

36003, Ukraine.

Tel.: +38-050-183-78-78

E-mail: evstva@ukr.net

Yevstafieva, V., Horb, K., & Melnychuk, V. (2022). Insecticidal efficacy of modern remedies for ctenocephalidosis of dogs. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 129–134. doi: 10.32718/nvlvet10518

To control and prevent *Ctenocephalides* in animals, many drugs of different chemical groups and manufacturers have been proposed, which do not always have a high therapeutic and prophylactic effect. This forces scientists and experts in many countries worldwide to evaluate the effectiveness of available drugs against *Ctenocephalides* spp. and the development of optimal timing of their use for ctenocephalidosis in dogs. The study aimed to establish the therapeutic efficacy of various modern remedies for ctenocephalidosis in dogs. For this purpose, drugs with different active substances and methods of application were tested: sarolaner (oral tablets “Simparica”), fipronil (drops and collar “Insektostop”), as well as a combination drug: fipronil + S-methoprene (drops “Fipren”). It was found that the most effective insecticides against fleas species *Ctenocephalides felis* and *Ct. canis*, parasitic in dogs, were found in oral tablets “Simparica” and drops “Fipren”. Their extensefficacy and intensefficacy on the 30th day of the experiment was 100.0 %. The effectiveness of the “Insektostop” collar was low. Thus, after 24 h, its extensefficacy and intensefficacy concerning *Ct. felis* was 0 and 55.25 %, relative to *Ct. canis* – 33.33 and 75.00 %, respectively. After 72 h, the efficiency increased slightly relative to *Ct. felis* 16.67 and 66.60 %, and relative to *Ct. canis* – 100.00 %, respectively. On the 14th day of the experiment, the efficiency indicators were at the level: relative to *Ct. felis* – 0 and 39.77 %, relative to *Ct. canis* – 50.00 and 58.59 %, and at 30 th days – 16.67 and 36.74 % (relative to *Ct. felis*), 66.67 and 43.27 % (relative to *Ct. canis*), respectively. After application of “Insektostop” drops after 24 h, the drug's effectiveness was high (100.0 %) against fleas of the *Ct. canis*. At the same time, the drops were not effective against *Ct. felis* – 0 and 47.36 %. After 72 h, the efficacy values were relative to *Ct. felis* – 16.67 and 69.3 %, and relative to *Ct. canis* – 50.00 and 76.54 %, respectively. During 14–30 days of the experiment, the indicators of extensefficacy and intensefficacy gradually decreased from 33.33 to 16.67 % and from 65.08 to 48.09 % relative to *Ct. felis*. Regarding *Ct. canis* extensefficacy remained at 83.33 %, and intensefficacy decreased from 58.59 to 51.38 %. The research results allow us to recommend highly effective drugs in the control and prevention of *Ctenocephalides* in dogs caused by fleas of *Ctenocephalides felis* and *Ct. canis*.

Key words: dogs, ctenocephalidosis, *Ctenocephalides felis*, *Ctenocephalides canis*, extensefficacy, intensefficacy.

Інсектицидна ефективність сучасних засобів за ктеноцефальозу собак

В. О. Євстаф'єва[✉], К. О. Горб, В. В. Мельничук

Полтавський державний аграрний університет, м. Полтава, Україна

Для боротьби з ктеноцефальозом тварин та його профілактики запропоновано значну кількість засобів різних хімічних груп і виробників, які не завжди мають високий лікувально-профілактичний ефект. Це змушує науковців та фахівців багатьох країн світу проводити оцінку ефективності наявних препаратів щодо *Ctenocephalides* spp. і розробку оптимальних термінів їх застосування за ктеноцефальозу собак. Метою роботи було встановити терапевтичну ефективність різних сучасних засобів за ктеноцефальозу собак. З цією метою були випробувані препарати з різними діючими речовинами та способом застосування: сароланер (пероральні таблетки “Сімпарика”); фіпроніл (краплі та нашийник “Інсектостоп”), а також комбінований препарат: фіпроніл + S-метопрен (краплі “Фіпрен”). Встановлено, що найбільш ефективними інсектицидними засобами щодо бліх видів

Ctenocephalides felis і *Ct. canis*, що паразитують у собак, виявилися пероральні таблетки “Сімпарика” та краплі “Фіпрен”. Їх екстенсефективність та інтенсефективність на 30 добу експерименту становила 100,0 %. Ефективність застосування нашійника “Інсектостоп” виявилася низькою. Так, через 24 год його екстенс- та інтенсефективності відносно *Ct. felis* становила 0 та 55,25 %, а щодо *Ct. canis* – 33,33 та 75,00 % відповідно. Через 72 год. показники ефективності дещо зростали і становили відносно *Ct. felis* 16,67 та 66,60 %, а відносно *Ct. canis* – 100,00 % відповідно. На 14 добу експерименту показники ефективності були на рівні: відносно *Ct. felis* – 0 та 39,77 %, відносно *Ct. canis* – 50,00 та 58,59 %, а на 30 добу – 16,67 та 36,74 % (відносно *Ct. felis*), 66,67 та 43,27 % (відносно *Ct. canis*) відповідно. Після застосування крапель “Інсектостоп” через 24 год ефективність препарату була високою (100,0 %) відносно бліх виду *Ct. canis*. Водночас краплі виявилися недостатньо ефективними відносно бліх виду *Ct. felis* – 0 та 47,36 %. Через 72 год. показники ефективності становили відносно *Ct. felis* – 16,67 та 69,3 %, а відносно *Ct. canis* – 50,00 та 76,54 % відповідно. Впродовж 14–30 діб експерименту показники екстенс- і інтенсефективності поступово знижувалися з 33,33 до 16,67 % і з 65,08 до 48,09 % відносно *Ct. felis*. Відносно *Ct. canis* екстенсефективність залишалася на рівні 83,33 %, а інтенсефективність знижувалася з 58,59 до 51,38 %. Отримані результати проведених досліджень дозволяють рекомендувати високоефективні препарати у боротьбі з ктеноцефальозом собак, викликаного блохами видів *Ctenocephalides felis* і *Ct. Canis*, та для його профілактики.

Ключові слова: собаки, ктеноцефальоз, *Ctenocephalides felis*, *Ctenocephalides felis*, екстенсефективність, інтенсефективність.

Вступ

Відомо, що рід *Ctenocephalides* Stiles & Collins, 1930, включає 13 видів та підвидів, з яких у собак і котів домінуючими є лише два види – *Ctenocephalides canis* (Curtis, 1826) і *Ctenocephalides felis felis* (Bouche, 1835). Доведено, що *Ct. felis felis* є найбільш широко розповсюдженим видом бліх на Землі. Його більша пристосованість до умов існування, ніж *Ct. canis*, та, як наслідок – синантропна історія виживання дозволили широко розповсюдити цей географічний вид (Hernández-Valdivia et al., 2011; Horb, 2020; Yevstafieva & Horb, 2020; Yevstafieva et al., 2020).

Питання боротьби та профілактики за ктеноцефальозу домашніх собак і котів є предметом досліджень багатьох вчених. Вони зазначають, що успіх заходів боротьби з блохами обумовлений не тільки вибором відповідного лікарського засобу та його діючої речовини, а й обранням ефективного методу застосування препарату тварині. На сьогодні випускається значна кількість різних інсектицидів, призначених проти бліх (Franc & Bouhsira, 2009; Taenzler et al., 2014; Six et al., 2016; Bosco et al., 2019).

Згідно зі стандартом, встановленим Європейським Медичним Агентством, ефективним препаратом є засіб, що призводить до 95 % загибелі бліх. Водночас у США наукова спільнота зазначає, що ефективність засобу, яка призводить до 90 % загибелі бліх, може вважатися високою і приймається за стандарт при визначенні ефективності препарату. Однак існує потреба у більш універсальних стандартах визначення інсектицидної ефективності препаратів у всьому світі (Bobey, 2015).

З розвитком хімічної промисловості змінювалися і діючі речовини, які входили до складу препаратів, що пропонували виробники для боротьби з блохами. Зокрема, були запропоновані препарати хімічної групи фенілпіразолів із діючою речовиною фіпроніл, а також групи аналогів природного ювенільного гормону – пірипроксифен та метопрен. Механізм дії фіпронілу полягає в порушенні проходження іонів хлору в ГАМК-залежні рецептори ектопаразита, що призводить до порушення передачі нервових імпульсів і діяльності нервової системи. Все це спричинює параліч та загибель ектопаразитів. Пірипроксифен та метопрен – це пестициди, які порушують гормональний

баланс членистоногих, викликають аномалії їхнього розвитку і стерилізацію імаго, запобігають появі преімагінальних стадій розвитку ектопаразитів (Palma et al., 1993; Ross et al., 1998; Meola et al., 2000; Bouhsira et al., 2012).

В подальшому, починаючи з 2010 року, фармацевти запропонували для боротьби з ектопаразитами нову групу пестицидів – ізоксазоліни (ДР – сароланер, флураланер, афоксоланер), що випускаються у формі таблеток і починають діяти через 4 години після застосування. Загибель бліх відбувається через 8 годин після задачі препаратів. Механізм дії полягає в блокуванні рецепторів клітин гамма-аміномасляної кислоти і α -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонової кислоти в синапсах нервової системи паразитичних комах, гіперзбудженні нейронів, порушенні передачі нервових імпульсів, що призводить до паралічу і загибелі членистоногих (Ozoe et al., 2010; Shoop et al., 2014; Gassel et al., 2014; Rufener et al., 2017).

Отже, основним методом у заходах боротьби та профілактики щодо бліх є застосування хімічних препаратів різних груп та класів. Нові сучасні діючі речовини та комбіновані методи лікування продовжують досліджувати науковці всього світу.

Тому метою роботи було встановити терапевтичну ефективність різних сучасних засобів за ктеноцефальозу собак.

Матеріал і методи досліджень

Роботу виконували впродовж 2020–2021 рр. в умовах притулку “Чак” (с. Мачухи, Полтавський район) та лабораторії кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи факультету ветеринарної медицини Полтавського державного аграрного університету.

Дослідження проводили на безпорідних собаках віком 8 міс. – 3 роки, вагою від 10 до 15 кг, спонтанно інвазованих блохами роду *Ctenocephalides* (II – від $15,17 \pm 0,48$ до $17,17 \pm 0,79$ екз./гол.). Визначали ефективність інсектицидних засобів за ктеноцефальозу собак: “Сімпарика” (Simparica) (“Zoetis Inc”, США), нашійник “Інсектостоп” (ТОВ “Нова Плюс”, Україна), краплі “Інсектостоп” (ТОВ “НВП “Сузір’я”, Україна) та краплі “Фіпрен» (ТОВ “Бровафарма”, Україна).

Собакам першої дослідної групи задавали перорально таблетки “Сімпарика” (ДР – сароланер) в дозі 2 мг/кг маси тіла одноразово. Собакам другої дослідної групи застосовували нашійник “Інсектостоп” (ДР – фіпроніл) шляхом нещільної фіксації на шиї тварини за безперервного використання впродовж 1 місяця. Собакам третьої дослідної групи застосовували зовнішньо за допомогою піпетки краплі “Інсектостоп” (ДР – фіпроніл), безпосередньо на шкіру в ділянці холки і вздовж хребта одноразово в дозі 1,0 мл (2 ампули) на тварину одноразово. Собакам четвертої дослідної групи застосовували зовнішньо краплі “Фіпрен” (ДР – фіпроніл, S-метопрен), безпосередньо на шкіру в ділянці холки і вздовж хребта одноразово в дозі 1,0 мл (1 ампула) на тварину одноразово. Собак контрольної групи не лікували.

Ефективність засобів визначали через 24 год, 72 год, 7 діб, 14 діб, 30 діб після їх застосування за показниками екстенсивності та інтенсивності інвазії (Marchiondo et al., 2013).

Результати та їх обговорення

Встановлено, що найбільш ефективними інсектицидними засобами щодо бліх видів *Ct. felis* і *Ct. canis*, що паразитують у собак, виявилися пероральні таблетки “Сімпарика” та краплі “Фіпроніл”. Їх екстенс- та інтенсефективність на 30 добу експерименту становила 100,0 %. Так, через 24 год після застосування “Сімпарики” її екстенс- та інтенсефективність відносно *Ct. felis* становила відповідно 0 та 59,19 %, а відносно *Ct. canis* – 100,0 %. Через 72 год показники ефективності сягали 100,0 %. На 7 добу експерименту ефективність відносно *Ct. felis* становила відповідно 66,67 та 92,50 %, а відносно *Ct. canis* – 100,0 %. В подальшому, до 30 доби експерименту, ефективність була високою і незалежно від виду бліх знов сягала 100,0 % (рис. 1 а, б).

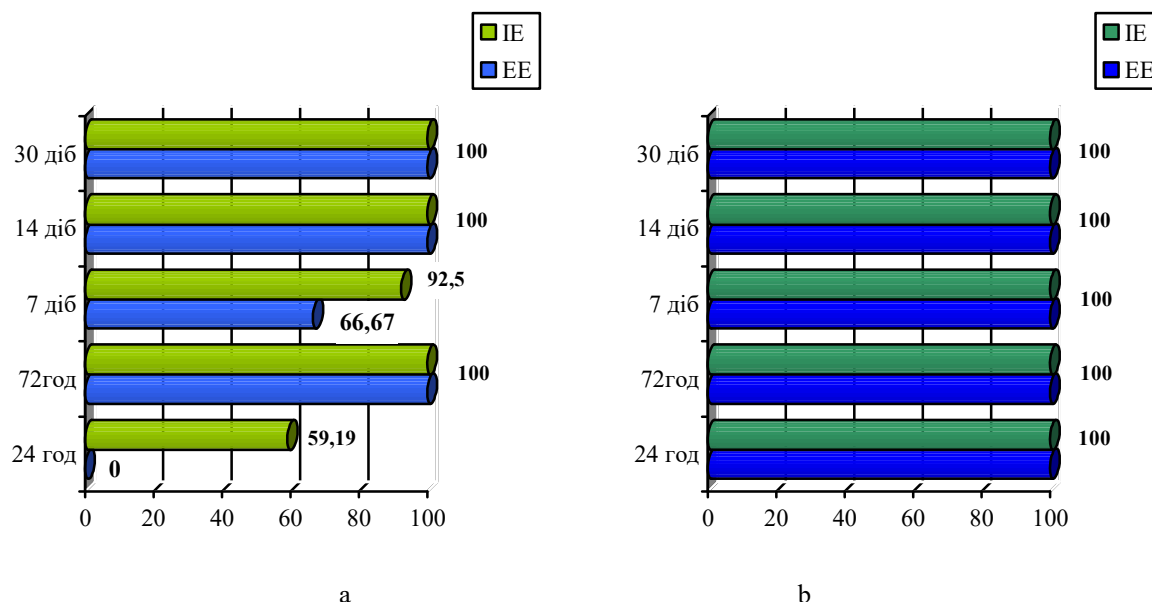


Рис. 1. Показники ефективності (%) “Сімпарики” за спонтанного ктеноцефальозу собак (n = 6), викликаного: а – *Ct. felis*, б – *Ct. canis*

Застосування крапель “Фіпрен” у боротьбі з блохами показало його високу ефективність (ЕЕ ІЕ – 100,0 %) відносно бліх виду *Ct. canis*, починаючи з 24 год після його нанесення, і лише з 14 доби експерименту – відносно бліх виду *Ct. felis*. Так, через 24 год після нанесення інвазованим собакам крапель ефективність препарату відносно *Ct. felis* становила 16,67 та 59,19 %. Через 72 год ефективність підвищилася і становила 50,00 та 89,90 %, на 7 добу – 33,33 та 90,65 % відповідно (рис. 2 а, б).

Ефективність застосування нашійника “Інсектостоп” виявилася низькою. Так, через 24 год його екстенс- та інтенсефективність відносно *Ct. felis* становила

0 та 55,25 %, а щодо *Ct. canis* – 33,33 та 75,00 % відповідно. Через 72 год показники ефективності дещо зростали і становили відносно *Ct. felis* 16,67 та 66,60 %, а відносно *Ct. canis* – 100,00 % відповідно. На 7 добу експерименту ефективність знов знизилася до: відносно *Ct. felis* – 0 та 56,26 %, відносно *Ct. canis* – 16,67 та 72,56 %. На 14 добу експерименту показники ефективності були на рівні: відносно *Ct. felis* – 0 та 39,77 %, відносно *Ct. canis* – 50,00 та 58,59 %, а на 30 добу – 16,67 та 36,74 % (відносно *Ct. felis*), 66,67 та 43,27 % (відносно *Ct. canis*) відповідно (рис. 3 а, б).

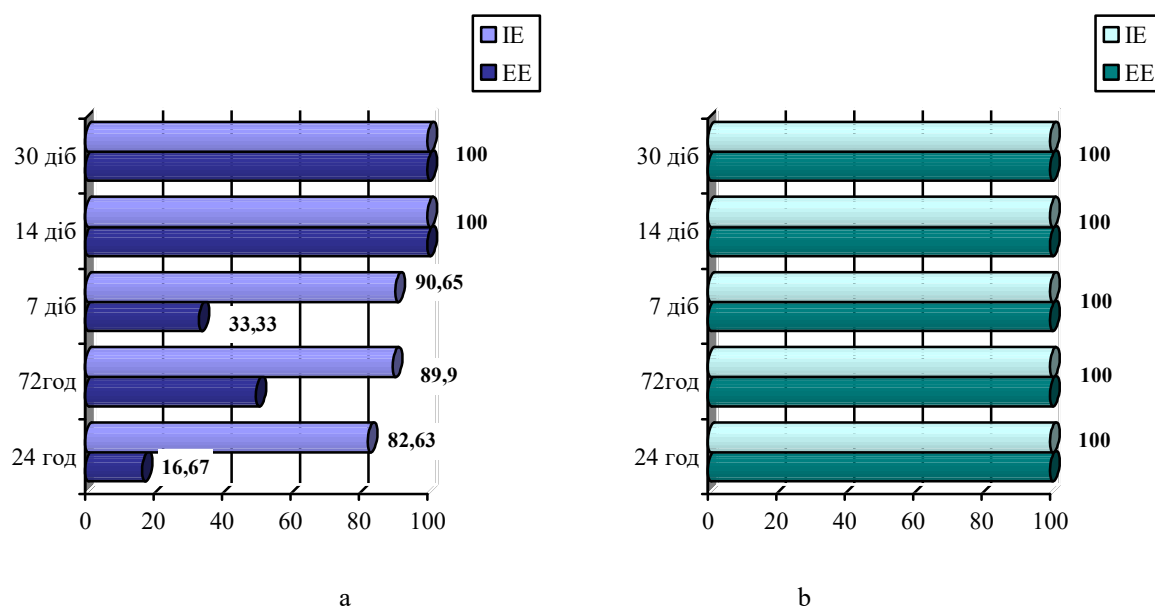


Рис. 2. Показники ефективності (%) “Фіпрен” за спонтанного ктеноцефальозу собак (n = 6), викликаного: а – *Ct. felis*, б – *Ct. canis*

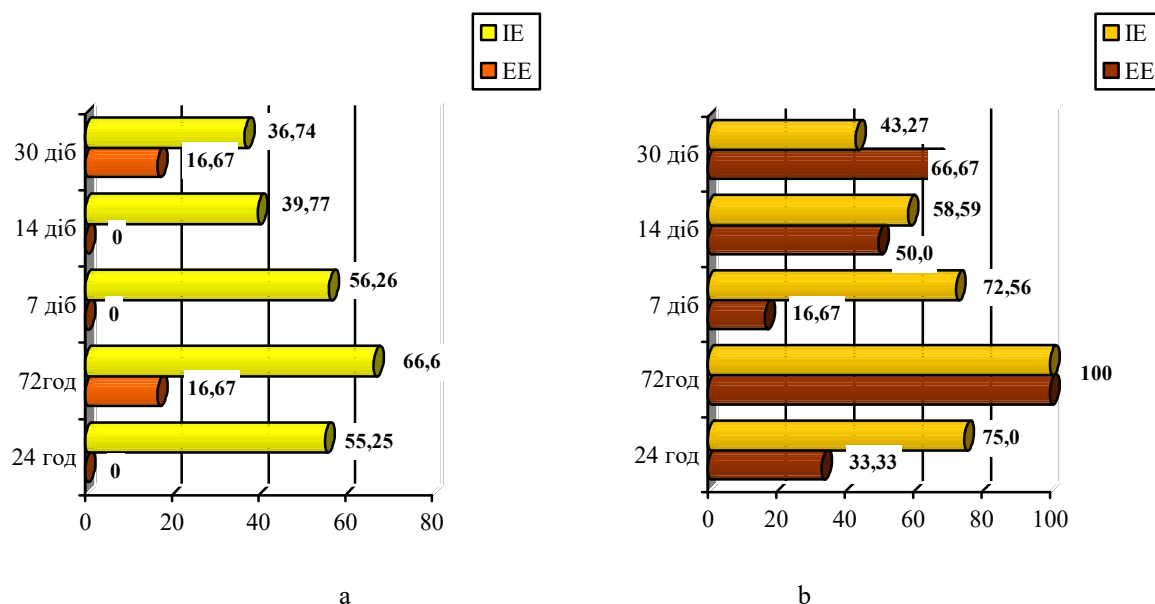


Рис. 3. Показники ефективності (%) нашійника “Інсектостопу” за спонтанного ктеноцефальозу собак (n = 6), викликаного: а – *Ct. felis*, б – *Ct. canis*

Після застосування крапель “Інсектостоп” через 24 год ефективність препарату була високою (100,0 %) відносно бліх виду *Ct. canis*. Водночас краплі виявилися недостатньо ефективними відносно бліх виду *Ct. felis* – 0 та 47,36 %. Через 72 год показники ефективності становили відносно *Ct. felis* – 16,67 та 69,3 %, а відносно *Ct. canis* – 50,00 та 76,54 % відповідно. На 7 добу експерименту ефективність майже залишилася на тому ж рівні: – 16,67 та 68,49 % (відносно *Ct. felis*), 66,6 та 74,27 % (відносно *Ct. canis*). Впродовж 14–30 діб експерименту показники EE і IE поступово знижувалися з 33,33 до 16,67 % і з 65,08 до 48,09 % відносно *Ct. felis*. Відносно *Ct. canis* EE залишалася на рівні 83,33 %, а IE знижувалася з 58,59 до 51,38 % (рис. 4 а, б).

Для боротьби та профілактики ктеноцефальозу тварин запропоновано значну кількість засобів різних хімічних груп та виробників, які не завжди мають високий лікувально-профілактичний ефект (Medleau et al., 2003; Dryden et al., 2008; Schnieder et al., 2008). Це змушує науковців та фахівців багатьох країн світу проводити оцінку ефективності наявних препаратів щодо *Ctenocephalides* spp. і розробку оптимальних термінів їх застосування за ктеноцефальозу собак. Тому з метою визначення терапевтичної та економічної ефективності сучасних інсектицидних засобів за ктеноцефальозу собак були випробувані препарати із різними діючими речовинами та способом застосування: сароланер (пероральні таблетки “Сімпарика”); фіпроніл (краплі та нашійник “Інсектостоп”), а також

комбінований препарат: фіпроніл + S-метопрен (краплі “Фіпрен”). Встановлено, що найбільш ефективними інсектицидними засобами відносно бліх видів *Ct. felis* і *Ct. canis*, що паразитують у собак, виявилися пероральні таблетки “Сімпарика” та краплі “Фіпроніл”. Їх екстенс- та інтенсефективність на 30 добу експерименту становила 100,0 %. Ефективність застосування нашійника “Інсектостоп” виявилася низькою. На

30 добу експерименту його екстенс- та інтенсефективність відносно *Ct. felis* становила 16,67 та 36,74 %, а відносно *Ct. canis* – 66,67 та 43,27 % відповідно. Після застосування крапель “Інсектостоп” через 24 год ефективність препарату була високою (100,0 %) відносно бліх виду *Ct. canis*. Водночас на 30 добу експерименту показники ЕЕ і ІЕ становили відносно *Ct. felis* 16,67 та 48,09 %, відносно *Ct. canis* – 83,33 та 51,38 %.

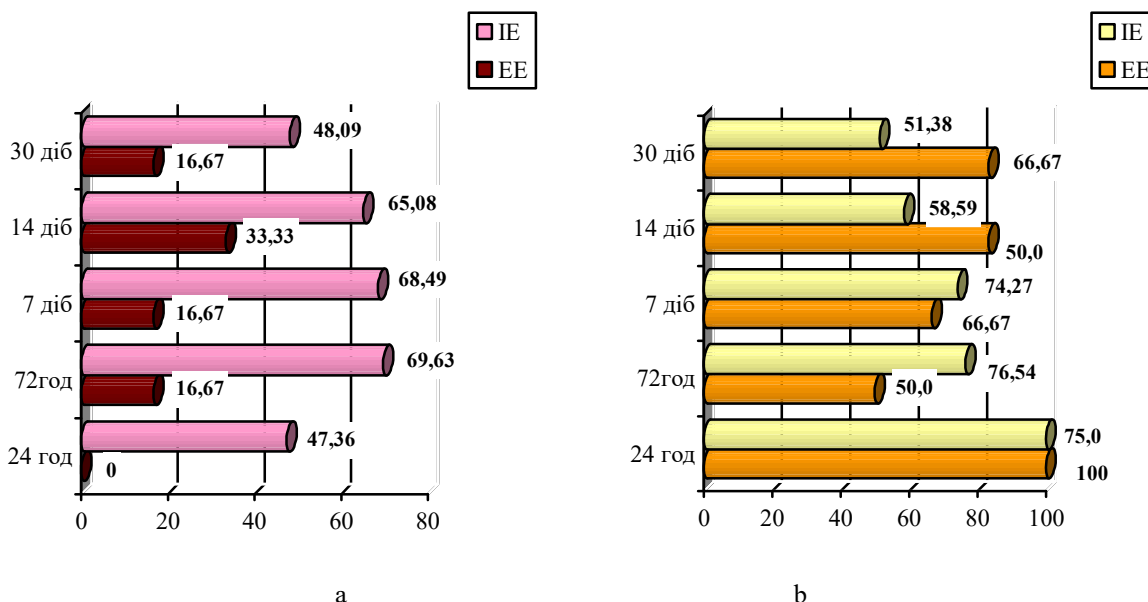


Рис. 4. Показники ефективності (%) крапель “Інсектостопу” за спонтанного ктеноцефальозу собак (n = 6), викликаного: а – *Ct. felis*, б – *Ct. canis*

Отримані нами дані узгоджуються із дослідженнями окремих науковців, які свідчать про високу ефективність сароланеру відносно бліх, що паразитують в собак, де його ефективність може коливатися від 95 до 99 % впродовж 30–35 дiб (McTier et al., 2016; Six et al., 2016).

Висновки

Ефективними інсектицидними препаратами за ктеноцефальозу собак є пероральні таблетки “Сімпарика” та краплі “Фіпрен”, екстенс- та інтенсефективність на 30 добу після їхнього застосування сягала 100 %. Використання нашійника і крапель “Інсектостоп” призводило до зниження показників інвазованості собак блохами видів *Ct. felis* (ЕЕ – 16,67 %, ІЕ – 36,74 і 48,09 % відповідно) та *Ct. canis* (ЕЕ – 66,67 і 83,33 %, ІЕ – 43,27 і 51,38 % відповідно).

Перспективи подальших досліджень. Перспективами подальших досліджень є вивчення ефективності профілактичних заходів за ктеноцефальозу собак.

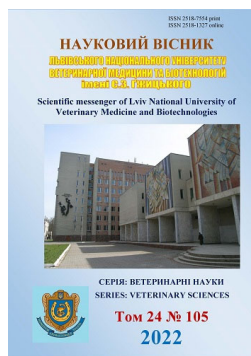
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Bobey, M. C. (2015). Harmonization of regulatory guidelines on efficacy of ectoparasiticides for companion animals: status and missing points. *Veterinary Parasitology*, 208(1-2), 48–55. DOI: 10.1016/j.vetpar.2014.12.020.
- Bosco, A., Leone, F., Vascone, R., Pennacchio, S., Ciuca, L., Cringoli, G., & Rinaldi, L. (2019). Efficacy of fluralaner spot-on solution for the treatment of *Ctenocephalides felis* and *Otodectes cynotis* mixed infestation in naturally infested cats. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 28. DOI: 10.1186/s12917-019-1775-2.
- Bouhsira, E., Lienard, E., Jacquiet, P., Warin, S., Kaltsatos, V., Baduel, L., & Franc, M. (2012). Efficacy of permethrin, dinotefuran and pyriproxyfen on adult fleas, flea eggs collection, and flea egg development following transplantation of mature female fleas (*Ctenocephalides felis felis*) from cats to dogs. *Veterinary Parasitology*, 190(3-4), 541–546. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.07.014.
- Dryden, M., Payne, P., Lowe, A., Mailen, S., Smith, V., & Rugg, D. (2008). Efficacy of a topically applied spot-on formulation of a novel insecticide, metaflumizone, applied to cats against a flea strain (KS1) with documented reduced susceptibility to various insecticides. *Veterinary Parasitology*, 151(1), 74–79. DOI: 10.1016/j.vetpar.2007.10.004.

- Franc, M., & Bouhsira, E. (2009). Evaluation of speed and duration of efficacy of spinosad tablets for treatment and control of *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae) infestations in dogs. *Parasite*, 16(2), 125–128. DOI: 10.1051/parasite/2009162125.
- Gassel, M., Wolf, C., Noack, S., Williams, H., & Ilg, T. (2014). The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod γ -aminobutyric acid- and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 45, 111–124. DOI: 10.1016/j.ibmb.2013.11.009.
- Hernández-Valdivia, E., Cruz-Vázquez, C., Ortiz-Martínez, R., Valdivia-Flores, A., & Quintero-Martínez, M. T. (2011). Presence of *Ctenocephalides canis* (Curtis) and *Ctenocephalides felis* (Bouché) infesting dogs in the city of Aguascalientes, México. *Journal of Parasitology*, 97(6), 1017–1019. DOI: 10.1645/GE-2701.1.
- Marchiondo, A. A., Holdsworth, P. A., Fourie, L. J., Rugg, D., Hellmann, K., Snyder, D. E., Dryden, M. W., & World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (2013). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition: guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestations on dogs and cats. *Veterinary Parasitology*, 194(1), 84–97. DOI: 10.1016/j.vetpar.2013.02.003.
- McTier, T. L., Six, R. H., Fourie, J. J., Pullins, A., Hedges, L., Mahabir, S. P., & Myers, M. R. (2016). Determination of the effective dose of a novel oral formulation of sarolaner (Simparica™) for the treatment and month-long control of fleas and ticks on dogs. *Veterinary Parasitology*, 222, 12–17. DOI: 10.1016/j.vetpar.2016.02.016.
- Medleau, L., Clekis, T., McArthur, T. R., Alva, R., Barrick, R. A., Jeannin, P., & Irwin, J. (2003). Evaluation of fipronil spot-on in the treatment of flea allergic dermatitis in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 44(2), 71–75. DOI: 10.1111/j.1748-5827.2003.tb00123.x.
- Meola, R., Meier, K., Dean, S., & Bhaskaran, G. (2000). Effect of pyriproxyfen in the blood diet of cat fleas on adult survival, egg viability, and larval development. *Journal of Medical Entomology*, 37(4), 503–506. DOI: 10.1603/0022-2585-37.4.503.
- Ozoe, Y., Asahi, M., Ozoe, F., Nakahira, K., & Mita, T. (2010). The antiparasitic isoxazoline A1443 is a potent blocker of insect ligand-gated chloride channels. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 391(1), 744–749. DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.11.131.
- Palma, K. G., Meola, S. M., & Meola, R. W. (1993). Mode of action of pyriproxyfen and methoprene on eggs of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, 30(2), 421–426. DOI: 10.1093/jmedent/30.2.421.
- Ross, D. H., Young, D. R., Young, R., & Pennington, R. G. (1998). Topical pyriproxyfen for control of the cat flea and management of insecticidal resistance. *Feline Practitioners*, 26, 18–22.
- Rufener, L., Danelli, V., Bertrand, D., & Sager, H. (2017). The novel isoxazoline ectoparasiticide lotilaner (Credelio™): a non-competitive antagonist specific to invertebrates γ -aminobutyric acid-gated chloride channels (GABACs). *Parasites & Vectors*, 10(1), 530. DOI: 10.1186/s13071-017-2470-4.
- Schnieder, T., Wolken, S., & Mencke, N. (2008). Comparative efficacy of imidacloprid, selamectin, fipronil-(S)-methoprene, and metaflumizone against cats experimentally infested with *Ctenocephalides felis*. *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine*, 9(3), 176–183. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19003778>.
- Shoop, W. L., Hartline, E. J., Gould, B. R., Waddell, M. E., McDowell, R. G., Kinney, J. B., Lahm, G. P., Long, J. K., Xu, M., Wagerle, T., Jones, G. S., Dietrich, R. F., Cordova, D., Schroeder, M. E., Rhoades, D. F., Benner, E. A., & Confalone, P. N. (2014). Discovery and mode of action of afoxolaner, a new isoxazoline parasiticide for dogs. *Veterinary Parasitology*, 201(3-4), 179–189. DOI: 10.1016/j.vetpar.2014.02.020.
- Six, R. H., Becskei, C., Carter, L., Gale, B., Young, D. R., Mahabir, S. P., Chapin, S., & Myers, M. R. (2016). Evaluation of the speed of kill, effects on reproduction, and effectiveness in a simulated infested-home environment of sarolaner (Simparica™) against fleas on dogs. *Veterinary Parasitology*, 222, 23–27. DOI: 10.1016/j.vetpar.2016.02.026.
- Six, R. H., Liebenberg, J., Honsberger, N. A., & Mahabir, S. P. (2016). Comparative speed of kill of sarolaner (Simparica) and afoxolaner (NexGard) against induced infestations of *Ctenocephalides felis* on dogs. *Parasites & Vectors*, 9, 90. DOI: 10.1186/s13071-016-1372-1.
- Taenzler, J., Wengenmayer, C., Williams, H., Fourie, J., Zschiesche, E., Roepke, R. K., & Heckerroth, A. R. (2014). Onset of activity of fluralaner (BRAVECTO™) against *Ctenocephalides felis* on dogs. *Parasites & Vectors*, 7, 567. DOI: 10.1186/s13071-014-0567-6.
- Yevstafieva, V., Horb, K., Melnychuk, V., Bakhur, T., & Feshchenko, D. (2020). Ectoparasites *Ctenocephalides* (Siphonaptera, Pulicidae) in the composition of mixed infestations in domestic dogs from Poltava, Ukraine. *Folia Veterinaria*, 64(3), 47–53. DOI: 10.2478/fv-2020-0026.
- Horb, K. O. (2020). Peculiarities of *Ctenocephalides* genus fleas' localization on dog body. *Bulletin of Poltava State Agrarian Academy*, 4, 176–182. DOI: 10.31210/visnyk2020.04.22.
- Yevstafieva, V., & Horb, K. (2020). Age dynamics of infestation of dogs *Ctenocephalides* spp. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(98), 84–87. DOI: 10.32718/nvlvet9815.



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10519

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.2:616.995.428:615.285:428

Efficacy of therapeutic measures for chorioptosis of cattle

S. Kovalenko✉

Poltava State Agrarian University, Poltava, Ukraine

Article info

Received 10.02.2022

Received in revised form
10.03.2022

Accepted 11.03.2022

Poltava State Agrarian University,
Skovorody Str., 1/3, Poltava,
36003, Ukraine.
Tel.: +38-067-979-45-09
E-mail: kovalenko97@ukr.net

Kovalenko, S. (2022). Efficacy of therapeutic measures for chorioptosis of cattle. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 135–140. doi: 10.32718/nvlvet10519

Skin diseases in farm animals are most often caused by ectoparasites, which are complex with the host. Chorioptosis of cattle is caused by skin mites of the genus *Chorioptes*, *Chorioptes Bovis*, which occupy a significant place among ectoparasites and cause great economic damage to livestock, has become widespread. Effective control and protection of animals against chorioptosis requires the development of highly effective insecticides, the therapeutic and economic feasibility proven by experimental studies. The study aimed to study the therapeutic efficacy of modern drugs for chorioptosis of cattle, taking into account the method and frequency of use of chemicals and active substances that are part of them. Experimental testing of domestic and foreign drugs for *Chorioptes Bovis*: brovermectin 1 % (DR – ivermectin), sebacil 50 % (DR – foxim), neostomazan (DR – transmix, tetramethrin). The leading indicators of the effect of drugs were extensibility and intensity. According to the results of the studies, it was found that the most effective drugs for spontaneous chorioptosis of heifers were drugs brovermectin 1% and sebacil 50% with three times their use with an interval of 10 days. Their extensibility and intensity efficiency at 25 and 30 days, respectively, was 100%. With double use of these drugs, the therapeutic efficacy (EE and IE) decreased, and on the 60th day of the experiment, brovermectin was 1 % – 66.67 and 87.82 %, sebacil 50 % – 53.30 and 82.04 %, respectively. The use of neostomazan in chorioptosis patients did not lead to their complete recovery. With double use of the drug on the 60th day of the experiment, the indicators of extensibility and intensively were 40.0 and 89.59 %, with three uses – 60.0 and 89.59 %, respectively. The obtained research results recommend brovermectin 1 % and sebacil 50 % to effectively carry out treatment and prevention measures for chorioptosis in cattle.

Key words: cattle, chorioptosis, treatment, chemicals, efficacy indicators.

Ефективність лікувальних заходів за хоріоптозу великої рогатої худоби

С. О. Коваленко✉

Полтавський державний аграрний університет, м. Полтава, Україна

Шкірні захворювання у сільськогосподарських тварин найчастіше викликаються ектопаразитами, які знаходяться у складних взаєминах з організмом хазяїна. Значного поширення набув хоріоптоз великої рогатої худоби, що викликається нашкодними кліщами роду *Chorioptes*, виду *Chorioptes bovis*, і які займають значне місце серед ектопаразитів та завдають тваринництву великих економічних збитків. Ефективна боротьба та захист тварин за хоріоптозу вимагають розробки високоефективних інсектоакарицидних засобів, лікувальна та економічна доцільність яких доведена експериментальними дослідженнями. Метою роботи було вивчити терапевтичну ефективність сучасних препаратів за хоріоптозу великої рогатої худоби з урахуванням способу та кратності застосування хімічних засобів, а також діючих речовин, що входять до їх складу. Проведено експериментальне випробування препаратів вітчизняного й закордонного виробництва щодо *Chorioptes bovis*: бровермектину 1 % (ДР – івермектин), себацілу 50 % (ДР – фоксим), неостомазану (ДР – трансмікс, тетраметрин). Основними показниками дії препаратів були екстенсивність та інтенсивність. За результатами проведених досліджень встановлено, що найбільш ефективними препаратами за спонтанного хоріоптозу телиць виявилися препарати бровермектин 1 % та себаціл 50 % за триразового їх використання з інтервалом 10 діб. Їх екстенсивність та інтенсивність відповідно на 25 та 30 доби становили 100 %. За дворазового використання цих препаратів лікувальна ефективність (ЕЕ та ІЕ) знижувалася і на 60 добу експерименту становила: бровермек-

тину 1 % – 66,67 та 87,82 %, себацилу 50 % – 53,30 та 82,04 % відповідно. Застосування хворим на хоріоптоз телицям неостомазану не призводило до їх повного одужання. За дворазового застосування препарату на 60 добу експерименту показники екстенсефективності та інтенсефективності становили 40,0 та 89,59 %, за триразового застосування – 60,0 та 89,59 % відповідно. Отримані результати досліджень дозволяють рекомендувати схеми використання препаратів бровермектину 1 % та себацилу 50 % з метою ефективного проведення лікувально-профілактичних заходів за хоріоптозу великої рогатої худоби.

Ключові слова: велика рогата худоба, хоріоптоз, лікування, хімічні засоби, показники ефективності.

Вступ

Хоріоптоз є значно поширеною інвазійною хворобою серед великої рогатої худоби всіх порід практично у всіх кліматичних зонах. Науковці доводять, що значна частка тваринницьких господарств є стаціонарно неблагополучними щодо хоріоптозу (Yeruham et al., 1981; Rosen et al., 1989; Biu & Wakawa, 2004; Vieira et al., 2014).

Останнім часом розроблено та запропоновано велику кількість препаратів, призначених для боротьби з членистоногими. Однак у більшості випадків паразитичні кліщі досить швидко набувають стійкості до використовуваних препаратів, що змушує вчених розробляти та випробовувати нові інсектоакарицидні та інші хімічні засоби для боротьби з ектопаразитами тварин (Losson & Lonneux, 1996; Rehbein et al., 2005; el-Khodery et al., 2009). Зокрема, за даними авторів, встановлено ефективність одноразового використання ендоктоциду (ДР – моксидектин, імідаклоприд) при обробці великої рогатої худоби спонтанно інвазованої *Chorioptes bovis* і *Sarcoptes scabiei*. Науковці зазначають, що після проведеного лікування тварин зменшувалася загальна кількість живих кліщів *Ch. bovis* на 7, 14, 21 і 28 доби відповідно на 69, 87, 99 і 98 %. Причому, в кінці досліді лише дві тварини повністю одужали. Клінічні показники тварин, які отримували лікування, показали різке зменшення площі ураженої поверхні тіла з 43,6 % до 0,9 % і 0 % на 28 і 56 добу відповідно (Losson & Lonneux, 1993).

Експериментальними дослідженнями було виявлено високу ефективність (ЕЕ – 99,9 %, ІЕ – 99,3 %) дорамектину в дозі 200 мкг/кг маси тіла у боротьбі з хоріоптозом великої рогатої худоби (Losson et al., 1998).

Інші науковці одноразово обробляли ангорських кіз, заражених *Chorioptes bovis*, 0,05 % амітразом, 0,27 % кумафосом, 0,05 % фенвалератом та 0,03 % лінданом. На 3 добу експерименту ефективність амітразу становила 98 %, а кумафосу і ліндану – 85 %. В подальшому популяція кліщів швидко зростала на тваринах і препарати виявилися неефективними. Водночас, високоефективним відносно *Ch. bovis* виявився тільки фенвалерат, який мав впродовж всього експерименту 100 %-ву ефективність (Wright et al., 1988).

У зв'язку із вищезазначеним, метою роботи було вивчити терапевтичну ефективність сучасних препаратів за хоріоптозу великої рогатої худоби з урахуванням способу та кратності застосування хімічних засобів, а також діючих речовин, що входять до їх складу.

Матеріал і методи досліджень

Роботу виконували упродовж лютого–березня 2021 року в умовах господарства ТОВ “Комишуватський молочний комплекс”, с. Микола-Комишувата, Красноградського району, Харківської області та лабораторії кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Полтавського державного аграрного університету.

Дослідження проводили на телицях чорно-рябої та монбельярдської порід спонтанно інвазованих збудником хоріоптозу (П – від $80,20 \pm 4,59$ до $93,33 \pm 3,76$ екз/4 см²). Визначали ефективність інсектоакарицидних засобів, а саме: “Бровермектин 1 %” (ТОВ “Бровафарма”, Україна, ДР – івермектин), “Себацил 50 % КЕ” (Bayer, Німеччина, ДР – фоксим) та “Неостомазан” (Ceva Sante Animale, Франція, ДР – трансмікс, тетраметрин). Було сформовано шість дослідних і одну контрольну групи тварин по п'ятнадцять голів у кожній.

Тваринам першої дослідної групи вводили підшкірно Бровермектин 1 % у дозі 0,2 мл/10 кг маси тіла, дворазово з інтервалом 10 діб. Тваринам другої дослідної групи вводили підшкірно Бровермектин 1 % у дозі 0,2 мл/10 кг маси тіла, триразово з інтервалом 10 діб. Тваринам третьої дослідної групи застосовували зовнішньо шляхом обприскування Себацил 50 % КЕ у дозі 10 мл препарату на 10 л води, дворазово з інтервалом 10 діб. Тваринам четвертої дослідної групи застосовували зовнішньо шляхом обприскування Себацил К.Е. 50 % у дозі 10 мл препарату на 10 л води, триразово з інтервалом 10 діб. Тваринам п'ятої дослідної групи застосовували зовнішньо шляхом обприскування Неостомазан, який розводили з водою у співвідношенні 1 : 1000, дворазово з інтервалом 10 діб. Тваринам шостої дослідної групи застосовували зовнішньо шляхом обприскування Неостомазан, який розводили з водою у співвідношенні 1 : 1000, триразово з інтервалом 10 діб. Тварин контрольної групи препаратами не обробляли.

Ефективність лікарських засобів визначали на 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 та 60-ту доби. У процесі обстеження тварин основним показником ураження великої рогатої худоби хоріоптесами була екстенсивність інвазії (ЕІ, %) та інтенсивність інвазії (ІІ, екз/4 см²). Акарологічні дослідження зіскрібків зі шкіри проводили вітальними та мортальними методами згідно загальновідомих методик (Yuskiv, 1998; Yevstafieva & Havryk, 2014; Yevstafieva et al., 2015). Виявляли кількість кліщів у зіскрібку з ділянки шкіри тіла розміром 2×2 см.

Головними показниками дії препаратів були екстенсефективність (ЕЕ, %) та інтенсефективність (ІЕ, %). Дослідні та контрольні тварини протягом періоду

досліджень утримувалися прив'язно й перебували в аналогічних умовах годівлі й утримання.

Результати та їх обговорення

За результатами проведених досліджень встановлено, що найбільш ефективними препаратами за спонтанного хоріоптозу телиць виявилися бровермектин 1 % та себацил 50 % за триразового їх використання з інтервалом 10 діб. Їх екстенсефективність та інтенсефективність відповідно на 25 та 30 доби становили 100 %. Зокрема, за триразового застосування препарату бровермектин 1 % показники екстенс - та інтенсефективності становили відповідно: на 5 добу –

86,67 й 96,08 %, на 10 добу – 86,67 й 93,53 %, 15 добу – 93,33 й 94,94 %, на 20 добу – 80,00 й 97,72 %. В подальшому, починаючи з 25 доби, показники ефективності зросли до 100,00 % і залишалися на такому рівні до 60 доби (рис. 1 а). У дослідній групі тварин, яким використовували бровермектин 1 % дворазово, його екстенс- та інтенсефективність виявилася нижчою і становила на 5 добу – 86,67 й 95,69 %, на 10-ту добу – 86,67 й 89,62 %, на 15 добу – 93,33 й 97,07 % відповідно. Починаючи з 20 доби, показники ефективності поступово знижувалися та на кінець досліді (60 доба) становили: ЕЕ – 66,67 %, ІЕ – 87,82 % (рис. 1 б).

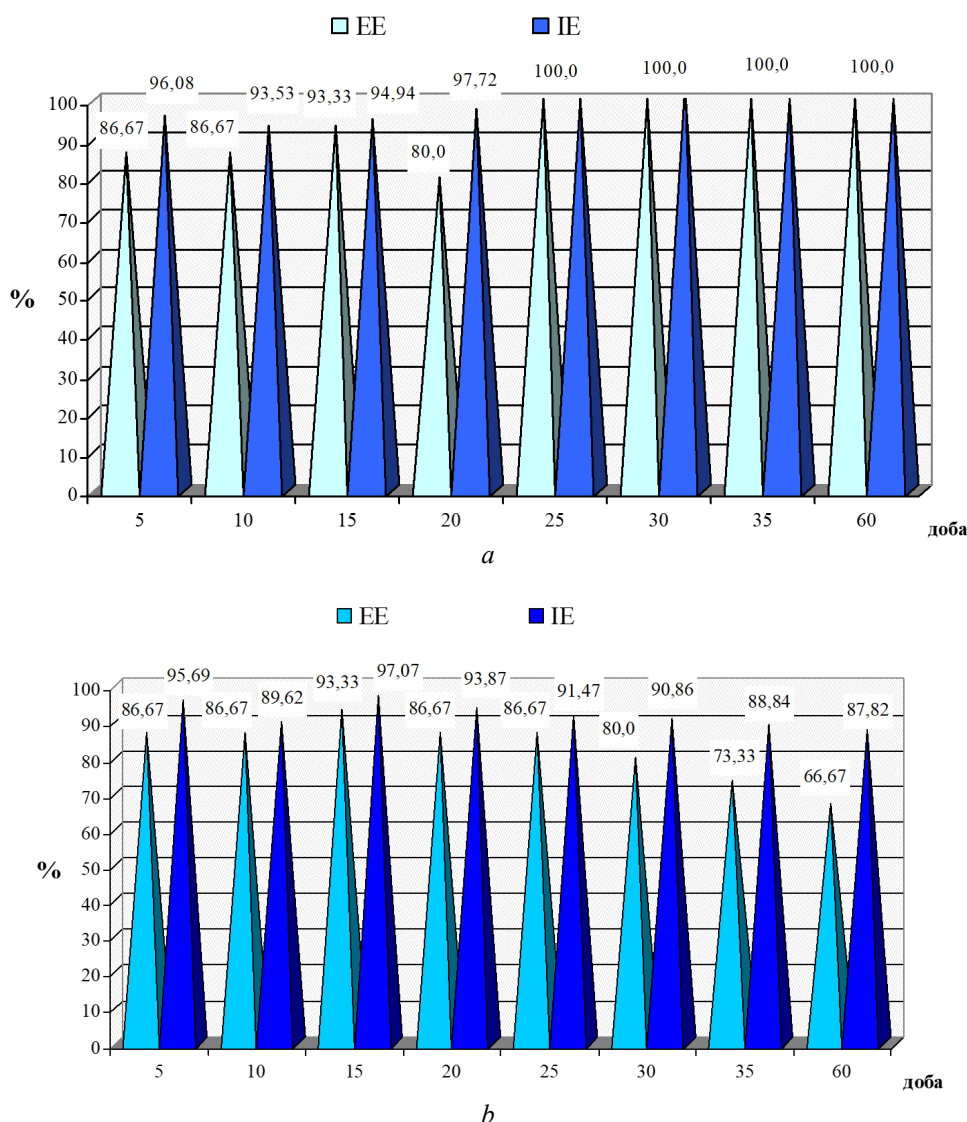


Рис. 1. Ефективність бровермектину 1 % за спонтанного хоріоптозу великої рогатої худоби:
а – триразове застосування; б – дворазове застосування

За триразового використання препарату себацил 50 % показники екстенс- та інтенсефективності становили на 5 добу 100,00 %. В подальшому, впродовж експерименту ЕЕ та ІЕ були дещо нижчими й становили відповідно: на 10 добу – 86,67 й 95,42 %, на 15 добу – 86,67 й 96,24 %, на 20 добу – 86,67 й

93,77 %. Починаючи з 25 доби досліді, показники ефективності зросли, зокрема ЕЕ до 93,33 % а ІЕ до 98,02 %. Починаючи з 30 доби досліді, ефективність засобу зросла до 100,00 %, і такою залишилася до 60 доби експерименту (рис. 2 а). За використання себацилу 50 % дворазово, його екстенс - та інтенсефе-

ктивність на 5 добу становила 100,00 %. На 10 добу ЕЕ становила 86,67 % за ІЕ – 96,56 %. На 15 добу ЕЕ та ІЕ становили 86,67 та 98,15 % відповідно. В наступні доби показники екстенсивності та інтен-

сивності поступово знижувалися та на 60 добу досліді вони склали 53,30 та 82,04 % відповідно (рис. 2 б).

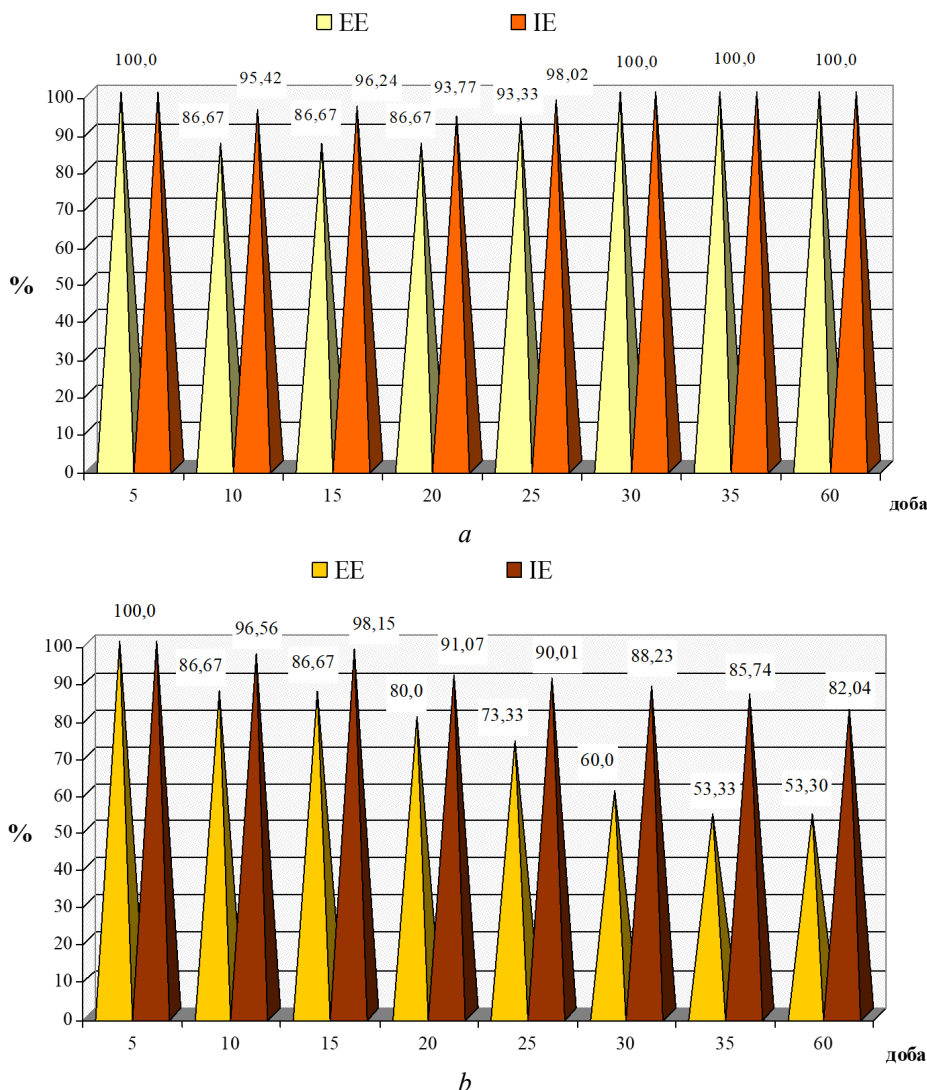


Рис. 2. Ефективність себацилу 50 % за спонтанного хоріоптозу великої рогатої худоби: а – триразове застосування; б – дворазове застосування

В дослідній групі тварин, де препарат неостомазан використовували триразово, показники ЕЕ та ІЕ становили: на 5 добу – 86,67 й 80,27 %, на 10 добу – 86,67 й 91,06 %, на 15 добу – 86,67 й 93,70 % відповідно. На 20 добу досліді показники ЕЕ й ІЕ знизилися до 73,33 й 74,11 % відповідно. На 25 добу досліді зафіксовано підвищення показників ЕЕ й ІЕ до 93,33 й 96,13 % з наступним їх зниженням на 30 добу досліді до 86,67 й 92,15 % відповідно. На кінець досліді показники ЕЕ й ІЕ зафіксовано на рівні 60,00 й 89,59 % відповідно (рис. 3 а). За дворазового використання неостомазану на 5, 10 та 15 доби досліді показники ЕЕ й ІЕ становили 86,67 й 82,18 %, 86,67 й 94,42 % та 93,33 й 93,55 % відповідно. В подальшому, починаючи з 25 доби, вони поступово знижувалися та на

60 добу досліді становили: ЕЕ – 40,00 %, ІЕ – 77,27 % (рис. 3 б).

Отже, найбільш ефективними препаратами за спонтанного хоріоптозу великої рогатої худоби виявилися бровермектин 1 % та себацил 50 % за триразового їх використання.

Згідно літературних даних, ефективна боротьба з акарозними хворобами тварин, в тому числі з хоріоптозом, залежить від використання високоефективних, економічно доцільних, зручних у використанні препаратів, які є сучасними і пройшли перевірку у виробничих випробуваннях (Barth et al., 1997; Nong et al., 2014; Castilla-Castaño et al., 2021). Тому, нами проведено експериментальне визначення ефективності сучасних хімічних засобів за спонтанного хоріоптозу телиць.

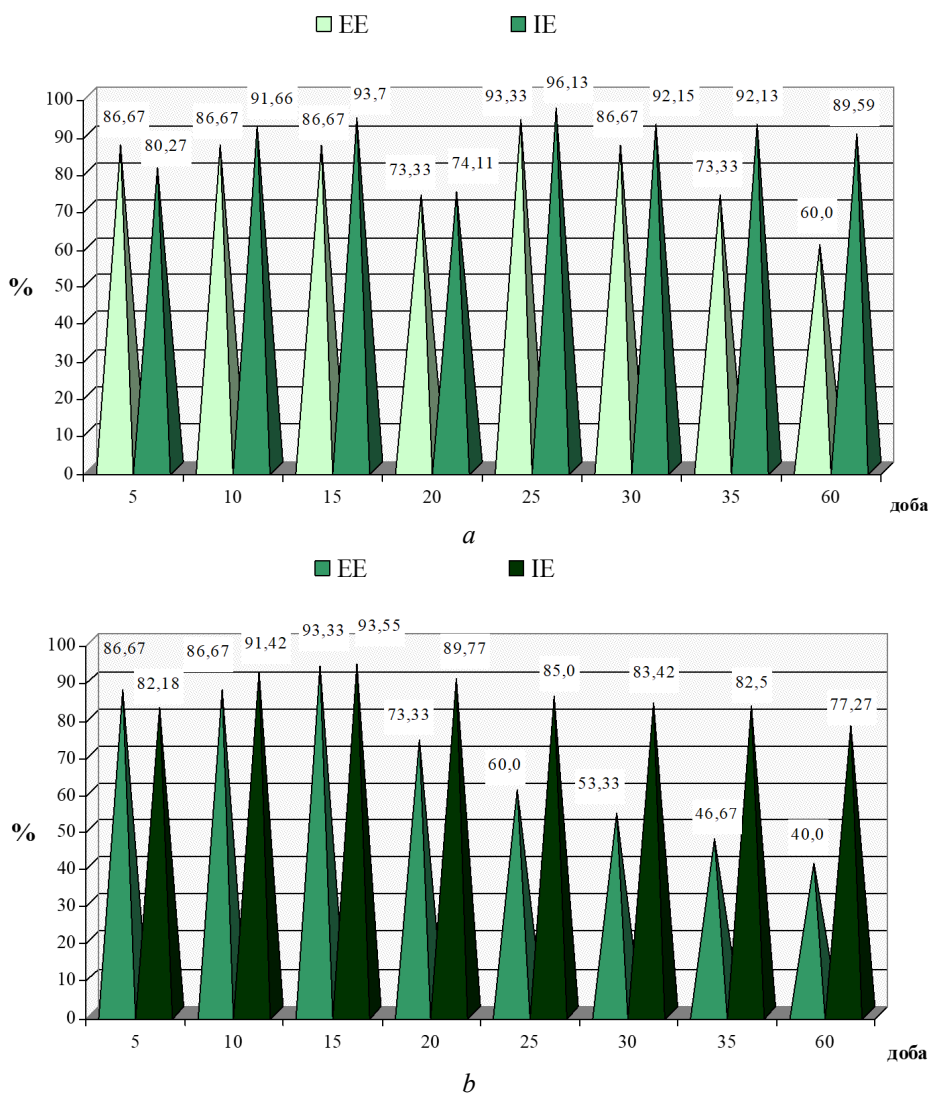


Рис. 3. Ефективність неостомазану за спонтанного хоріоптозу великої рогатої худоби:
а – триразове застосування; б – дворазове застосування

Препарати відрізнялися діючою речовиною, способом та кратністю застосування. Проведеними дослідженнями встановлено високу ефективність (100 %) препаратів бровермектин 1 % (ДР – івермектин) та себацил 50 % (ДР – фоксим) за триразового їх використання з інтервалом 10 діб. Причому дворазове застосування цих препаратів знижувало показники ефективності, які впродовж експерименту коливалися в межах: бровермектин 1 % – від 66,67 до 86,67 % та від 87,82 до 95,69 %, себацилу 50 % – від 53,30 до 86,67 % та від 82,04 до 96,56 % відповідно. Науковці, також, зазначають про недостатню ефективність препарату групи фосфорорганічні сполуки – кумафос за хоріоптозу коней (Boersema, 1978). Проведені нами дослідження, також, вказують, що себацил 50 % за дворазового застосування не призводить до повного одужання телиць інвазованих хоріоптесами. Дослідники свідчать, що препарат групи макроциклічних лактонів (моксидектин) за дворазового застосування у поєднанні з екологічною обробкою інсектицидами є неефективним при лікуванні коней інвазованих

Ch. bovis (Rüfenacht et al., 2011). Такі дані підтверджуються й нашими дослідженнями.

При застосуванні хворим на хоріоптоз телицям неостомазану, його ефективність на 60 добу експерименту не перевищувала за дворазової обробки – 40,0 та 89,59 %, за триразової – 60,0 та 89,59 % відповідно. Водночас, окремі автори зазначають, що препарати групи синтетичні піретроїди (0,03 % цифлутрин, 0,07 % есбіотрин і тетраметри) мали 100 % ефективність при лікуванні великої рогатої худоби, зараженої *Ch. bovis* за їх дворазового застосування (Vaschuk et al., 2017).

Отримані результати досліджень дозволяють рекомендувати схеми використання препаратів бровермектину 1 % та себацилу 50 % з метою ефективного проведення лікувально-профілактичних заходів за хоріоптозу великої рогатої худоби.

Висновки

Високоєфективними акарицидами за хоріоптозу великої рогатої худоби виявилися бровермектин 1 %,

який містить діючу речовину – івермектин, та себацил 50 %, який містить діючу речовину – фоксим за триразового застосування препаратів. Їх екстенс- та інтенсефективність на 60 добу досліду становила 100,0 %. Дворазове застосування цих препаратів не призводило до повного одужання тварин, їх ефективність на кінець експерименту становила відповідно 66,67 і 87,82 % та 53,30 і 82,04 %. Водночас, показники ефективності неостомазану незалежно від кратності його застосування коливалися в межах від 40,0 до 60,0 % та від 77,27 до 89,59 % відповідно.

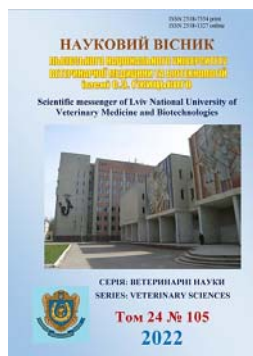
Перспективи подальших досліджень. Перспективами подальших досліджень є визначення економічної ефективності застосування сучасних препаратів за хоріоптозу великої рогатої худоби.

Відомості про конфлікт інтересів

Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Barth, D., Hair, J. A., Kunkle, B. N., Langholff, W. K., Löwenstein, M., Rehbein, S., Smith, L. L., Eagleson, J. S., & Kutzer, E. (1997). Efficacy of eprinomectin against mange mites in cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 58(11), 1257–1259. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9361888>.
- Biu, A. A., & Wakawa, M. M. (2004). Chorioptic mange infestation in cattle in Borno State, Nigeria. *Pakistan Veterinary Journal*, 24(3), 155–156. URL: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012038660>.
- Boersema, J. H. (1978). De effectiviteit van coumaphos tegen *Chorioptes bovis* bij een paard met beenschurft. *Tijdschrift Voor Diergeneeskunde*, 103(7), 377–380.
- Castilla-Castaño, E., Herman, N., Martinelli, E., Lecru, L. A., Pressanti, C., Schelcher, F., & Cadiergues, M. C. (2021). Treatment of sarcoptic and chorioptic mange in an alpaca (*Vicugna pacos*) herd with a combination of topical amitraz and subcutaneous ivermectin. *New Zealand Veterinary Journal*, 69(2), 121–126. DOI: 10.1080/00480169.2020.1808544.
- el-Khodery, S. A., Ishii, M., Osman, S. A., & Al-Gaabary, M. H. (2009). Comparative therapeutic effect of moxidectin, doramectin and ivermectin on psoroptes mites infestation in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Tropical Animal Health and Production*, 41(7), 1505–1511. DOI: 10.1007/s11250-009-9340-9.
- Losson, B. J., Mignon, B., Bossaert, K., Leclipteux, T., & Lonneux, J. F. (1998). Field efficacy of injectable doramectin against *Chorioptes bovis* in naturally infected cattle. *Veterinary Record*, 142(1), 18–19. DOI: 10.1136/vr.142.1.18.
- Losson, B., & Lonneux, J. F. (1993). Field efficacy of injectable moxidectin in cattle naturally infested with *Chorioptes bovis* and *Sarcoptes scabiei*. *Veterinary Parasitology*, 51(1-2), 113–121. DOI: 10.1016/0304-4017(93)90202-x.
- Losson, B., & Lonneux, J. F. (1996). Field efficacy of moxidectin 0.5% pour-on against *Chorioptes bovis*, *Damalinia bovis*, *Linognathus vituli* and *Psoroptes ovis* in naturally infected cattle. *Veterinary Parasitology*, 63(1-2), 119–130. DOI: 10.1016/0304-4017(95)00882-9.
- Nong, X., Li, S. H., Wang, J. H., Xie, Y., Chen, F. Z., Liu, T. F., He, R., Gu, X. B., Peng, X. R., & Yang, G. Y. (2014). Acaricidal activity of petroleum ether extracts from *Eupatorium adenophorum* against the ectoparasitic cattle mite, *Chorioptes texanus*. *Parasitology Research*, 113(3), 1201–1207. DOI: 10.1007/s00436-014-3758-3.
- Rehbein, S., Winter, R., Visser, M., Maciel, A. E., & Marley, S. E. (2005). Chorioptic mange in dairy cattle: treatment with eprinomectin pour-on. *Parasitology Research*, 98(1), 21–25. DOI: 10.1007/s00436-005-0005-y.
- Rosen, S., Yeruham, I., & Hadani, A. (1989). *Chorioptes texanus* (Hirst, 1924), Psoroptidae on cattle in Israel. *Acarologia*, 30, 373–376. URL: <https://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/acarologia/article.php?id=2497>.
- Rüfenacht, S., Roosje, P. J., Sager, H., Doherr, M. G., Straub, R., Goldinger-Müller, P., & Gerber, V. (2011). Combined moxidectin and environmental therapy do not eliminate *Chorioptes bovis* infestation in heavily feathered horses. *Veterinary Dermatology*, 22(1), 17–23. DOI: 10.1111/j.1365-3164.2010.00892.x.
- Vaschuk, A. V., To-Karev, A. N., & Tokareva, O. A. (2017). Acaricidal and insecticidal activity of esbiothrin, cyfluthrin and tetrametrin in the treatment of the cattle infected with *Chorioptes bovis*, *Demodex bovis* and *Bovicola bovis*. *Mezhdunarodnyy Vestnik Veterinari*, 3, 24–29 (in Russian).
- Vieira, M. I., Bordin, T., Dall'Agnol, B., Zanchin, F., Motta, A. C., & Noro, M. (2014). Re-emergence of *Chorioptes bovis* (Acari: Psoroptidae) in cattle in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 23(4), 530–533. DOI: 10.1590/S1984-29612014090.
- Wright, F. C., Guillot, F. S., & George, J. E. (1988). Efficacy of acaricides against chorioptic mange of goats. *American Journal of Veterinary Research*, 49(6), 903–904. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2456707>.
- Yeruham, I., Hadani, A., Sklar, A., & Monbaz, A. (1981). The occurrence of chorioptic mange in dairy cattle in Israel. *Refuah Veterinarith*, 38, 176–179.
- Yevstafieva, V. O., & Havryk, K. A. (2014). Udoskonallennia metodiv zazhyttievoi diahnostryky sarkoptozu, otodektozu ta demodekozu sobak. *Visnyk Poltavskoi Derzhavnoi Ahrarnoi Akademii*, 4, 62–64. DOI: 10.31210/visnyk2014.04.11 (in Ukrainian).
- Yevstafieva, V. O., Havryk, K. A., & Havryk, B. A. (2015). Rekomendatsii shchodo diahnostryky ta zakhodiv borotby z akarozamy sobak. *Poltava* (in Ukrainian).
- Yuskiv, I. D. (1998). Akarolohichni doslidzhennia tvaryn ta akarytsydy. *Lviv: Kameniar* (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10520

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.12-008.3:617-089.5

Overview: euthanasia and methods of antanasia of animals

S. Nichiporuk¹, M. Radzykhovskiy¹✉, B. Gutyj²

¹National University of life and environmental sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

Article info

Received 14.02.2022

Received in revised form

13.03.2022

Accepted 14.03.2022

National University of Life and
Environmental Sciences of
Ukraine, Heroyiv Oborony Str., 15,
Kyiv, 03041, Ukraine.
Tel.: +38-067-725-65-07
E-mail: nickvet@ukr.net

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-068-136-20-54
E-mail: bvh@ukr.net

Nichiporuk, S., Radzykhovskiy, M., & Gutyj, B. (2022). Overview: euthanasia and methods of antanasia of animals. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(105), 141–148. doi: 10.32718/nvlvet10520

The attention of modern society to euthanasia has increased because many centuries ago, a social phenomenon was established, associated not only with the achievements of medical science but also with changing values of the individual and society, actualizing the problem, considering them family members. The number of euthanasia animals has fallen sharply in recent decades. This was facilitated by the adoption of animal protection programs, as well as increasing the social value of animals – the consideration of animals not only as property but also the recognition of some of their rights to welfare. The article discusses the ethical aspects of veterinary practice related to euthanasia, as the relationship between animal and human is constantly changing, ultimately changing the veterinary profession's landscape. When carrying out any manipulations, the relationship between the animal and the owner should be considered. In addition, the rapid development of medicine leads to new opportunities for animal care and the creation of ethical and moral dilemmas regarding the possible improvement of patients' lives. Particular attention is paid to the impact of euthanasia on the morale of the veterinarian, as well as the level of preparation for this manipulation and further communication with the owners. The article presents the preconditions and indications for this procedure and the research results on the leading causes of euthanasia. Particular attention is paid to the euthanasia of laboratory and warm-blooded animals for use in biological experiments. Methods and methods of euthanasia of animals following the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals" and the Law of Ukraine "On Protection of Animals from Cruelty", which are divided into "recommended", "acceptable", "conditionally acceptable", "unacceptable". The information on the list of possible drugs for euthanasia is given. The classification of euthanasia methods and the use of humane methods of ending animal life is given in the example of Canadian shelters.

Key words: euthanasia, barbiturates, pentobarbital, T-61, humane euthanasia.

Огляд: евтаназія і способи евтаназії тварин

С. М. Ничипорук¹, М. Л. Радзиховський¹✉, Б. В. Гутий²

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Підвищена увага сучасного соціуму до евтаназії, як найдавнішого, що багато століть тому виник, громадського феномену пов'язана не тільки з досягненнями медичної науки, а й зі змінами в системі ціннісних орієнтацій особистості та суспільства, актуалізацією проблеми, адже більшість жителів європейських країн вважають своїх вихованців членами сім'ї. За останні десятиліття кількість тварин, що зазнали евтаназії, різко скоротилася. Цьому сприяло прийняття програм захисту тварин, а також з підвищенням суспільної цінності тварин – розгляду їх не тільки як власності, а й визнання за ними деяких прав на благополуччя. У статті розглянуто етичні аспекти ветеринарної практики, що стосуються евтаназії, адже взаємини між твариною і людиною постійно модифікуються, що, зрештою, змінює ландшафт професії лікаря ветеринарної медицини. Тобто, при проведенні будь-яких маніпуляцій варто враховувати зв'язок тварини та власника. Крім того, стрімкий розвиток медицини призводить до нових

можливостей догляду за тваринами, а також створює етичні й моральні дилеми стосовно можливого поліпшення життя пацієнтів. Окрему увагу приділено впливу евтаназії на моральний стан лікаря ветеринарної медицини, а також рівню підготовки до проведення цієї маніпуляції та подальшої комунікації з власниками. У статті наведено передумови та показання щодо проведення цієї процедури і результати досліджень щодо основних причин проведення евтаназії. Окрему увагу приділено проблематиці евтаназії лабораторних та теплокровних тварин за використання їх у біологічному експерименті. Розглянуто способи та шляхи проведення евтаназії тварин згідно з "Європейською Конвенцією про захист хребетних тварин" та Законом України "Про захист тварин від жорстокого поводження", які діють відповідно на "рекомендовані", "прийнятні", "умовно прийнятні", "неприйнятні". Наведена інформація щодо переліку можливих препаратів для проведення евтаназії. На прикладі канадських притулків наводяться класифікації методів евтаназії та застосування гуманних методів припинення життєдіяльності тварин.

Ключові слова: евтаназія, барбітурати, пентобарбітал, T-61, гуманна евтаназія.

Вступ

Жодна галузь діяльності не оточена таким ареалом поваги, як професія лікаря гуманної чи ветеринарної медицини. Адже люди цієї професії здатні зберігати здоров'я і життя безлічі тварин шляхом надання своєчасної допомоги хворому. Тому фігура ветеринарного лікаря асоціюється з уявленням про бездоганну моральність, обумовлену його високою професійною ерудицією та майстерністю, здатністю до аналізу, синтезу, лікарського мислення. Ветеринарний лікар повинен гуманно ставитись до тварини. Жорстоке і негуманне ставлення до тварини аморальне і принижує людську гідність ветеринарного лікаря, будь-які прояви жорстокості або вираження негативних емоцій щодо тварини з боку лікаря є неприпустимими. Проте часто ветеринари змушені приймати непрості рішення стосовно подальшого життя домашніх тварин, попри те, що ветеринарна медицина швидко розвивається, а спеціалісти активно борються із тими хворобами, що здавалися невиліковними ще 10 років тому, ми все ж стикаємось із такими патологіями, як хронічно прогресивні захворювання, онкологія тощо. Тому перед власниками тварин і ветеринарними лікарями постає питання про гуманну евтаназію як найприйнятніший варіант завершення життя й уникнення страждань тварини. Уперше цей термін був вжитий Френсісом Беконом у XVI столітті, проте дебати з приводу доцільності проведення такої процедури відбувались ще в Стародавній Греції та Римі. Активне обговорення тривало між 1870 і 1936 роками у США і Великобританії (Hart et al., 1990; Emanuel, 1994; Berna & Trejo-Gabriel-Galan, 2022).

Евтаназія буквально означає "добру смерть", тобто це спосіб швидкісного та в ідеалі безболісного переживання біологічних процесів в організмі. Через велику кількість небажаних, бродячих чи невиліковно хворих тварин іноді найгуманнішим рішенням, яке може прийняти власник або працівник притулку чи влади, є проведення евтаназії. Проте прийняття цього рішення ніколи не мало однозначного схвалення у суспільстві, адже думка стосовно гуманного завершення життя тварини, як і ставлення до тварин, постійно змінювалась залежно від духовного й культурного розвитку, рівня освіченості та низки соціально-економічних факторів. Крім того, це питання викликає моральні дилеми й у ветеринарних спеціалістів. Зокрема, проведене дослідження в США показало, що з етичними моментами евтаназії не частіше ніж раз на тиждень із 484 респондентів стикаються 52 % опитаних, стільки ж зазнають стресу від прийняття таких

моральних рішень. Втрата домашньої тварини може бути однаково прикрою подією як для власників тварин, так і для ветеринарних лікарів. Проведене у 2014 році дослідження Л. Трана свідчить про вищий ризик депресивного стану в тих ветеринарів, що частіше проводять евтаназію (Crane, 2014; Tran et al., 2014). Це пов'язано насамперед з контролем емоцій не лише самого лікаря, а й власників тварини. Незважаючи на те, що евтаназія є звичайним процесом у професійній практиці ветеринарної медицини, дослідження показують, що лікарі не почуваються добре підготовленими до цього завдання під час теоретичної освіти (Springer et al., 2013; Springer & Grimm, 2018). Варто додати, що більшість ветеринарних лікарів також вважають, що професійні школи (факультети ветеринарної медицини) повинні приділяти більше уваги необхідним навичкам спілкування, щоб допомогти їм мати справу з власниками невиліковно хворих тварин. Вони заявляють, що те, як лікар ветеринарної медицини ставиться до евтаназії, може вплинути на переживання втрати і як результат – призводить до появи можливої депресії (Dickens et al., 2011; Persson et al., 2020).

В одному із досліджень щодо проведення евтаназії за участю 21 студента-ветеринара деякі з них вказали на численні стресові ситуації, з якими вони стикалися. Навіть на цьому етапі їх навчання найвищий рівень стресу пов'язаний із рішеннями про кінець життя. Один студент описав свій сильний стрес, викликаний стурбованістю, що страждання тварини затяглися, тому що власник не хотів визнати, що стан тварини не поліпшиться і що смерть неминуча (Herzog et al., 1989; Batchelor & McKeegan, 2012).

Хоча евтаназія служить способом припинення страждань тварин, рішення неминуче виявляється важким і у час сильно прив'язаним власникам потрібна додаткова підтримка з боку лікарів ветеринарної медицини. Більшість відданих власників домашніх тварин, ймовірно, пережили подібне або знають когось, хто стикався із ситуацією, коли в них залишалося відчуття, що евтаназія тварини була призначена надто рано чи надто довго відкладалася. І власник, і лікар мають можливість відмовитися від евтаназії, що може призвести до того, що вона буде відкладена, коли вона послужить своїй ролі у припиненні непотрібних страждань, і клієнт, і ветеринарний лікар можуть відчувати провину за смерть тварини (Citowicz, 2006; Knesl et al., 2017). Тобто, втрата домашнього улюбленця для власника і пацієнта для ветеринарного лікаря є доволі стресовою подією. А рішення про евтаназію може бути одним із найваж-

чих, які коли-небудь власники ухвалювали для свого вихованця. Хоча це особисте рішення, воно не обов'язково має бути єдиним. Ветеринарні лікарі можуть допомогти власникам прийняти правильне рішення і підтримати їх, коли ті перебувають у стресовому стані через втрату улюбленця.

В Україні питання стосовно проведення евтаназії набуло гостроти після надання юридичної сили "Європейській Конвенції на захист хребетних тварин" від 13.11.1987 року та прийняття Закону України "Про захист тварин від жорстокого поводження" від 28.03.2006. Згідно з останнім документом Верховної Ради України показаннями до проведення евтаназії є:

- припинення страждань тварин, якщо вони не можуть бути припинені в інший спосіб;
- регулювання чисельності диких тварин;
- необхідність умертвіння окремих тварин, які хворі на сказ чи на інші хвороби, що підлягають повідомленню, або є носіями хвороб, що підлягають повідомленню, що підтверджено відповідним документом державної установи ветеринарної медицини;
- необхідність оборони від нападу тварини, якщо життя або здоров'я людей в небезпеці (Ogden et al., 2012; Tran et al., 2014).

Для розуміння якості життя домашніх тварин створені списки, що дозволяють зрозуміти стан тварини і якість наведених умов. Якщо тварина страждає від хронічної невиліковної хвороби, то власники і ветеринарні лікарі повинні оцінювати власні можливості й ресурси щодо догляду за такою твариною. Зокрема, для зручності розуміння відповідальності та можливостей гідного догляду у 2004 році Alice Villalobos створила спеціальну шкалу "5H2M", де за певними критеріями (біль, голод тощо) можна оцінити життя домашньої тварини. Зокрема, набрана сума понад 35 балів свідчить про ту якість життя, із якою можна працювати, у разі набраної кількості балів, меншої ніж 35, є свідчення про низьку якість життя та можливість прийняття рішення про евтаназію. Варто враховувати і вік домашньої тварини. Ветеринарна допомога наприкінці життя зазвичай включає доступність послуг лікаря – виклик для надання невідкладної допомоги, включаючи консультування та підтримку у прийнятті рішень, догляд вдома, ліки та інші методи лікування, які застосовуються для полегшення дискомфорту, стресу та болю; варіанти евтаназії, адаптовані до ваших потреб та потреб вашого вихованця (які можуть включати евтаназію в домашніх умовах), та підтримка/консультування у разі втрати домашніх тварин.

Свого часу Вільялос та Каплан запропонували перелік конкретних параметрів, так звану матрицю для осіб, які здійснюють догляд за хворими на рак. До них належать ступінь болю, який відчуває вихованець, зміни в рухливості, наявність апетиту, гідратація та оцінка співвідношення "хороших" та "поганих", тобто повноцінню прожитих днів. Це може допомогти власнику більш об'єктивно контролювати якість життя улюбленця. Якщо індивідуальні бали досягають лише 30–50 % від норми для домашньої тварини, це може бути встановлено заздалегідь як точка, прийнят-

тя рішення про евтаназію (Villalobos & Kaplan, 2007). Бійсманс Е. С. та ін. затвердили психометричний інструмент для оцінки власниками якості життя і використали його для порівняння якості життя між здоровими кішками та кішками з хронічним захворюванням нирок (Bijmans et al., 2016).

Для оцінки стану здоров'я тварин необхідно враховувати такі параметри, що своєю чергою явно ілюструють можливі патології:

- рівень активності, адже кволі тварини відчують стрес чи дистрес, що можуть бути викликані хворобою;
- зниження споживання корму та води;
- маса тіла, втрата якої може сигналізувати про погіршення стану тварини;
- температура тіла;
- поведінка, адже агресія, посилена вокалізація, нетипові реакції можуть вказувати на сильний біль та появу стресу, що, зрештою, можуть бути спричинені хворобами;
- наявність ран чи пухлин;
- наявність інфекційних процесів;
- клінічні патології (Klaunberg et al., 2004; Artwohl et al., 2006; Morgan & McDonald, 2007).

Найбільш поширеними причинами смерті собак, що перебувають на первинній ветеринарній допомозі у Великій Британії, є неопластичні захворювання, захворювання опорно-рухового апарату та неврологічні розлади. Стосовно віку, то найчастішими причинами смерті у собак віком до 3 років були відхилення в поведінці, шлунково-кишкові розлади та дорожньо-транспортні пригоди, тимчасом як у собак віком понад 3 роки поширеними причинами були неопластичні захворювання, порушення опорно-рухового апарату та неврологічні розлади (Dickens et al., 2014; Persson et al., 2020).

Крім того, згідно з британським дослідженням, заснованим на анкетах власників 3126 померлих собак, основним способом припинення життєдіяльності була евтаназія у 52,0 % собак, а також хвороба у 29,3 %, старість у 20,7 % та поведінкові проблеми у 2,0 %. Причини смерті без сторонньої допомоги – близько 47,9 %, а найчастішими причинами були хвороби – 35,3 %, природні причини – 7,7 %, дорожньо-транспортні пригоди – 3,2 % та нещасні випадки – 1,7 % (O'Neill et al., 2013; O'Neill et al., 2015).

Що стосується зв'язку поведінки і евтаназії, то дослідження щодо евтаназії собак у Данії в 1997–1998 роках показало, що з 2493 обстежених собак, які зазнали евтаназії, 23,6 % були піддані евтаназії у відповідь на проблеми з поведінкою (Mikkelsen & Lund, 1999; Hall et al., 2020). Більшість бездомних собак, що прихистили з притулків, повертається до притулків з кількох причин, так, в Італії з 1789 собак 271 (15 %) було повернено через проблеми з поведінкою (Mondelli et al., 2002; Cooney et al., 2012).

На жаль, вітчизняні ресурси з приводу проведення евтаназії містять вкрай незначну кількість інформації щодо таких методів, частина якої є застарілою. Натомість іноземні джерела не завжди дають вичерпний та зрозумілий матеріал щодо проведення цієї процедури

не лише на лабораторних тваринах, а й на домашніх, до того ж мають законодавчі відмінності. Отже, на сьогодні існує необхідність пошуку нових ефективних і гуманних методів евтаназії домашніх тварин.

Мета дослідження – проаналізувати методи евтаназії, що застосовуються іноземними та українськими ветеринарними лікарями згідно з гуманними способами припинення життєдіяльності тварин та законодавчими актами, зокрема із Законом України “Про захист тварин від жорстокого поводження” від 28.03.2006.

Результати та їх обговорення

У гуманній медицині прийнято виділяти активну та пасивну форми (види) евтаназії. Активна евтаназія пов'язана з діями, які призводять до смерті пацієнта (наприклад, введення лікарем пацієнту смертельної дози наркотичного засобу). Пасивна евтаназія передбачає бездіяльність – ненадання або припинення медичної допомоги (наприклад, відключення хворого від приладів, що забезпечують функціонування життєво важливих органів). Ветеринарна медицина передбачає проведення лише активної евтаназії. Методи евтаназії можна поділити на фармакологічні та фізичні методи. До прийнятних фармакологічних методів належать ін'єкційні препарати та гази, які спочатку пригнічують центральну нервову систему, а потім серцево-судинну діяльність. Прийнятні фізичні методи повинні спершу викликати швидку втрату свідомості шляхом порушення роботи центральної нервової системи. Тобто, відбувається загальноприйняте здійснення евтаназії двома шляхами: внутрішньовенним введенням великої дози наркозу та внутрішньом'язевим введенням наркозу із подальшим внутрішньосерцевим введенням відповідних препаратів. Тоді, залежно від методів евтаназії, спрацює один із таких механізмів:

- гіпоксія або ж застосування газів, що викликає незворотні патологічні зміни, спричинені ненасиченням кисню тканинами;

- пряме пригнічення нервових клітин у серцевому чи дихальному відділах головного мозку шляхом передозування наркотичних чи інгаляційних засобів;

- фізичне переривання діяльності мозку шляхом завдання вогнепальних уражень (Emanuel, 1994; Yevstafyeva et al., 2017).

Тому найкращим способом згідно з рекомендаціями AVMA буде внутрішньовенне введення барбітуратів, оскільки ті пригнічують ЦНС, її серцевий та респіраторний центри та не викликають побічних ефектів, відповідно не спричиняють подальших страждань тварини (Kipperman et al., 2018). Усі похідні барбітурової кислоти, які широко застосовуються в анестезії, є прийнятими і для проведення евтаназії при введенні внутрішньовенно. Зокрема, невисока доступність пентобарбіталу натрію забезпечує його широке застосування. Основною перевагою використання похідних цієї кислоти є швидкість та спрямованість дії. Зокрема, у канадських притулках згідно з анкетуванням ін'єкція пентобарбіталу натрію була єдиним

методом евтаназії, що використовується у 61 % установ, де присипляли собак, та у 53 % установ, де присипляли кішок. У багатьох із цих установ використовувалася премедикація. Пентобарбітал натрію в основному вводили внутрішньовенно, але в деяких установах також використовувалися внутрішньосерцеві та внутрішньочеревні шляхи введення, а в деяких застосовувалося лише внутрішньосерцеве введення для котів (Rogelberg et al., 2007; Caffrey et al., 2011).

Трапляється так, що внутрішньовенний доступ може бути небезпечним або непрактичним (наприклад, маленький розмір пацієнта або поведінкові особливості деяких тварин, зокрема агресія), у таких випадках барбітурати і похідні барбітурової кислоти можна вводити внутрішньочеревно (наприклад, пентобарбітал натрію, секобарбітал), за винятком некомбінованих препаратів пентобарбіталу, оскільки вони були схвалені тільки для внутрішньовенного та внутрішньосерцевого введення. Також допускається внутрішньочеревне введення пентобарбітону, але лише для кошенят, цуценят та кішок, що пояснюється психофізіологічними аспектами поведінки та способів виживання тварин. Цей спосіб підходить при поганому доступі до вени, але процес вмирання триває близько 15–30 хвилин, на що теж необхідно зважати. Стосовно великих домашніх тварин – прийнято вважати, що використання похідних барбітурової кислоти є доволі недоцільним, проте це широко використовується практика у США (Pritchett et al., 2005; Vlasenko et al., 2013).

У практиці прийнято застосовувати внутрішньовенне передозування анестетиків, наприклад тіопентану чи профолу. Даний метод прийнятний для евтаназії тварин різних розмірів, коли обставини вказують на те, що ці препарати є найкращим варіантом для евтаназії. Для такого методу евтаназії необхідно обов'язково дотримуватися загальної анестезії та діяти швидко й коректно, оскільки недостатнє дозування може повернути тварину до свідомості. Оскільки даний метод імітує фізіологічний процес настання смерті, тому має цінність для науковців за необхідності проведення біопроб на теплокровних тваринах. Свого часу вітчизняними науковцями було використано тіопенат натрію для евтаназії собак задля вивчення патоморфологічних особливостей маловідомого на той час захворювання, спричиненого вірусом родини Coronaviridae (Radzikhovsky, 2018; Goralskii et al., 2019; Radzikhovsky et al., 2020).

Умовно прийнятими є методи:

- внутрішньовенного введення Т61, який викликає колапс дихання, паралізуючи діафрагму та міжреберні м'язи. Кожен мл Т-61 містить 200 мг ембутрамід, який чинить сильну наркотичну дію і одночасно паралізує дихальний центр, 50 мг мебезонія йодиду, який чинить паралітичну дію на скелетні та дихальні м'язи і швидко викликає циркуляторний колапс, і 5 мг гідрохлориду тетракаїну у водному розчині. Тобто містить 3 речовини із різними швидкостями адсорбції. Повинен строго вводиться під загальною анестезією повільно, адже швидке введення може спровокувати колапс дихання перед втратою свідомості, що прирі-

кає тварину на ще більші страждання. Ця особливість викликає дискусії, зокрема когорта вчених на чолі з Хеллбрекерсом та ін. встановили, що після введення Т-61 одночасно наступали втрата свідомості та припинення дихальної діяльності, проте Ламб і Джонс повідомили про те, що після внутрішньовенного введення цього препарату впродовж 5 секунд дихання зупинилось через 32 секунди, а втрата свідомості наступила через 42 секунди (Caffrey et al., 2011; Raghav et al., 2011). Було проведено ряд експериментів визначення послідовності подій, які призводять до смерті після введення евтаназії Т61. Одночасні записи ЕМГ, ЕЕГ, ЕКГ та CO₂ в кінці видиху (тільки у собак) були отримані у кроликів та собак. Результати показують, що після введення Т61 втрата свідомості та втрата м'язової активності відбувалися одночасно. Вокалізація та збільшення м'язової активності спостерігалися у початковій фазі ін'єкції у 3 із 8 собак, яким вводили Т61 або бутірамід. З цього дослідження було зроблено висновок, що присутність міорелаксанту не становить етичної проблеми для використання Т61 як агента евтаназії, але інші результати показують, що використання Т61 може мати деякі емоційно неприємні побічні ефекти, що й викликає наведені вище дискусії (Hellebrekers et al., 1990; Turner et al., 2020). Крім того, ін'єкція Т-61 була єдиним методом евтаназії, що використовується у 23 % установ, де присипляли собак, та у 35 % установ, де присипляли кішок, у канадських притулках (Rogelberg et al., 2007; Caffrey et al., 2011; Raghav et al., 2011). Цей препарат нині вилучений із товарообігу США;

- внутрішньовенне або інтракардіальне введення хлористого калію, який викликає зупинку серця та обов'язково повинен застосовуватись під анестезією, адже перед смертю спричиняє нестерпний біль;

- внутрішньовенне або інтракардіальне введення сульфату магнію, який допускається лише під анестезією, оскільки спричиняє параліч м'язів, відповідно й зупинку дихання без попередньої втрати свідомості. А в собак можуть бути різкі м'язові спазми, вокалізація, конвульсії, відчуття сильного страху та відчаю;

- інгаляція газоподібних анестетиків, зокрема галотану, ізофлюрану тощо. Застосовують лише для тварин вагою менше ніж 7 кілограмів та під загальною анестезією. Проте ці методи потребують досить великих затрат, що полягають в облаштуванні спеціально обладнаних приміщеннях та у вартості використаних речовин.

Варто згадати і про евтаназію лабораторних тварин, адже ті своєю чергою використовуються у відповідних дослідженнях стосовно захворювань людини і тварин (наприклад, туберкульоз). Тоді при можливій загибелі тварини в муках чи створеній можливості контамінації доцільно провести евтаназію згідно з основними правилами належної лабораторної практики GLP (1981 р.), положеннями “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухваленими І Національним конгресом з біоетики (м. Київ, 2001 р.), відповідно до вимог міжнародних принципів “Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовують в експерименті та інших

наукових цілях” (Страсбург, 1986 р.) та “Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин”, затверджених Наказом МОЗ № 281 від 1 листопада 2000 р. “Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин” та ЗУ “Про захист тварин від жорстокого поводження” (№ 3447-IV від 21.02.2006 р., м. Київ). Тобто, для запобігання або ж припинення мук лабораторні тварини повинні піддаватися евтаназії згідно з наведеними документами. Гризуни можуть бути особливо стійкими до проведення наведеної процедури стандартними методами, а саме: вдихання вуглекислого газу чи газової анестезії, то принципи ІАСУС вимагають підтвердженого вторинного фізичного методу евтаназії (обезголювання, зміщення шийних хребців, видалення життєво важливих органів). Тобто, до загальних методів евтаназії лабораторних тварин належить:

- вдихання анестезійного газу, яке доцільно проводити для тварин вагою менше ніж 7 кг і як частину двоетапного процесу із вторинним фізичним методом;

- вдихання вуглекислого газу;

- вивих суглобів поверхонь шийної частини (атлanto-потиличного суглоба) з подальшою руйнацією довгастого та спинного мозку, що призводить до пошкодження центрів, що допустимо для птиці, мишей, пацюків. При правильному виконанні цей метод призначений для максимально безболісної смерті і не потребує витрат або обладнання. Виконавець повинен знати правильний метод виконання руху, який викликає зміщення шийних хребців, і без належної підготовки та навчання методу є ризик не викликати смерть, а призвести до сильного болю та страждань. Невідомо, як довго тварина залишається у свідомості або який рівень страждань вона переживає після правильного клацання шиї, тому вона стала менш поширеною і часто замінюється інгалянтами.

- обезголювання, що виконується під анестезією застосовується найчастіше для кроликів та мишей;

- ін'єкційні барбітурати, що широко використовуються у ветеринарній практиці для проведення евтаназії дрібних домашніх тварин;

- серцева перфузія, яка використовується для тварин під седациєю і попереднім використанням ін'єкційних анестетиків (Mozes et al., 2018; Packer et al., 2019; Hall et al., 2020; Pegram et al., 2021).

Проте незалежно від способів прийняття рішень, показань та особистих переконань дана процедура повинна бути максимально безболісною задля уникнення продовження страждань пацієнта. На щастя, сучасні методи ветеринарії та проведені дослідження дозволяють зробити процес евтаназії максимально гуманним. Тобто, цей метод повинен бути безболісним, зі швидким настанням смерті після втрати свідомості та мінімізацією відчуття страху, надійним і вже незворотним.

Підсумовуючи, нагадаємо про старі часи, коли у Стародавньому Єгипті власники домашніх тварин вимагали, щоб їхні улюбленці були поховані разом із ними. В результаті їх умертвляли і муміфікували разом із їхніми господарями. Сьогоднішня ситуація

більш цивілізована і евтаназія зазвичай піддають тварин з невиліковними хворобами задля позбавлення їх неминучих страждань. Щодо експериментальних тварин, то дана процедура має відповідати Закону України про захист тварин від жорстокого поводження (Відомості Верховної Ради України (ВВР), 2006 р., № 27, ст. 230), беручи до уваги підписану Україною Угоду про асоціацію з ЄС у сфері забезпечення добробуту тварин, що розділяє за об'єктами захисного впливу на акти щодо поводження з тваринами, яких використовують у межах проведення наукових та промислових дослідів (Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів або в інших наукових цілях 1986 р., Директива Ради Європи 2010/63/ЄС про захист тварин, використовуваних у наукових цілях, Рекомендація Європейської Комісії про настанови щодо приміщень та піклування про тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей), що має бути затверджено у протоколах досліджень, які схвалено комісією з біоетичної експертизи і Головним управлінням Держпродспоживслужби даного регіону.

Враховуючи вищенаведене, можливе використання тварин у наукових експериментах лише у мінімальній кількості та в разі, якщо відсутня можливість заміни їх іншими альтернативними методами і об'єктами. Нежиттєздатна експериментальна тварина умертвляється методами евтаназії до настання у тварини страждань. Культура евтаназії неминуче постане актуальним питанням і для тварин, і для людей, адже, як писав Стівен Гокінг: "...я думаю, що ті, хто страждають від невиліковної хвороби і відчувають нестерпний біль, повинні мати право вибирати, коли закінчити своє життя, а ті, хто їм допомагає, повинні бути вільні від судового переслідування. Ми не дозволяємо тваринам страждати, так чому люди повинні?".

Висновки

Отже, власники тварин та ветеринарні лікарі повинні підтримувати якість життя тварин, здійснюючи при тому правильний догляд за хворими і старіючими тваринами, приймаючи правильні та гуманні рішення стосовно припинення страждань тварин. Також, враховуючи етичні аспекти проведення цієї процедури, лікарі ветеринарної медицини повинні дбати про власний моральний стан та готовність до проведення евтаназії. Відповідно до цього необхідно застосовувати безболісні методи евтаназії, враховуючи вплив відповідних речовин на стан і подальше функціонування органів та їх систем.

Тому рекомендовано внутрішньовенне введення похідних барбітурової кислоти через швидкість та спрямованість дії. Цей метод є найбільш гуманним та доступним.

Прийнятими методами евтаназії може бути передозування анастетиків (лідоканін гідрохлорид в дозі 50–100 мг на кг маси тіла) за умови попередньої седації (пропофол в дозі 6–8 мг на кг маси тіла), або внутрішньовенного введення Тіопенату в дозі 60 мг на 1 кг маси тіла.

Відповідно до цього виникає потреба пошуку нових ефективних, безболісних з порівняно невеликими затратами методів евтаназії.

Проведений пошук матеріалів створює передумови щодо розвитку і поширення досліджень з приводу гуманної та безпечної евтаназії дрібних тварин.

Відомості про конфлікт інтересів

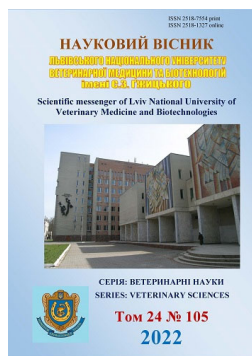
Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Artwohl, J., Brown, P., Corning, B., & Stein, S. (2006). Report of the ACLAM Task Force on Rodent Euthanasia. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 45(1), 98–105. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16548095>.
- AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. URL: <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf>.
- Batchelor, C. E. M., & McKeegan, D. E. F. (2012). Survey of the frequency and perceived stressfulness of ethical dilemmas encountered in UK veterinary practice. *Veterinary Record*, 170(1), 19. DOI: 10.1136/vr.100262.
- Berna, C. V., & Trejo-Gabriel-Galan, J. M. (2022). Leyes de eutanasia en España y en el mundo: aspectos médicos. *Euthanasia laws in Spain and in the world: Medical aspects. Atención Primaria*, 54(1), 102170. DOI: 10.1016/j.aprim.2021.102170.
- Bijsmans, E. S., Jepson, R. E., Syme, H. M., Elliott, J., & Niessen, S. J. M. (2016). Psychometric validation of a general health quality of life tool for cats used to compare healthy cats and cats with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(1), 183–91. DOI: 10.1111/jvim.13656.
- Caffrey, N., Mounchili, A., McConkey, S., & Cockram, M. S. (2011). Survey of euthanasia practices in animal shelters in Canada. *Canadian Veterinary Journal*, 52(1), 55–61. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21461208>.
- Citowicz, R. (2006). Prawnokarne aspekty ochrony życia człowieka a prawo do godnej śmierci. Warszawa: "Kodeks".
- Cooney, K. A., Chappell, J. R., Callan, R. J. & Connally, B. A. (2012). Veterinary euthanasia techniques (a practical guide). *Small animal surgery, USA*.
- Crane, M. (2014). New research examining the effect of euthanasia on the mental health of veterinarians. *Australian Veterinary Journal*, 92(6), N2. DOI: 10.1111/avj.127.
- Dickens, G. E., Roof, P. D. & Roof, K. W. (2011). A Survey of Veterinarians in the US: Euthanasia and Other End-of-Life Issues. *Anthrozoos: A Multidisciplinary Journal of The Interactions of People & Animals*, 24(2), 167–174. DOI: 10.2752/175303711X12998632257666.
- Emanuel, E. J. (1994). Euthanasia. Historical, ethical, and empiric perspectives. *Archives of Internal Medicine*, 154(17), 1890–1901. DOI: 10.1001/archinte.154.17.1890.
- European Convention for the Protection of Pets, 13 February 1987 [Yevropeys'ka konventsiya pro zakhyst domashnikh tvaryn vid 13 lyutoho 1987 r.] (in Ukrainian).

- Evtanaziya tvaryn [Euthanasia of animals] veb-sayt. URL: https://uk.wikipedia.org/wiki/Евтаназія_тварин (in Ukrainian).
- Euthanasia of Research Animals. URL: <https://services-web.research.uci.edu/compliance/animalcare-use/research-policies-and-guidance/euthanasia.html>.
- Evtanaziya. URL: <https://ips.ligazakon.net/document/TM040113> (in Ukrainian).
- Goralskii, L., Radzikhovsky, N., Dyshkant, O., Dunaievska, O., & Sokulskiy, I. (2019). Experimental study of tropism in cultivated canine coronavirus in the small intestine of puppies. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(4), 489–496. DOI: 10.15421/021972.
- Hall, E. J., Carter, A. J., & O'Neill, D. G. (2020). Incidence and risk factors for heat-related illness (heat-stroke) in UK dogs under primary veterinary care in 2016. *Scientific Reports*, 10, 9128. DOI: 10.1038/s41598-020-66015-8.
- Hart, L. A. Hart, B. L., & Mader, B. (1990). Humane euthanasia and companion animal death: caring for the animal, the client, and the veterinarian. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 197(10), 1292–1299. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2266042>.
- Hellebrekers, L. J., Baumans, V., Bertens, A. P., & Hartman, W. (1990). On the use of T61 for euthanasia of domestic and laboratory animals; an ethical evaluation. *The international journal of laboratory animal science*, 24(3), 200–204. DOI: 10.1258/002367790780866254.
- Herzog, H. A., Vore, T. L., & New, J. C. (1989). Conversations with veterinary students: attitudes, ethics, and animals. *Anthrozoös*, 2(3), 181–189. DOI: 10.2752/089279389787058019.
- Humanna evtanaziya sobak ta kishok. veb-sayt. URL: https://animals.kharkov.ua/files/animals/euthanasia_of_dog_cats_WSPA_ua.pdf (in Ukrainian).
- Kipperman, B., Morris, P., & Rollin, B. (2018). Ethical dilemmas encountered by small animal veterinarians: characterisation, responses, consequences and beliefs regarding euthanasia. *Veterinary Record*, 182(19), 548. DOI: 10.1136/vr.104619.
- Klaunberg, B. A., O'malley, J., Clark, T., & Davis, J. A. (2004). Euthanasia of mouse fetuses and neonates. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*, 43(5), 29–34. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15461437>.
- Knesl, O., Hart, B. L., Fine, A. H., Cooper, L., Patterson-Kane, E., Houlihan, K. E., & Anthony, R. (2017). Veterinarians and Humane Endings: When Is It the Right Time to Euthanize a Companion Animal? *Frontiers in Veterinary Science*, 4, 45. DOI: 10.3389/fvets.2017.00045.
- Kotsyumbas, I. Ya., Malyk, O. H., Zhyla, M. I., & Kosenko, Yu. M. (2012). Do pytannya provedennya klinichnykh doslidzhen' veterynarnykh likars'kykh zasobiv. *Biolojiya tvaryn*, 14(1–2), 34–41 (in Ukrainian).
- Zakon Ukrayiny "Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennya" vid 21.02.2006 r. Vidomosti Verkhovnoyi Rady. 2006. 27. 230 (in Ukrainian).
- Zakon Ukrayiny pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennya. URL <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text> (in Ukrainian).
- Mikkelsen, J., & Lund, J. D. (1999). Euthanasia of dogs because of behaviour problems: An epidemiological study of euthanasia of dogs in Denmark with special attention to aggression problems. *Dansk Veterinaertidsskrift*, 82(11), 474–479. URL: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DK1999001013>.
- Mondelli, M., Giannini, F., & Giacchi, M. (2002). Carpal tunnel syndrome incidence in a general population. *Neurology*, 58(2), 289–294. DOI: 10.1212/wnl.58.2.289.
- Morgan, C. A., & McDonald, M. (2007). Ethical dilemmas in veterinary medicine. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 37(1), 165–179. DOI: 10.1016/j.cvsm.2006.09.008.
- Mozes, R., Pearl, D. L., Niel, L. & Weese, J. S. (2018). Epidemiological investigation of euthanasia in an Ontario animal shelter. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, 20(6), 479–486. DOI: 10.1177/1098612x17715152.
- O'Neill, D. G., Church, D. B., McGreevy, P. D., Thomson, P. C., & Brodbelt, D. C. (2013). Longevity and mortality of owned dogs in England. *Veterinary Journal*, 198(3), 638–643. DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.09.020.
- O'Neill, D. G., Church, D. B., McGreevy, P. D., Thomson, P. C., & Brodbelt, D. C. (2015). Longevity and mortality of cats attending primary care veterinary practices in England. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, 17(2), 125–133. DOI: 10.1177/1098612X14536176.
- Ogden, U., Kinnison, T., & May, S. A. (2012). Attitudes to animal euthanasia do not correlate with acceptance of human euthanasia or suicide. *Veterinary Record*, 171(7), 174. DOI: 10.1136/vr.100451.
- Packer, R. M. A., O'Neill, D. G., Fletcher, F., & Farnworth, M. J. (2019). Great expectations, inconvenient truths, and the paradoxes of the dog-owner relationship for owners of brachycephalic dogs. *PLoS ONE*, 14(7), e0219918. DOI: 10.1371/journal.pone.0219918.
- Pegram, C., Gray, C., Packer, R. M. A., Richards, Y., Church, D. B., Brodbelt D. C., & O'Neill, D. G. (2021). Proportion and risk factors for death by euthanasia in dogs in the UK. *Scientific Reports*, 11, 9145. DOI: 10.1038/s41598-021-88342-0.
- Persson, K., Selter, F., Neitzke, G., & Kunzmann, P. (2020). Philosophy of a "Good Death" in Small Animals and Consequences for Euthanasia in Animal Law and Veterinary Practice. *Animals*, 10(1), 124. DOI: 10.3390/ani10010124.
- Pritchett, K., Corrow, D., Stockwell, J., & Smith, A. (2005). Euthanasia of neonatal mice with carbon dioxide. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 55(3), 275–281. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16089177>.
- Quality of Life Scale. URL: <https://360petmedical.com/wp-content/uploads/2020/03/Quality-of-Life-Scale.pdf>.
- Radzikhovsky, N. (2018). Makroskopichni zminy u tsutsenyat za eksperymental'noho vidtvorennya koronavirusnoho enterytu. *Visnyk PDAA. Ser. Veterynarna medytsyna*, 4, 174–177. DOI: 10.31210/visnyk2018.04.27 (in Ukrainian).
- Radzikhovsky, N., Dyshkant, O., & Sokulskiy, I. (2020). Pathomorphology of active organs of immunogenesis for experimental reproduction of coronavirus infection in dogs. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary*

- Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 22(99), 75–79. DOI: 10.32718/nvlvet9912.
- Raghav, R., Taylor, M., Guincho, M., & Smith, D. (2011). Potassium chloride as a euthanasia agent in psittacine birds: Clinical aspects and consequences for histopathologic assessment. *Canadian Veterinary Journal*, 52(3), 303–306. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3039905>.
- Rogelberg, S. G., DiGiacomo, N., Reeve, C. L., Spitzmuller, C., Clark, O. L., Teeter, L., Walker, A. G., Carter, N. T., & Starling, P. G. (2007). What shelters can do about euthanasia-related stress: an examination of recommendations from those on the front line. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 10(4), 331–347. DOI: 10.1080/10888700701353865.
- Springer, S., & Grimm, H. (2018). Euthanasie als Thema der veterinärmedizinischen Ethik. *Veterinary Medicine Austria*, 105, 129–138. URL: https://www.wtm.at/smart_users/uni/user94/explorer/43/1812_fin.pdf.
- Springer, S., Hartnack, S., Weich, K., Moens, Y., & Grimm, H. (2013). Euthanasie in der Kleintierpraxis—Ergebnisse der TierärztlInnenbefragung. *Tierschutz*, 21.
- Tran, L., Crane, M. F., & Phillips, J. K. (2014). The Distinct Role of Performing Euthanasia on Depression and Suicide in Veterinarians. *Journal of Occupational Health Psychology*, 19(2), 123–132. DOI: 10.1037/a0035837.
- Turner, P. V., Hickman, D. L., Luijk, J., Ritskes-Hoitinga, M., Sargeant, J. M., Kurosawa, T. M., & Shimada, K. (2020). Welfare Impact of Carbon Dioxide Euthanasia on Laboratory Mice and Rats: A Systematic Review. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 411. DOI: 10.3389/fvets.2020.00411.
- Villalobos, A., & Kaplan, L. (2007). Canine and Feline Geriatric Oncology: Honoring the Human-Animal Bond. *Canadian Veterinary Journal*, 48(11), 1154. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2034422>.
- Vlasenko, V. M., Rublenko, S. V., & Yaremchuk, A. V. (2013). Problemy evtanaziyi tvaryn. *Naukovyy visnyk veterynarnoyi medytsyny*, 11, 33–37 (in Ukrainian).
- Yevropeys'ka konventsia pro zakhyst khrebetnykh tvaryn, shcho vykorystovuyut'sya dlya doslidnykh ta inshykh naukovykh tsiley vid 18 bereznia 1986 roku. Zbirka dohovoriv Rady Yevropy. Kyiv: Parlament's'ke vydavnytstvo, 2000. veb-sayt. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137 (in Ukrainian).
- Yevstafyeva, V. O., Kruchynenko, O. V., Klymenko, O. S., & Mel'nychuk, V. V. (2017). Yurydychni aspekty shchodo adaptatsiyi ukrayins'koho zakonodavstva do vymoh Yevropeys'koho Soyuzu z pytan' zhorstokoho povodzhennya z tvarynamy. *Visnyk PDDA*, 1–2, 104–107 (in Ukrainian).



**Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.**

Серія: Ветеринарні науки

**Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.**

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

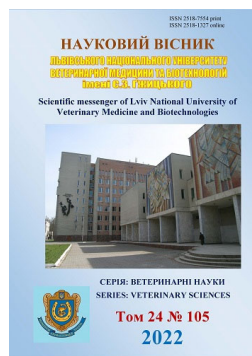
doi: 10.32718/nvlvet105

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

Зміст

1. Кухтин М. Д., Кожин В. А., Горюк В. В., Горюк Ю. В., Болтик Н. П. Оцінка дезінфікуючого засобу “Ензидез” за фізико-хімічними показниками	3
2. Щербатовська О., Прус Б., Данко М. Патоморфологічні зміни в собаки породи Німецький боксер за інвазії <i>Babesia canis</i> . Клінічний випадок	10
3. Сапко С. А. Вивчення ефективності препарату “МІКОСТОП” для місцевої терапії дерматомікозів у тварин .	18
4. Побережець Ю. М., Гутий Б. В., Яремчук О. С., Чудак Р. А., Фаріонік Т. В., Разанова О. П., Скоромна О. І. Ефективність впливу мінеральної добавки на продуктивність та гематологічні показники м'ясних перепелів	23
5. Коваленко В. Л., Чечет О. М., Гайдей О. С., Крушельницька О. В. Ефективність препарату на основі молочної кислоти за аерозольної дезінфекції у присутності птиці	30
6. Соколюк В. М., Духницький В. Б., Крупельницький Т. В., Лігоміна І. П., Ревунець А. С., Прус В. М. Вплив технологічних чинників на показники якості молока	37
7. Салата В. З., Кочетова Г. С. Дослідження вмісту 17 β -естрадіолу у молоці сирому протягом лактаційного періоду	44
8. Гунчак Ю. Р., Юськів І. Д., Гутий Б. В., Гунчак А. В., Парченко В. В. Паразитофауна фермерських благородних оленів (<i>Cervus elaphus</i>) у Західному Поліссі України.	50
9. Руденко О., Щербатовська О. Патоморфологічна діагностика панлейкопенії котів. Опис випадку	59
10. Прокопенко В. С. Морфологія надниркової залози голуба сизого (<i>Columba livia</i> L.)	67
11. Солтис М. П., Рудик Г. В., Брезвин О. М., Гунчак В. М., Гутий Б. В., Гунчак А. В., Васів Р. О. Антисептична активність препарату на основі натрію гіпохлориту за експериментальних та спонтанно інфікованих ран у тварин	73
12. Криворученко Д. О. Ефективність лікувальних заходів за дирофіляріозу собак	83
13. Горюк Ю. В. Терапевтична ефективність бактеріофагового препарату “Фагомаст” за клінічного маститу корів	89
14. Дуда Ю. В. Порівняння різних методів забарвлення нематоди <i>Strongyloides papillosus</i> виділеної від кролів	94
15. Бойко О. П., Куртяк Б. М., Сень О. М., Романович М. С., Собко Г. В., Пундяк Т. О., Бойко П. К. РА і РНГА – як імунологічні методи контролю антигенності вакцин проти сальмонельозу птиці	102

16. Вархоляк І. С., Гутий Б. В., Золотоцька О. Б., Горальський Л. П., Сокульський І. М., Халак В. І., Парченко В. В., Щербатий А. Р., Мартишук Т. В., Гута З. А. Експериментальна оцінка токсичності кардіологічного препарату на основі інгібітора фосфодіестерази-3 та етилметилгідроксипіридину сукцинату	109
17. Котелевич В. А., Волківський І. А., Пінський О. В., Мацейко Л. В., Давиденко Л. М., Столяренко О. В. Ветеринарно-санітарна оцінка харчових продуктів за показниками якості та безпеки у Житомирській області	120
18. Євстаф'єва В. О., Горб К. О., Мельничук В. В. Інсектицидна ефективність сучасних засобів за ктеноцефальозу собак	129
19. Коваленко С. О. Ефективність лікувальних заходів за хоріоптозу великої рогатої худоби	135
20. Ничипорук С. М., Радзиховський М. Л., Гутий Б. В. Огляд: евтаназія і способи евтаназії тварин	141



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet105
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

Content

1. **Kukhtyn M., Kozhyn V., Horiuk V., Horiuk Y., Boltyk N.**
Evaluation of disinfectant “Enzidez” according to physical and chemical parameters 3
2. **Shchebentovska O., Prus B., Danko M.**
Pathomorphological changes in German boxer dog infected with *Babesia canis* parasites. Clinical case 10
3. **Sapko S. A.**
Study of the efficacy of MYCOSTOP for local therapy of dermatomycosis in animals 18
4. **Poberezhets J. M., Gutij B. V., Yaremchuk O. S., Chudak R. A., Farionik T. V., Razanova O. P., Skoromna O. I.**
Effectiveness of mineral supplementon productivity and hematological parameters of meat quails ... 23
5. **Kovalenko V., Chechet O., Haidei O., Krushelnyska O.**
Efficiency of the disinfectant which based on lactic acid during aerosol disinfection in presence of the birds 30
6. **Sokoliuk V. M., Dukhnytsky V. B., Krupelnysky T. V., Ligomina I. P., Revunets A. S., Prus V. M.**
Influence of technological factors on milk quality indicators 37
7. **Salata V., Kochetova H.**
The Study of the 17 β -estradiol content in raw milk during the lactation period 44
8. **Hunchak Yu. R., Yuskiv I. D., Gutij B. V., Hunchak A. V., Parchenko V. V.**
Parasitofauna of farm red deer (*Cervus elaphus*) in Western Polissya of Ukraine 50
9. **Rudenko O., Shchebentovska O.**
Pathomorphological diagnostics of panleukopenia in cats (case description) 59
10. **Prokopenko V.**
Morphology of the adrenal gland blue rock pigeon (*Columba livia* L.) 67
11. **Soltys M. P., Rudyk H. V., Brezvyin O. M., Hunchak V. M., Gutij B. V., Hunchak A. V., Vasiv R. O.**
The antiseptic activity of the drug, based on sodium hypochlorite in experimental and spontaneously infected wounds in animals 73
12. **Kryvoruchenko D.**
The effectiveness of treatment for dirofilariasis in dogs 83
13. **Horiuk Y.**
Therapeutic efficacy of bacteriophage drug Fagomast in clinical mastitis of cows 89
14. **Duda Y. V.**
Comparison of different staining methods for the nematode *Strongyloides papillosus* isolated from rabbits 94
15. **Boiko O. P., Kurtyak B. M., Sen' O. M., Romanovych M. S., Sobko G. V., Pundyak T. O., Boiko P. K.**
Agglutination test and passive hemagglutination test as immunological methods of antigenicity assessment of vaccines against poultry salmonellosis 102
16. **Varkholiak I. S., Gutij B. V., Zolototska O. B., Goralskyi L. P., Sokulskyi I. M., Khalak V. I., Parchenko V. V., Shcherbatyy A. R., Martyschuk T. V., Guta Z. A.**
Experimental assessment of the toxicity of a cardiac drug based on a phosphodiesterase-3 inhibitor and ethylmethylhydroxypyridine succinate 109

17.	Kotelevych V. A., Volkivskyi I. A., Pinskyi O. V., Matseiko L. V., Davydenko L. M., Stoliarenko O. V.	
	Veterinary and sanitary assessment of food products on quality and safety indicators in Zhytomyr region	120
18.	Yevstafieva V., Horb K., Melnychuk V.	
	Insecticidal efficacy of modern remedies for ctenocephalidosis of dogs	129
19.	Kovalenko S.	
	Efficacy of therapeutic measures for chorioptosis of cattle	135
20.	Nichiporuk S., Radzykhovskiy M., Gutyj B.	
	Overview: eutanasia and methods of antanasia of animals	141

НАУКОВИЙ ВІСНИК
ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ВЕТЕРИНАРНОЇ
МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ
імені С.З. ГЖИЦЬКОГО
заснований у 1998 році

Scientific Messenger
of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

СЕРІЯ: ВЕТЕРИНАРНІ НАУКИ

SERIES: VETERINARY SCIENCES

Том 24 № 105

Підписано до друку 31.03.2022. Формат 60x84/8
Гарн. Times New Roman. Папір офсетний № 1. Ум. друк. арк. 17,97
Наклад 300 прим. Зам. № 31/03.

Друк ФОП Корпан Б.І.
Львівська обл., Пустомитівський р-н., с Давидів, вул. Чорновола 18
Ел. пошта: bkorpan@ukr.net, тел. 093-480-6141
Код ДРФО 1948318017, Свідоцтво про державну реєстрацію
В02 № 635667 від 13.09.2007