

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 № 106

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. ВІНЬЯРЧИК, док. габ. (Республіка Польща)

В. В. ВЛІЗЛО, д.вет.н. (Україна)

П. І. ГОЛОВАЧ, д.вет.н. (Україна)

Л. П. ГОРАЛЬСЬКИЙ, 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)

М. І. ЖИЛА, д.вет.н. (Україна)

Я. В. КІСЕРА, д.вет.н. (Україна)

І. І. КОВАЛЬЧУК, д.вет.н. (Україна)

Г. І. КОЦЬОМБАС, 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. СТЕФАНІК, д.вет.н. (Україна)

М. Р. СІМОНОВ, д.вет.н. (Україна)

І. М. СОКУЛЬСЬКИЙ, к.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 № 4 від 28.06.2022 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, bv@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)

L. HORALSKYI, 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)

M. ZHYLA, 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)

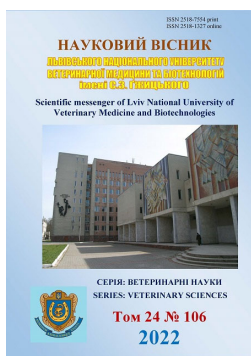
I. SOKULSKYI, Cand. Vet. Sci. (Ukraine)

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

Recommended by Academic Council of Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv (Minutes № 4 of 28.06.2022).

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, bv@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/nvlvet10601

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

UDC 616:616.993.1

Development of methods for prevention of cryptosporidiosis of calves

T. I. Fotina[✉], O. I. Shkromada, A. V. Berezovskyi, R. V. Petrov, H. A. Fotina, O. L. Nechyporenko, A. I. Fotin

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Article info

Received 08.03.2022

Received in revised form
11.04.2022

Accepted 12.04.2022

Sumy National
Agrarian University,
Gerasim Kondratiev Str., 160,
Sumy, 40000, Ukraine.
Tel.: +38-095-495-29-33
E-mail: tif_ua@meta.ua

Fotina, T. I., Shkromada, O. I., Berezovskyi, A. V., Petrov, R. V., Fotina, H. A., Nechyporenko, O. L., & Fotin, A. I. (2022). Development of methods for prevention of cryptosporidiosis of calves. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 3–9. doi: 10.32718/nvlvet10601

Cryptosporidiosis of calves, caused by the parasite *Cryptosporidium parvum*, is a dangerous disease for calves for up to one month. Sick animals suffer from debilitating diarrhea, intoxication, and dehydration, which can lead to death. Currently, effective preventive and curative measures have not been developed. Therefore, new strategies for preventing cryptosporidiosis in cattle are being sought. The study was conducted on the farm for raising young cattle in Holstein LTD agricultural firm "Lan" Sumy region in February 2021. The circulating microflora in the calf and the clinical condition of the animals were determined. The first experimental group of calves used the antimicrobial agent Trimeratinvet powder (water-soluble powder for oral administration). In the second experimental group, calves were fed the acidifier Kronocid L. As a control, healthy calves were used, which received a regular diet. Conducted a study of fecal masses of calves from birth to one month. The presence of *Cryptosporidium* spp. in fecal masses of calves was determined microscopically and by nested polymerase chain reaction. The count of microorganisms was performed after cultivation on elective media and determined the number of colony-forming units in CFU/cm³. The EXPERTISTM Rainbow diagnostic kit was used to diagnose Rotavirus and Coronavirus. Studies have shown that *Cryptosporidium* in calves under one month of age is the most common cause of diarrhea (42 %). Acidifier Kronocid L and Trimeratinvet inhibited the reproduction of cryptosporidia by stopping sporulation. Acidifier at a pH of 4.5 penetrated the oocyst's shell, causing cytoplasm compression. At 60 minutes of exposure, Kronocid L reduced the possibility of sporulation and destroyed 90 % of treated oocysts, which is 20 % more than the antimicrobial agent Trimeratinvet. In the experimental group using Trimeratinvet, the onset of chewing occurred later than eight days compared to the control group and with Kronocid L. Calves of the experimental groups had an average weight gain during the month with Trimeratinvet less by 20.8 % ($P \leq 0.05$), with Kronocid L – by 14.3 % compared to healthy. Prospects for further research are to determine the effect of Kronocid L and other species of *Cryptosporidium* in adult cattle.

Key words: *Cryptosporidium*, oocysts, cessation of sporulation, weight gain, calves.

Розробка методів профілактики криптоспоридіозу телят

Т. І. Фотіна[✉], О. І. Шкромада, А. В. Березовський, Р. В. Петров, Г. А. Фотіна, О. Л. Нечипоренко,
А. І. Фотін

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

Криптоспоридіоз телят, який викликаний паразитом *Cryptosporidium parvum* є небезпечним захворюванням телят до місяця. Хворі тварини страждають від виснажливої діареї, інтоксикації та зневоднення, що може привести до загибелі. Наразі ефективні профілактичні та лікувальні заходи не розроблені. Тому ведеться пошук нових стратегій щодо профілактики криптоспоридіозу великої рогатої худоби. Дослідження проводилось у господарстві з вирощування молодняку великої рогатої худоби породи голштин (ТОВ агрофірма "Лан" Сумської області) у лютому 2021 року. Визначали циркулюючу мікрофлору у телятнику та клінічний стан тварин. Першій дослідній групі телят застосовували протимікробний засіб Трімератінвет порошок (водорозчинний порошок для перорального застосування). У другій дослідній групі телятам випоювали підкислювач Кроносид L. В якості контролю використовували здорових телят, які отримували звичайний раціон. Проводили дослідженням фекальних мас

телят від народження до місяця. Наявність *Cryptosporidium* spp. в фекальних масах телят визначали мікроскопічно та за допомогою гніздової полімеразної ланцюгової реакції. Підрахунок мікроорганізмів проводили після культивування на елективних середовищах, визначали кількість колонієутворюючих одиниць в КУО/см³. Для діагностики *Rotavirus* та *Coronavirus* використовували діагностичний набір EXPERTIS TM Rainbow. Дослідженнями встановлено, що *Cryptosporidium* у телят віком до місяця є найбільш часто виявленим збудником діареї (42 %). Підкислювач Кроноцид L та Трімератінвет стримували розмноження криптоспоридій за рахунок припинення споруючості. Підкислювач в концентрації рН 4,5 проникає крізь оболонку ооцисти, викликає стискання цитоплазми. При експозиції 60 хвилин Кроноцид L зменшував можливість споруючості та знищував 90 % оброблених ооцист, що на 20 % більше порівняно з протимікробним засобом Трімератінвет. У дослідній групі, де використовували Трімератінвет, початок жуйки відбувся пізніше на вісім діб порівняно з контрольною групою та з Кроноцидом L. Телята дослідних груп мали середнє збільшення ваги протягом місяця з Трімератінветом менше на 20,8 % ($P \leq 0,05$), з Кроноцидом L – на 14,3 % порівняно зі здоровими. Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні впливу Кроноциду L на інші види криптоспоридій у великої рогатої худоби.

Ключові слова: *Cryptosporidium* spp., ооцисти, припинення споруючості, приріст ваги, жуйка, телята.

Вступ

Здоров'я телят і благополуччя тварин становлять інтерес для виробників, споживачів і лікарів (Falkenberg et al., 2022). Високі показники захворюваності та смертності призводять до величезних економічних втрат, суперечать добробуту тварин і безпечності харчових продуктів. Крім того, високі показники захворюваності пов'язані зі збільшенням використання антибіотиків і помітним зростанням резистентності до протимікробних препаратів (World Health Organization, 2014). Науковці (Tautenhahn et al., 2020) вважають, що виявлення факторів ризику високої смертності молочних телят і поганого росту сприятиме поліпшенню стратегій утримання, годівлі та управління на молочних підприємствах.

Виробники часто стикаються з хворобами шлунково-кишкового тракту в молодяку великої рогатої худоби, які займають друге місце після респіраторних захворювань і можуть бути причиною загибелі. (Govender et al., 2014). Захворювання шлунково-кишкового тракту пов'язані зі зміною мікрофлори (Rybachuk et al., 2020), причиною чого є порушення технології вирощування телят та невиправдане використання антибактеріальних препаратів.

Діарея телят є поширеною хворобою молодих тварин, яка все ще є основною причиною продуктивності та економічної втрати виробників великої рогатої худоби в усьому світі. Відомо, що низка патогенних мікроорганізмів викликають розвиток діареї у телят. Також навколишнє середовище і методи вирощування впливають на появу і розвиток захворювання. Комплексна природа діареї у телят ускладнює ефективну профілактику цього захворювання у великої рогатої худоби (Cho & Yoon, 2014).

Частою причиною діареї у телят є криптоспоридії, які належать до класу *Sporozoa*, підкласу *Coccidia*. Розвиток криптоспоридій відбувається в організмі одного господаря і завершується утворенням ооцист, які виділяються у зовнішнє середовище з фекальними масами. Телята уражуються ооцистами *Cryptosporidium* spp. фекально-оральним шляхом або безпосередньо через контакт з фекаліями інфікованих тварин. Також не виключений варіант ураження через забруднені їжу або воду (Cavalier-Smith, 2014). Більше 30 видів *Cryptosporidium* spp. на даний момент відомі. Генотип В ("бичачий тип") комплексу *C. Parvum* є основним ентеропатогеном у новонароджених телят (Holzhausen et al., 2019).

Криптоспоридіоз є поширеною паразитарною інвазією найпростіших, яка викликає діарею у новонароджених телят. Високе виділення ооцист сприяє спалаху криптоспоридіозу у телят. Були обстежені 58 ферм (512 телят) у Німеччині (Саксонія та Бранденбург) і загалом 88,9 % телят мали мікроскопічно позитивний результат на *Cryptosporidium* spp. (Avenidaño et al., 2018).

Ооцисти мають здатність довго зберігатись у навколишньому середовищі. Їх загибель можлива тільки під впливом прямого сонячного випромінювання. Дуже обмежена кількість дезінфікуючих засобів здатна знищувати ооцисти кокцидій (Shkromada & Nedzheria, 2020). Оскільки ооцисти *C. parvum* дуже важко знищити у навколишньому середовищі, то єдиним заходом контролю є зменшення забруднення тваринницьких приміщень. Також важливо проводити ретельне видалення фекальних мас та підстилки з місць отелення та очищення парною або гарячою водою і ефективним дезінфектантом (Petersen & Enemark, 2018). Після проковтування ооцисти *Cryptosporidium* spp. твариною у шлунково-кишковому тракті вивільняються чотири спорозоїти, які закріплюються у клубовій кишці. Після приєднання спорозоїти входять до складу паразитофорної вакуолі, утвореної мембраною господаря, але залишаються екстрацитоплазматичними. Вакуоль унікальна для *Cryptosporidium* spp. і присутня на всіх внутрішньоклітинних стадіях, діє як зв'язок між паразитом і організмом господаря. Вакуоль живлення дозволяє паразиту отримувати всі необхідні поживні речовини від господаря, залишаючись захищеним від імунної відповіді організму (Zambriski et al., 2013).

Лікування телят від криптоспоридіозу відбувається препаратами з групи хіназолінонів. Однак їх не можна використовувати виснаженим тваринам та з ознаками діареї, яка триває більше ніж 24 годин. Препарат рекомендовано задавати більше для профілактики, а не для лікування криптоспоридіозу. Крім того, препарат токсичний і має побічний ефект на мікробіоту шлунково-кишкового тракту телят. Лікування гаулуфугінону лактатом не повністю гарантує видужання, але може зменшити виділення ооцист і тривалість діареї (Trotz-Williams et al., 2011).

Також деякі антибіотики, такі як паромоміцин, показали ефективність проти виділення ооцист *Cryptosporidium* spp., клінічних захворювань і смертності у телят, ягнят і козенят, але ці сполуки не зареєстровані для використання у телят. Крім того, проведене порівняльне лікування мишей, заражених крип-

тоспоридіозом, показали практично однакову ефективність куркуміну та паромоміцину. Однак у тварин, де застосовували для лікування куркумін, концентрація малонового діальдегіду (MDA) в уражених тканинах була знижена, що вказує на відсутність токсичного впливу препарату, на відміну від антибіотика параміцину (Asadpour et al., 2018).

Досі не розроблені вакцини для запобігання захворюванню, а доступні варіанти лікування обмежені й часто покладаються на регідраційну терапію (Meganck et al., 2014). Тому ведуться пошуки альтернативних засобів для профілактики криптоспоридіозу. Невеликі концентрації кислот мають протимікробну та кокцидіостатичну дію.

Метою роботи було діагностувати криптоспоридіоз телят на ранніх стадіях захворювання та визначити ефективність профілактичних засобів.

Завдання дослідження:

1. Провести моніторинг збудників діареї у телят.
2. Визначити ефективність профілактичних засобів Трімератінвету та Кроноциду L за криптоспоридіозу телят.

Матеріал і методи досліджень

Досліди проводили у господарстві Сумської області з вирощування молодняку великої рогатої худоби породи голштин ТОВ агрофірма “Лан”. Дослідження у лютому 2021 року. В цей період контролювали циркулюючу мікрофлору у телятнику та клінічний стан тварин.

Для дослідження мікрофлори, яка циркулює у приміщеннях для утримання телят, застосовували бактеріальний метод і визначали склад мікроорганізмів та їх кількість. Як елективне середовище для бактерій кишкової групи *Escherichia* використовували агар Ендо на чашках Петрі; наявність та кількість *Staphylococcus aureus* – на жовточно-сольовому агарі Чистовича, наявність та кількість пліснявих грибів та дріжджів – на поживному агарі Сабуро. Наявність *Cryptosporidium* spp. в фекальних масах телят визначали мікроскопічно та за допомогою гніздової полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) (Thomson et al., 2016). Підрахунок мікроорганізмів проводили після культивування на елективних середовищах, визначали кількість колонієутворюючих одиниць в КУО/см³. Для діагностики коронавірусу та ротавірусу використовували діагностичний набір EXPERTIS TM Rainbow (MSD Animal Health, Великобританія).

Першій дослідній групі телят застосовували протимікробний засіб Трімератінвет® порошок (водорозчинний порошок для перорального застосування), який містить сульфадимидин – 100,0 мг; триметоприм – 20,0 мг, виробник ООО “Ветсинтез”, м. Харків, Україна. Препарат застосовували згідно з інструкцією. У другій дослідній групі 10 телятам випоювали підкислювач Кроноцид L, який містить: екстракт майорану хелат міді, заліза, марганцю та кислоти мурашину, ортофосфору, оцтову, бензойну. Для визначення дози до 1 літру води додавали поступово по 0,2 мл Кроноциду L та вимірювали pH, не менше

4,5. Як контроль використовували здорових телят, які отримували звичайний раціон.

Копроскопічні дослідження проводили у телят від народження до місяця. Визначали за допомогою мікроскопії рівень ураження ооцистами *Cryptosporidium* до та після терапії.

Діагноз на криптоспоридіоз встановлювали за результатами лабораторного дослідження екскрементів телят. У чашки Петрі поміщали 10–15 зразків ооцист *Cryptosporidium parvum*, додавали робочий розчин підкислювача або Трімератінвету. При цьому отримано 18 дослідних зразків з різними варіантами pH 4,5–5,0 та один контрольний з водою (табл. 1). Контрольними були чашки Петрі з ооцистами та 5 см³ дистильованої води. Припинення споруючої свідчило про ефективність препарату. Ооцисти відмивали від розчинів препаратів та ставили проби на споруючію. Мікроскопічно визначали в ооцистах морфологічні зміни – колір, форму, наявність полярної гранули, розмір (Dinler et al., 2017).

Для обробки результатів досліджень користувались програмою Microsoft Excel 2010, статистичний аналіз проводили методом Фішера-Стьюдента з урахування статистичних похибок та вірогідності показників більше 95 % ($P < 0,05$).

Результати та їх обговорення

Результати обстеження господарств з вирощування великої рогатої худоби за 2020–2021 роки показують, що криптоспоридіоз був основною причиною діареї у телят (рис. 1).

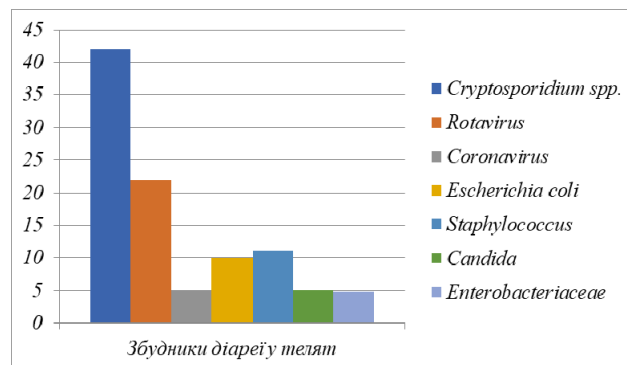


Рис. 1. Моніторинг мікроорганізмів, які викликають ентерит у телят

Виходячи з отриманих результатів, варто зазначити, що *Cryptosporidium* spp. у телят віком до 1 місяця найчастіше виявляли із збудником діареї (42 %) у дослідних господарствах Сумської області. Захворювання вірусної етіології складають *Rotavirus* 22 % та *Coronavirus* – 5 %. Хвороби бактеріальної природи із мікроскопічними грибами складають 31 %. Крім того, проблемою є відсутність специфічного лікування, тобто не розроблений досі засіб, який би безпосередньо руйнував криптоспоридії. Наразі у господарствах практикується застосування протимікробних засобів таких як Трімератінвет, Салінофор-ВС, Туріл 5 %, норсульфазол, Рейкокс, метронідазол, Ампролінвет. Ці засоби мають кокцидіостатичну дію. Вони

зменшують споруляцію ооцист криптоспоридій і таким чином не дають розмножуватись в організмі тварин, однак цьому немає офіційних підтверджень, зазначених в інструкції виробника. Тому були проведені дослідження ефективності препарату Трімератінвет та підкислювача Кронацид L на телят, у яких був діагностований криптоспоридіоз (рис. 2).

Згідно з інструкцією робочий розчин підкислювача Кронацид L при розведенні з водою не повинен мати Рн менше ніж 4,5, щоб не викликати опіків слизової оболонки шлунка та кишечника телят (табл. 1).

Таблиця 1

Ефективність дії засобів на ооцисти *Cryptosporidium parvum*

Засіб	Концентрація рН води	Час експозиції	% відсутність споруляції ооцист	% загибелі ооцист
Кронацид L	5,0	30 хв	50	-
		60 хв	70	-
	4,5	30 хв	75	15
		60 хв	50	35
Трімератінвет	1 г/л	30 хв	40	-
		60 хв	70	-

Кронацид L призводив до зменшення споруляції ооцист та загибелі ооцист *Cryptosporidium parvum*, на відміну від препарату Трімератінвет. Однак Трімератінвет у зазначеній концентрації призводив до припинення споруляції в ооцистах.

Дослідження (Ezzaty Mirhashemi et al., 2015) вказують на труднощі в роботі з невеликою кількістю ооцист або криптоспоридіальної ДНК під час роботи зі зразками, отриманими з навколишнього середовища або фекалій. Таким чином, використання одразу декількох методів дослідження для діагностики криптоспоридіозу залишається важливою проблемою для подальших епідеміологічних досліджень. Тому в роботі використовували мікроскопічний метод дослідження, оскільки визначали криптоспоридіоз на ранніх стадіях захворювання. Виявляли невелику кількість ооцист *Cryptosporidium* spp. (Graef et al., 2018), а телята не мали характерних клінічних ознак захворювання, таких як діарея, виснаження, дегідратація і т. п. Велику рогату худобу здатні уражувати чотири види криптоспоридій: *C. andersoni*, *C. parvum*, *C. ryanae* і *C. bovis*. Телят до місяця уражають лише *C. parvum* (рис. 2) з характерними симптомами (Fayer et al., 2008).



Рис. 2. Ооциста *Cryptosporidium parvum* в нормі

У старших тварин захворювання відбувається безсимптомно з виділенням ооцист.

Підкислювач в концентрації рН 4,5 проникав крізь оболонку ооцисти, викликав стискання цитоплазми (рис. 3). Крім того, при експозиції 60 хвилин Кронацид L зменшував можливість споруляції та знищував 90 % оброблених ооцист, що на 20 % більше порівняно з протимікробним засобом Трімератінвет.

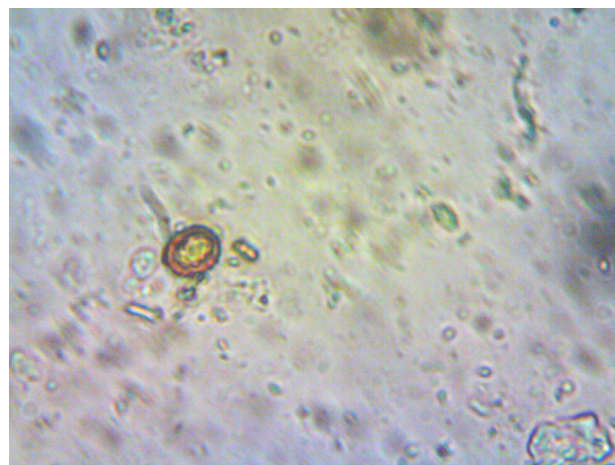


Рис. 3. Результат обробки ооцисти *Cryptosporidium parvum* Кронацид L, стискання цитоплазми

Руйнування ооцисти криптоспоридій є дуже складним завданням через її будову та хімічний склад. Стінка ооцисти є міцною структурою, стійкою до різних впливів навколишнього середовища та хімічних впливів. Ця стійкість дозволяє ооцистам виживати протягом тривалих періодів. Стінка є двошаровою і утворена послідовним виділенням вмісту двох спеціалізованих органел. Стінка ооцисти містить понад 90 % білка, але деякі з цих білків були вивчені. Одна група багата на цистеїн, і можна припустити, що вона зшивається через дисульфідні містки. Інша група білків стінки багата на тирозин. Ці шиті дитирозином білки можуть забезпечувати структурний матрикс для складання стінки ооцисти та сприяти її пружності (Bones et al., 2019).

Жоден із запропонованих засобів (Трімератінвет та Кронацид L) не є специфічним для профілактики криптоспоридіозу. Однак виходячи з роботи (Kváč et al., 2014), одним з факторів є стан мікрофлори та слизової оболонки кишечника, яка може впливати на здатність паразита інфікувати кишечник. Тому ми припустили, що використання протимікробного засобу “Трімератінвет” знищує патогенну мікрофлору кишечника та припиняє споруляцію в ооцистах криптоспоридій, справляє загалом позитивний терапевтичний ефект (табл. 2).

Таблиця 2

Результати приросту живої маси телят ($M \pm m$, $n = 10$)

Групи телят	Середня вага телят						Поява жуйки, діб
	при народженні (кг)	14 діб (кг)	Середньодобовий приріст, кг	30 діб (кг)	Середньодобовий приріст, кг	Середнє збільшення ваги від народження до місяця (кг)	
Трімератінвет	42,5 $\pm$ 0,56	47,8 $\pm$ 0,34	0,38 $\pm$ 0,32	55,8 $\pm$ 0,29	0,50 $\pm$ 0,46	13,3 $\pm$ 0,08*	28,6 $\pm$ 0,35*
Кронацид L	42,8 $\pm$ 0,45	48,4 $\pm$ 0,87	0,40 $\pm$ 0,40	57,2 $\pm$ 0,37	0,55 $\pm$ 0,24	14,4 $\pm$ 0,13	20,0 $\pm$ 0,23
Контроль (здорові)	42,7 $\pm$ 0,27	51,1 $\pm$ 0,61	0,6 $\pm$ 0,33	59,5 $\pm$ 0,29	0,6 $\pm$ 0,35	16,8 $\pm$ 0,12	20,5 $\pm$ 0,40

Примітка: * – $P \leq 0,05$ порівняно з контролем

Результати досліджень показують, що телята, хворі на криптоспоридіоз, відставали від здорових у середньодобовому прирості. Однак на кінець місяця телята мали достатню вагу для переведення в наступну виробничу групу – відлучення. Таким чином, використання при криптоспоридіозі телят протимікробного засобу або підкислювача дає позитивний терапевтичний ефект. Значним недоліком у застосуванні протимікробного засобу є накопичення в організмі телят антибіотика, виділення його з сечею та фекаліями у навколишнє середовище. Крім того, виникає така проблема, як антибіотикорезистентність мікроорганізмів, тому в подальшому телята можуть мати проблеми з резистентністю та чутливістю до протимікробних засобів. Підкислювач “Кронацид L” проявив достатній профілактичний ефект для припинення розмноження криптоспоридій за рахунок припинення споруляції. Також підкислювач не впливав на процеси формування природної мікробіоти шлунково-кишкового тракту телят, що є дуже важливим для даного періоду життя тварин. Дослідження (Vélez et al., 2019) показали, що продукти дріжджового бродіння також мали позитивний ефект при лікуванні криптоспоридіозу телят, що вказує на важливість підтримки мікрофлори шлунково-кишкового тракту.

В період проведення експерименту було встановлено, що у телят контрольної групи та з випоюванням підкислювача “Кронацид L” перша жуйка з'явилась практично одночасно на 20 добу (Aschenbach et al., 2019).

У групі тварин, де застосовували Трімератінвет, жуйка з'явилась на 8 діб пізніше порівняно з контрольною групою ($P \leq 0,05$). Можна припустити, що протимікробні засоби мають негативний ефект на формування мікрофлори рубця та його роботу у телят до місяця (Thomas et al., 2017; Arshad et al., 2021).

Телята, які отримували Трімератінвет, мали середнє збільшення ваги протягом місяця на 20,8 % менше порівняно зі здоровими ($P \leq 0,05$). Кронацид L має здатність знищувати ооцисти та припиняти споруляцію. Телятам від народження задавали обидва препарати згідно з терапевтичними групами. При цьому контролювали кількість ооцист *Cryptosporidium* spp. у фекаліях, приріст ваги та клінічний стан. У групі телят, де застосовували Кронацид L, середнє збільшення ваги протягом місяця було на 14,3 % менше від здорових телят.

Зважаючи на отримані результати, стає зрозуміло, що використання підкислювача для профілактики криптоспоридіозу телят є безпечним та має позитивний вплив на розвиток рубця і приріст ваги.

Висновки

1. Результати досліджень доводять, що *Cryptosporidium* у телят віком до місяця є найбільш часто виявленим збудником діареї (42 %) у дослідних господарствах.

2. Експериментально встановлено, що підкислювач Кронацид L та Трімератінвет припиняли розмноження криптоспоридій за рахунок припинення споруляції. Також Кронацид L призводив до загибелі ооцист *Cryptosporidium parvum*.

3. Отримані дані реєстрації першої жуйки у телят доводять, що у групі, де використовували Трімератінвет, початок відбувся пізніше на вісім діб порівняно з контрольною групою та з підкислювачем Кронацид L. Телята дослідних груп мали середнє збільшення ваги протягом місяця з Трімератінветом менше на 20,8 % ($P \leq 0,05$), з Кронацидом L – на 14,3 % порівняно зі здоровими.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні впливу Кронацид L на інші види криптоспоридій у дорослої великої рогатої худоби.

Відомості про конфлікт інтересів

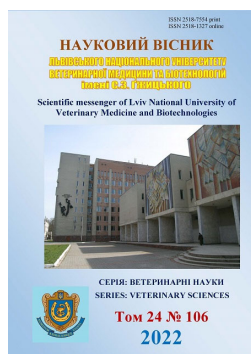
Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

Arshad, M. A., Hassan, F. U., Rehman, M. S., Huws, S. A., Cheng, Y., & Din, A. U. (2021). Gut microbiome

- colonization and development in neonatal ruminants: Strategies, prospects, and opportunities. *Animal nutrition (Zhongguo xu mu shou yi xue hui)*, 7(3), 883–895. DOI: 10.1016/j.aninu.2021.03.004.
- Asadpour, M., Namazi, F., Razavi, S. M., & Nazifi, S. (2018). Comparative efficacy of curcumin and paromomycin against *Cryptosporidium parvum* infection in a BALB/c model. *Veterinary parasitology*, 250, 7–14. DOI: 10.1016/j.vetpar.2017.12.008.
- Aschenbach, J. R., Zebeli, Q., Patra, A. K., Greco, G., Amasheh, S., & Penner, G. B. (2019). Symposium review: The importance of the ruminal epithelial barrier for a healthy and productive cow. *J Dairy Sci*, 102(2), 1866–1882. DOI: 10.3168/jds.2018-15243.
- Avendaño, C., Ramo, A., Vergara-Castiblanco, C., Sánchez-Acedo, C., & Quílez, J. (2018). Genetic uniqueness of *Cryptosporidium parvum* from dairy calves in Colombia. *Parasitology research*, 117(5), 1317–1323. DOI: 10.1007/s00436-018-5818-6.
- Bones, A. J., Jossé, L., More, C., Miller, C. N., Michaelis, M., & Tsaousis, A. D. (2019). Past and future trends of *Cryptosporidium* in vitro research. *Experimental parasitology*, 196, 28–37. DOI: 10.1016/j.exppara.2018.12.001.
- Cavalier-Smith, T. (2014). Gregarine site-heterogeneous 18S rDNA trees, revision of gregarine higher classification, and the evolutionary diversification of Sporozoa. *European journal of protistology*, 50(5), 472–495. DOI: 10.1016/j.ejop.2014.07.002.
- Cho, Y. I., & Yoon, K. J. (2014). An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of veterinary science*, 15(1), 1–17. DOI: 10.4142/jvs.2014.15.1.1.
- Dinler, C., Ulutas, B., Dinler, C., & Ulutas, B. (2017). Cryptosporidiosis in ruminants: update and current therapeutic approaches. *Am. J. Anim. Vet. Sci*, 12(3), 96–103. DOI: 10.3844/ajavsp.2017.96.103.
- Ezzaty Mirhashemi, M., Zintl, A., Grant, T., Lucy, F. E., Mulcahy, G., & De Waal, T. (2015). Comparison of diagnostic techniques for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in animal samples. *Experimental parasitology*, 151-152, 14–20. DOI: 10.1016/j.exppara.2015.01.018.
- Falkenberg, U., Krömker, V., Konow, M., Flor, J., Sanftleben, P., & Losand, B. (2022). Management of calves in commercial dairy farms in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany and its impact on calf mortality and prevalence of rotavirus and *Cryptosporidium parvum* infections in pre-weaned calves. *Veterinary and Animal Science*, 16, 100243. DOI: 10.1016/j.vas.2022.100243.
- Fayer, R., Santín, M., & Trout, J. M. (2008). *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Veterinary parasitology*, 156(3-4), 191–198. DOI: 10.1016/j.vetpar.2008.05.024.
- Govender, M., Choonara, Y. E., Kumar, P., du Toit, L. C., van Vuuren, S., & Pillay, V. (2014). A review of the advancements in probiotic delivery: Conventional vs. non-conventional formulations for intestinal flora supplementation. *AAPS PharmSciTech*, 15(1), 29–43. DOI: 10.1208/s12249-013-0027-1.
- Graef, G., Hurst, N. J., Kidder, L., Sy, T. L., Goodman, L. B., Preston, W. D., Arnold, S., & Zambriski, J. A. (2018). Impact of confinement housing on study endpoints in the calf model of cryptosporidiosis. *PLoS neglected tropical diseases*, 12(4), e0006295. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006295.
- Holzhausen, I., Lendner, M., Göhring, F., Steinhöfel, I., & Dauschies, A. (2019). Distribution of *Cryptosporidium parvum* gp60 subtypes in calf herds of Saxony, Germany. *Parasitology research*, 118(5), 1549–1558. DOI: 10.1007/s00436-019-06266-1.
- Kváč, M., Němejc, K., Kestřánová, M., Květoňová, D., Wagnerová, P., Kotková, M., Rost, M., Samková, E., McEvoy, J., & Sak, B. (2014). Age related susceptibility of pigs to *Cryptosporidium scrofarum* infection. *Veterinary parasitology*, 202(3-4), 330–334. DOI: 10.1016/j.vetpar.2014.02.012.
- Meganck, V., Hoflack, G., & Opsomer, G. (2014). Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. *Acta veterinaria Scandinavica*, 56(1), 75. DOI: 10.1186/s13028-014-0075-x.
- Petersen, H. H., & Enemark, H. L. (2018). Viability Assessment of *Cryptosporidium parvum* Oocysts by Vital Dyes: Dry Mounts Overestimate the Number of “Ghost” Oocysts. *Foodborne pathogens and disease*, 15(3), 141–144. DOI: 10.1089/fpd.2017.2348.
- Rybachuk, Z., Shkromada, O., Predko, A., & Dudchenko, Y. (2020). Influence of probiotics “Immunobacterin-D” on biocenoses and development of the gastrointestinal tract of calves. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(98), 22–27. DOI: 10.32718/nvlvet9804.
- Shkromada, O., & Nedzheria, T. (2020). Intensity of invasion in emeriosis of rabbits in different methods of keeping. *Eureka: Health Sciences*, 5, 107–114. DOI: 10.21303/2504-5679.2020.001419.
- Tautenhahn, A., Merle, R., & Müller, K. E. (2020). Factors associated with calf mortality and poor growth of dairy heifer calves in northeast Germany. *Preventive veterinary medicine*, 184, 105154. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2020.105154.
- Thomas, M., Webb, M., Ghimire, S., Blair, A., Olson, K., Fenske, G. J., Fonder, A. T., Christopher-Hennings, J., Brake, D., & Scaria, J. (2017). Metagenomic characterization of the effect of feed additives on the gut microbiome and antibiotic resistance of feedlot cattle. *Scientific reports*, 7(1), 12257. DOI: 10.1038/s41598-017-12481-6.
- Thomson, S., Innes, E. A., Jonsson, N. N., & Katzer, F. (2016). A multiplex PCR test to identify four common cattle-adapted *Cryptosporidium* species. *Parasitology Open*, 2, E5. DOI: 10.1017/pao.2016.2.
- Trotz-Williams, L. A., Jarvie, B. D., Peregrine, A. S., Duffield, T. F., & Leslie, K. E. (2011). Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in dairy calves. *The Veterinary record*, 168(19), 509. DOI: 10.1136/vr.d1492.
- Vélez, J., Lange, M. K., Zieger, P., Yoon, I., Failing, K., & Bauer, C. (2019). Long-term use of yeast fermentation products in comparison to halofuginone for the control of cryptosporidiosis in neonatal calves.

- Veterinary parasitology, 269, 57–64. DOI: 10.1016/j.vetpar.2019.04.008.
- World Health Organization. (2014). Antimicrobial resistance global report on surveillance: 2014 summary (No. WHO/HSE/PED/AIP/2014.2). World Health Organization. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112647/WHO_HSE_PED_AIP_?sequence=1.
- Zambriski, J. A., Nydam, D. V., Wilcox, Z. J., Bowman, D. D., Mohammed, H. O., & Liotta, J. L. (2013). *Cryptosporidium parvum*: determination of ID₅₀ and the dose-response relationship in experimentally challenged dairy calves. *Veterinary parasitology*, 197(1-2), 104–112. DOI: 10.1016/j.vetpar.2013.04.022.



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/nvlvet10602

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

UDC 636.09:616.9-036/.995.132.8

Trichinosis in Ukraine – epizootological situation, prevention and control (2015–2020)

L. P. Artemenko¹, L. M. Soloviova¹, I. P. Selykh², I. P. Ligomina³, V. M. Sokoliuk³✉

¹ Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

²Separate structural subdivision “Technological and Economic Professional College of Bila Tserkv, National Agrarian University”, Bila Tserkva, Ukraine

³Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

Article info

Received 11.03.2022

Received in revised form

12.04.2022

Accepted 13.04.2022

Bila Tserkva National Agrarian
University, Pl. Soborna 8/1,
Bila Tserkva, Kyiv region,
09117, Ukraine.

Separate structural subdivision
“Technological and Economic
Professional College of Bila
Tserkv, National Agrarian
University”, Yaroslava Mudroho
Str., 21/2, Bila Tserkva, Kyiv
region, 09117, Ukraine.

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

Artemenko, L. P., Soloviova, L. M., Selykh, I. P., Ligomina, I. P., & Sokoliuk, V. M. (2022). Trichinosis in Ukraine – epizootological situation, prevention and control (2015–2020). Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 10–17. doi: 10.32718/nvlvet10602

The work is devoted to analyzing literary sources and the results of public research on epizootology, epidemiology, and approaches to the fight against trichinosis – one of the most unsafe helminthiasis in animals and people. In the statistics, the primary nutrition is comprehensive, the path and the sources of invasion, the dynamics of infection of pigs and other creatures, now look at the circulation of *Trichinella* in nature and the biocenosis associated with humans, as well as the main directions of preventive entry. We conducted a study on the monitoring of trichinosis infestation. We found that the territory of Ukraine has a stationary unfavorable incidence of trichinosis in pigs, and the most significant number of pig carcasses infected with larvae – 76.5 % were registered in Mykolaivoblast. Z'iasovanie natural causes of trichinosis, as revealed in the Transcarpathian, Mykolaiv, and Kharkiv regions. The dominating significance of the circulation of the bug is given to the invasion of the environment of the wild fauna lies the red fox. At the same time, there is an important creature in the circulation of the census between the synanthropic and natural centers. With laboratory studies of carcasses of creatures infected with *Trichinella* larvae, it is possible to show a significant advantage to the method of over-etching of muscles in piece stomach juice is equal to compressor trichineloscopy. These methods objectively characterize the intensity of invasion in skin creatures and show their role in the circulation of trichinosis. Due to the support of the European legislation, the first leaders are to introduce into the practice of veterinary medicine in Ukraine new methods for post-life and prosperous diagnosis of trichinosis. The system for the complex of entry into the prevention and elimination of trichinosis of creatures is guilty of including preventive measures and the prevention of endemic middle infections.

Key words: trichinosis, helminthiasis, zoonosis, Ukraine, pigs, diagnostics, prevention.

Трихінельоз в Україні – епізоотологічна ситуація, профілактика та заходи боротьби (2015 – 2020)

Л. П. Артеменко¹, Л. М. Соловйова¹, І. П. Селих², І. П. Лігоміна³, В. М. Соколюк³✉

¹ Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна

² Відокремлений структурний підрозділ “Технологічно-економічний фаховий коледж Білоцерківського національного аграрного університету”, м. Біла Церква, Україна

³ Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

Робота присвячена аналізу літературних джерел та результатів власних досліджень з питань епізоотології, епідеміології та заходів боротьби з трихінельозом – одним із найбільш небезпечних гельмінтозів тварин і людей. У статті висвітлені основні

питання поширення, шляхи та джерела інвазії, динаміки зараження свиней та інших тварин, сучасні погляди на циркуляцію трихінел в природі та біоценозі, пов'язаному з людиною, а також основні напрямки профілактичних заходів. Проведені нами дослідження щодо моніторингу трихінельозної інвазії засвідчили, що територія України є стаціонарно неблагополучною щодо трихінельозу свиней і найбільшу кількість інвазованих личинками туш свиней – 76,5 % були зареєстровані в Миколаївській області. З'ясовані природні осередки трихінельозу, які виявлені в Закарпатській, Миколаївській та Харківській областях. Домінуюче значення у циркуляції збудника даної інвазії серед дикої фауни належить червоній лисиці. В той же час вона є важливою твариною в ланцюзі циркуляції цього збудника між синантропним та природним осередками. При лабораторному дослідженні тушок тварин уражених личинками трихінел можна відзначити значну перевагу методу перетравлення м'язів у штучному шлунковому соку порівняно з компресорною трихінелоскопією. Вказані методи об'єктивно характеризують інтенсивність інвазії у кожної тварини та показують їх роль у циркуляції збудника трихінельозу. Зважаючи на вимоги європейського законодавства першочерговим завданням є впровадження в практику ветеринарної медицини України нових методів післязайної та життєвої діагностики трихінельозу. Система комплексу заходів з профілактики і ліквідації трихінельозу тварин, повинна включати превентивні дії щодо формування та підтримання ендемічних осередків інвазії.

Ключові слова: трихінельоз, гельмінтоз, зооноз, Україна, свині, діагностика, профілактика.

Вступ

Трихінельоз це гельмінтозна хвороба тварин і людей, яка становить небезпеку для здоров'я населення і є економічною проблемою у виробництві свинини та безпеці харчових продуктів. Саме через зоонозну важливість інвазії, основні зусилля вчених багатьох країн зосереджені на розробці заходів по боротьбі з трихінелами, або їх елімінації з харчового ланцюга людини (Bai et al., 2017; Diaz et al., 2020).

Сприйнятливі до трихінельозу всі види ссавців, рептилії, птахи, хворіють також і люди. Збудники цього нематодозу циркулюють серед домашніх та диких тварин і спричиняють виникнення ендемічних з трихінельозу зон. Основними чинниками у передачі трихінельозу людини є уражена личинками трихінел свинина. В той же час значну роль, під час спалахів хвороби у Європі за останні три десятиліття, відіграло споживання населенням м'яса коней та диких кабанів. Гельмінтоз викликається при споживанні в їжу сирого, або недостатньо обробленого м'яса ураженого личинками трихінел.

Автори повідомляють про більше десяти тисяч випадків захворювання людей на трихінельоз щорічно, летальність від цього захворювання у світі становить 0,2 %. Хвороба також завдає шкоди тваринницьким господарствам (організація протиепідемічних заходів, утилізація інвазованих туш, уражених личинками трихінел, захворювання людей, зниження їх працездатності, інвалідність тощо) (Caplinskas et al., 2018; Akimov & Didyk, 2020; Antolová et al., 2020).

Отже, економічні збитки тваринництву, спонукають вчених до вивчення різнобічних аспектів проблеми трихінельозної інвазії та впровадження науково обґрунтованих превентивних заходів боротьби з цією патологією.

Епізоотологія збудників трихінельозу тісно пов'язана з їх біологією. На відміну від інших нематод, народження личинок трихінел та порівняно невисока плодючість самок є слабкими сторонами біології збудника, але вони компенсуються іншими властивостями. Наприклад, повна відсутність вільно живучої стадії паразита в зовнішньому середовищі, робить його незалежним від природно-кліматичних умов і дозволяє поширювати свій ареал в будь-якій географічній зоні, де живуть сприйнятливі до трихінельозу тварини (Didyk, 2006; Gottstein et al., 2009; Diaz et al., 2020).

Саме тому метою проведених досліджень є удосконалення методів діагностики та заходів боротьби з трихінельозною інвазією та впровадження їх у практику ветеринарної медицини.

Матеріал і методи досліджень

Наукова робота на тему: “Удосконалення та впровадження в практику ветеринарної медицини комплексної програми боротьби з трихінельозом” була розпочата співробітниками кафедри паразитології і фармакології факультету ветеринарної медицини Білоцерківського національного аграрного університету в 2015 році. Спочатку вона була частиною державної бюджетної тематики, пізніше в 2017–2021 роках виконувалася як ініціативна тема. Протягом цього періоду був проведений моніторинг рівня трихінельозної інвазії у природних та синантропних осередках різних регіонів України.

Вихідним матеріалом для проведення роботи був аналіз статистичних даних щодо виявлення інвазованих туш свиней, м'ясоїдних, кабанів, синантропних та диких тварин у лабораторіях ветеринарно-санітарної експертизи ринків, міжрегіональних та лабораторії кафедри паразитології і фармакології факультету ветеринарної медицини.

Дослідження на трихінельоз проводили згідно з “Правилами передзайного ветеринарного огляду тварин і ветеринарно-санітарної експертизи м'яса і м'ясопродуктів” (2002 р.) та “Інструкцією з діагностики, профілактики та ліквідації трихінельозу тварин” (2007 р.). За вказаний період нами було проведено дослідження заморожених м'язів трупів 9 червоних лисиць, 11 мишей, 7 собак, кабана і борсука.

Від кожної тварини відбирали дві проби м'язів за такими вимогами: від туш кабанів – м'язи ніжок діафрагми, язика та передпліччя; борсуків – ніжок діафрагми; лисиць – м'язів кінцівок на переході їх у сухожилля; собак – м'язи кінцівок, язика; мишей – м'язів кінцівок. Для проведення трихінелоскопії із кожного відібраного зразка робили по 24 зрізи, розміром з вівсяне зерно (всього 48 зрізів). У разі вапняного переродження капсул трихінел, проби м'язів піддавали декальцинації в 5–10 розчину хлористоводневої кислоти протягом двох годин. Потім зрізи просвітлювали, додаючи краплями гліцерин. Зразки досліджували за допомогою світлового мікроскопа під малим збільшенням (8 × 10).

Паралельно зразки м'язів перетравлювали у штучному шлунковому соку.

Суть цього методу у різних його варіантах полягає в тому, що подрібнені зразки м'язової тканини перетравлюють у колбі з штучним шлунковим соком, який містить 1 % ферменту пепсину та 1% хлороводневої кислоти. Його готували безпосередньо перед дослідженням, використовуючи стандартний набір реактивів для ідентифікації личинок *Trichinella spiralis*. Процес пепсинізації відбувався за температури 44–46 °C з постійним помішуванням суспензії м'язів протягом 30 хвилин. Після закінчення перетравлення отримували осад, який досліджували під малим збільшенням (8 × 10) мікроскопа. У позитивних пробах знаходили декапсульовані личинки трихінел, при цьому звертали увагу на морфологію збудника і будову капсули.

Результати та їх обговорення

Відомо, що для циркуляції трихінел в природних умовах необхідна наявність складних аліментарних зв'язків багатьох видів сприйнятливих тварин, в тому числі хижаків і всьєдних. У біоценозі людини можуть виникати інші шляхи поширення трихінельозу. У результаті активної господарської діяльності людина може сприяти зараженню домашніх тварин (свиней, м'ясоїдних, хутрових звірів та інших), згодовуючи їм заражені м'ясні відходи, тушки дичини та домашніх тварин (Gottstein et al., 2009; Mendes et al., 2017; Ceballos et al., 2019; Cavallero et al., 2021).

В Україні трихінельоз почали вивчати у другій половині XIX століття у м. Харкові під керівництвом професора В.П. Крилова, дослідження проводили на свинях і щурах. Пізніше, у 20–30-х роках з'явилися повідомлення вчених про значне поширення трихінельозу серед свиней. Було зазначено, що більш високий рівень інвазії реєстрували у західних та південних регіонах нашої країни (Bulhakov, 1972).

Вивчаючи питання епізоотології трихінельозу в Україні, Артеменко Ю. Г. (Artemenko, 1979) підкреслював про наявність вогнищевої інвазії серед свиней у Хмельницькій, Вінницькій та Одеській областях. Автором з'ясовано, що в Україні існують різні за характеристикою осередки трихінельозної інвазії – природний та синантропний. Вони можуть формуватися незалежно один від одного, і автономно підтримувати захворювання в різних видів тварин. У наукових працях висвітлена роль синантропних тварин, які у деяких місцевостях мігрують навесні за межі населених пунктів, а восени повертаються. Така природна особливість синантропних гризунів сприяє зараженню домашніх, синантропних, диких тварин і людини (Subbotin & Yatuselych, 2009).

Науковці (Shevelytska & Partoieva, 2016), провівши дослідження у Вінницькій, Хмельницькій, Чернігівській областях в ендемічних осередках трихінельозу виявили, що шурі були уражені на 0,7 %, а мишовидні гризуни – 2,1 %. В той же час у відстріляних диких тварин (вовків та лисиць) інвазія личинками трихінел складала 57 % і 11 %, відповідно.

Бессонов А. С. (Bessonov, 1970) підкреслював, що не можна відводити важливу роль у поширенні трихінельозу виключно одному виду тварин. Наприклад, поруч зі свинею, яка відіграє важливе значення в епізоотологічному процесі за трихінельозу, не можна виключати щура, зважаючи його “мандрівний” спосіб життя, але не варто і переоцінювати його значення. Також необхідно враховувати роль собак, котів, ведмедів, лисиць, вовків та інших видів тварин в поширенні цієї інвазії.

Ендемічні осередки трихінельозу виявлені у Волинській, Черкаській, Донецькій, Житомирській, Рівненській, Київській, Закарпатській областях (Kravchuk, 2015). Стосовно Закарпатського регіону, де були проведені більш глибокі дослідження, встановлено, що ураження лисиць становить 13,4 %, вовків – 25,0, кабанів – 7,1, безпритульних собак – 2,3, котів – 20,0, сірих шурів – 2,2 % (Yuskiv & Kozak, 2003).

У Західному Поділлі інвазованість трихінельозом вовків складала – 22,2 %, лисиць – 9,2, лісових куніць – 3,85, тхорів – 2,3, 1,1 – собак, 4,4 – домашніх котів, 5,2 – сірих шурів та 1,1 % трупів людей.

Спостереження багатьох дослідників засвідчують, що у неблагополучних з трихінельозу регіонах провідна роль належить своєму конкретному джерелу і чиннику передачі інвазії. В районах, неблагополучних з трихінельозу свиней, відходи м'ясокомбінатів і боєнь, м'ясні залишки подвірного забою свиней, а також відходи їдалень, кафе, ресторанів є важливим джерелом поширення трихінельозу серед свиней, домашніх тварин і гризунів. Так, практика згодовування свиням не знешкоджених м'ясних відходів, яка описана в Сполучених Штатах Америки в 40–60-х роках минулого століття, призводила до масового зараження свинопоголів'я. Деякі з американських дослідників назвали трихінелу “garbage worm” – “черв'як міських відходів” (Bessonov, 1970).

Цей шлях поширення трихінельозної інвазії описаний дослідниками та підтверджений ефективністю виконання законів щодо обов'язкового проварювання відходів перед згодовуванням тваринам (Pyburn et al., 2005).

Про роль заражених відходів м'ясокомбінатів, забійних пунктів, боєнь у розповсюдженні захворювання відомо із матеріалів вітчизняної та зарубіжної наукової літератури. Так, Артеменко Ю. Г. (Artemenko & Artemenko, 2000) підкреслював, що субпродукти (вуха, хвости, суглоби кінцівок та ін.), які уражені личинками трихінел, при подальшому поступленні в реалізацію, призводять до виникнення нових захворювань серед тварин та людей. Ураження тварин із звірогосподарств трихінельозною інвазією відбувається в основному через згодовування відходів м'ясокомбінатів.

Мисливські промисли сприяють взаємозв'язку природного та синантропного осередків трихінельозної інвазії. Це відбувається при полюванні, дичина потрапляє у населені пункти, яка уражена личинками трихінел. Автор отримав дані щодо виживання та тривалої інвазійності личинок капсульних трихінел у мездрі шкур червоної лисиці. Це свідчить про те, що мездра та підшкірні м'язи можуть бути джерелом і

фактором передачі збудника трихінельозу у синантропному біоценозі.

У звірогосподарствах часто використовують тушки для годівлі домашніх свиней і курей. За таких обставин виникають неблагополучні щодо трихінельозу населені пункти, що сприяють поширенню інвазії. Такі випадки описані Артеменком Ю. Г. (Artemenko & Artemenko, 2000) в Літинському районі Вінницької області. Автором зазначається, що свині з підсобного підприємства на 90 % були уражені трихінельозною інвазією внаслідок згодовування забитих тушок норок, вирощених у звірогосподарстві.

Дані щодо виявлення трихінельозу свиней за сезонами року не дають відповіді на питання, коли відбулося зараження, в якому віці тварини і що було джерелом ураження. Класичні методи гелмінтоовоскопії та ларвоскопії неможливо використати для вивчення динаміки ураження свиней трихінельозом. Єдиний можливий шлях – це врахування морфологічних змін личинок і капсул трихінел у м'язах, за якими можливо визначити їх вік. Якщо при цьому відомий вік ураженої тварини і дата забою, то нескладно визначити, звичайно приблизно, дату зараження. Використання цієї методики та експериментальних даних про вікові особливості трихінел у м'язах дозволило пізнати особливості сезонної і вікової динаміки поширення трихінельозної інвазії (Wang, 2021).

За даними Бессонова А. С. (Bessonov, 1970) свині частіше уражуються в віці від 3-х до 9-ти місяців біля 50 %, у віці 2–3-х місяців, тобто відразу після відлучення від свиноматки – 8,8, віком 10–12 місяців – 12,2, старші одного року – 23,0 % випадків.

Поширення інвазії серед населення залежить в першу чергу від кількості заражень трихінельозом свиней, рівня і якості протиепідемічних заходів, в значній мірі від місцевих навичок та звичаїв у приготуванні їжі. На територіях значного поширення трихінельозу основним джерелом зараження людини є свинина (м'ясо і сало, інші продукти забою), які реалізуються без проведення ветеринарно-санітарної експертизи. Не слід проте забувати і про можливість зараження людей через м'ясо диких тварин – ведмедів, кабанів, борсуків, собак.

Трихінельоз у людей частіше проявляється у вигляді спорадичних випадків, які охоплюють певну кількість осіб. Груповий характер захворювання

пов'язаний з одним джерелом інвазії, частіше яким є свинина, або харчові продукти із неї. Ендемічні спалахи іноді носять сімейний характер. Вони можуть бути пов'язані з підприємствами громадського харчування, куди реалізуються без належного дослідження на трихінельоз свинини.

Так, у Закарпатській області зареєстровані випадки зараження людей від вживання ураженого личинками трихінел м'яса кабана та ведмеда (Van De et al., 2015; Chelladurai et al., 2017). Біля тисячі випадків трихінельозу у людей в Україні описані автором в період 1998–2002 рр., були пов'язані із вживанням зараженої свинини (35,8 %), ведмежатини (39,5 %), м'яса диких тварин, перш за все борсука (10,6 %), м'яса домашніх та безпритульних собак (11,9 %).

Вивчаючи джерела інвазії людей, першочергове значення вчені надають інфікованій свинині та продуктам із неї, а далі – м'ясним продуктам від нутрій та тварин мисливського “промислу” – кабана, ведмеда, борсука та ін. Розглядаючи різні трофічні ланцюги, наприклад комахи – хижакі, автори вважають, що суттєва інвазованість *Trichinella spiralis* їжаків пов'язана із поїданням комах. Серед останніх є немало тих, які розвивалися на трупах загинулих тварин. За даними дослідників, на які посилаються автори публікації, в кишечнику комах личинки трихінел можуть зберігатись до 12 днів (Jiang et al., 2016; Roesel et al., 2016; Bakhur et al., 2019).

Отже, наведені вище результати досліджень свідчать про те, що трихінельоз має соціальне та економічне значення, і є серйозною проблемою громадського здоров'я в світі. Захворювання завдає значних економічних збитків господарствам із-за проведення діагностичних міроприємств, заходів щодо профілактики і ліквідації трихінельозу та в обмежені торгівлею свининою.

Важливі та досить непрості для вирішення екологічні проблеми, пов'язані із постійним функціонуванням природних осередків трихінельозу. Території заселені численними популяціями диких тварин (в тому числі промислових), створюють умови для періодичного виникнення та поширення захворювання у тварин і людей.

Отримані матеріали щодо епізоотичної ситуації з трихінельозу в Україні свідчать про неблагополуччя в окремих областях (табл. 1).

Таблиця 1

Результати дослідження трихінельозних туш свиней в Україні (2015–2020 рр.)

Область	Роки						Всього
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Житомирська	1	0	0	0	0	0	1
Закарпатська	0	0	0	0	0	0	0
Миколаївська	2	5	13	3	1	2	26
Херсонська	0	0	3	0	0	0	3
Чернівецька	0	0	0	0	1	0	1
Запорізька	1	0	0	0	1	1	3
Всього	4	5	16	3	3	3	34

За результатами проведених досліджень встановлено, що найбільшу кількість трихінельозних туш свиней, було виявлено у Миколаївській області, що становило 76,5 %. Аналізуючи кожен окремий випадок виявлення інвазії, слід встановлювати джерела ураження тварини та розробляти план заходів з профілактики та ліквідації трихінельозу відповідно з

інструкцією. Він є обов'язковим для виконання всіма суб'єктами господарювання та фізичними особами, які займаються сільськогосподарською діяльністю.

Впродовж 2014–2020 рр. ми продовжували моніторинг та проводили дослідження матеріалів від заражених на трихінельоз диких та синантропних тварин (табл. 2, 3).

Таблиця 2

Результати дослідження тушок лисиць, уражених личинками трихінел (2014–2019 рр.)

Область	Роки						Всього
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	
Закарпатська	1	1	2	2	6	3	15
Полтавська	0	0	0	1	0	2	3
Харківська	1	0	4	1	2	4	12
Миколаївська	2	3	1	3	1	2	12
Всього	4	4	7	7	9	11	42

Із матеріалів таблиці видно, що навіть виявлена невелика кількість випадків ураження лисиць свідчить про активну циркуляцію трихінел у природних осередках за участі цих диких тварин. Враховуючи літературні дані, аналіз матеріалів досліджень лабораторій та отримані власні результати, вказують на те, що червона лисиця є домінуючим видом (у зв'язку із значною їх популяцією) у циркуляції збудника трихінельозу серед дикої фауни.

У таблиці 3 наведені результати досліджень, проведені протягом останніх шести років у лабораторії паразитології ДНДІ з лабораторної діагностики та ветери-

нарно-санітарної експертизи та лабораторії паразитології БНАУ проб м'язів від диких тварин та собак із синантропного осередку. Аналіз даних таблиці свідчить про те, що дикі тварини, зокрема червона лисиця є потужним джерелом трихінельозної інвазії в Україні.

За матеріалами лабораторного дослідження м'язів тварин уражених личинками трихінел, можна зазначити значну перевагу методу пепсинізації у порівнянні з компресорною трихінелоскопією. Вони об'єктивно відображають інтенсивність інвазії у кожній тварини, а отже засвідчують вірогідну роль у циркуляції збудника трихінельозу.

Таблиця 3

Результати досліджень проб м'язів від диких та синантропних тварин, уражених трихінелами

Вид тварин	Кількість досліджених тварин	Метод дослідження		Результати дослідження	
		Трихінелоскопія	Пепсинізація	Трихінелоскопія	Пепсинізація
Кабан	1	48	5	20	336
Лисиці	9	48	45	120	324
Борсук	1	48	5	12	34
Миші	4	48	20	33	123
Щурі	3	48	15	124	226
Собаки	5	48	25	16	80

Комплекс заходів із профілактики і ліквідації трихінельозу тварин включає превентивні дії щодо зараження людей, домашніх і синантропних тварин, недопущення заносу інвазії із дикої природи у синантропний біоценоз, обмеження циркуляції збудника у природному середовищі. Заходи по кожному із цих пунктів мають свою специфіку, різний рівень важливості та складності, але всі вони підпорядковані єдиній меті – захисту здоров'я людей і тварин (Cui et al., 2013; Boutsini et al., 2014; Gutiérrez et al., 2016; Bruschi & Pozio, 2020).

У світі визнано дві системи щодо попередження захворювання людей трихінельозом. У країнах Європейського Союзу, вони базувалися на трихінелоскопії м'яса забитих свиней та утилізації туш, уражених личинками трихінел. У США та деяких інших країнах метод трихінелоскопії не узаконений. Обмеження стосується продуктів, які споживаються сирими чи напівсирими. Їх рекомендують обов'язково проварю-

вати або заморожувати (Borza et al., 2012; Soloviova & Doha, 2013; Houin, 2014; Conlan et al., 2014; Murrell, 2016).

Заходи профілактики і боротьби з трихінельозом в різних країнах, як правило, включають одні і ті ж пункти, однак порядок їх і важливість залежать від того, які джерела інвазії є найважливішими чи переважаючими (Shmaun, 2013; Lassen et al., 2017; Kovalenko & Kovalenko, 2017).

Недостатня ефективність профілактики та заходів боротьби з трихінельозом в окремих країнах, в тому числі в Україні, обумовлена різними причинами. Зокрема, недостатня дієвість існуючих засобів масової інформації з метою інформування населення про причини виникнення захворювання на трихінельоз та заходи щодо його ліквідації. Органи державної ветеринарної медицини повинні забезпечувати проведення широкої просвітницької роботи з використанням усіх доступних засобів: лекції, бесіди, виступи по

радіо і на телебаченні, в пресі, випуск листівок, пам'яток і бюлетнів тощо.

Також мають місце порушення вимог ветеринарного законодавства про обов'язкову трихinelоскопію свинини і м'яса промислових тварин. Частіше це відбувається за подвірного забою домашніх тварин і відстріляних на полюванні. Частина населення порушують закон про обов'язкову трихinelоскопію через неурегульованість юридичних норм відповідальності за невиконання вимоги закону (Betson et al., 2014; Vlaminc et al., 2014).

Для діагностики трихinelозу важливо впровадити в Україні метод пепсинізації, який більш ефективний в порівнянні з трихinelоскопією. Це положення закріплено в "Інструкції з діагностики, профілактики та ліквідації трихinelозу тварин", де чітко визначено, що основний метод післязайної діагностики трихinelозу – метод перетравлення проб м'язів у штучному шлунковому соку. Прижиттєвими методами діагностики трихinelозу свиней, коней, кабанів та м'ясоїдних є імуноферментний аналіз (ІФА) та хроматографічний аналіз, які зазначені у діючій інструкції.

Згідно рекомендацій Міжнародного епізоотичного бюро (International Epizootic Bureau) та Міжнародної комісії з вивчення трихinelозу (International Commission for Trichinosis) на території України, як неблагополучній зоні з трихinelозу, необхідно щорічно здійснювати планові моніторингові дослідження на трихinelоз серед домашніх, синантропних та диких тварин і відповідно з особливостями джерел поширення інвазії проводити заходи з їх ліквідації.

Висновки

1. Територія України є стаціонарно неблагополучною щодо трихinelозу свиней. Найбільшу кількість інвазованих личинками туш свиней – 76,5 % було зареєстровано в Миколаївській області.

2. Природні осередки трихinelозу виявлено в Закарпатській, Миколаївській та Харківській областях. Домінуюче значення у циркуляції збудника інвазії серед дикої фауни належить червоній лисці.

3. За лабораторного дослідження тушок тварин уражених личинками трихinel можна відзначити значну перевагу методу перетравлення м'язів у штучному шлунковому соці порівняно з компресорною трихinelоскопією. Вони об'єктивно характеризують інтенсивність інвазії у кожній тварини та показують їх роль у циркуляції збудника трихinelозу.

4. Комплекс заходів з профілактики і ліквідації трихinelозу тварин повинен включати превентивні дії щодо формування та підтримання ендемічних осередків інвазії. Проведення ветеринарно-санітарних заходів підпорядковані єдиній меті – захисту здоров'я людей і тварин.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

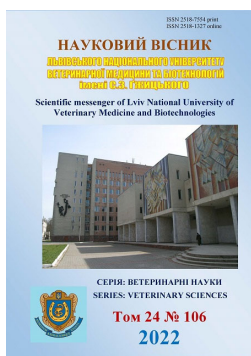
References

- Akimov, I. A., & Didyk, Yu. M. (2020). The problem of trichinellosis among wild animals in Ukraine and the danger to the public. *Dopov. Nac. akad. nauk Ukr.*, 3, 82–87. DOI: 10.15407/dopovidi2020.03.082.
- Antolová, D., Fecková, M., Valentová, D., Hurníková, Z., Miklisová, D., Avdičová, M., & Halánová, M. (2020). Trichinellosis in Slovakia – epidemiological situation in humans and animals (2009–2018). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 27(3), 361–367. DOI: 10.26444/aaem/125194.
- Artemenko, Yu. H. (1979). *Izuchenie jepizootologija trihinellosa* [Studying epizootology trichinosis]. *Veterinarija*, 9, 62–64 (in Russian).
- Artemenko, Yu. H., & Artemenko, L. P. (2000). *Orhанизatsiia zakhodiv borotby z trykhinelozom* [Organization of measures to combat trichinosis]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy*, 11, 26–27 (in Ukrainian).
- Bai, X., Hu, X., Liu, X., Tang, B., & Liu, M. (2017). Current Research of Trichinellosis in China. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1472. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01472.
- Bakhur, T. I., Artemenko, L. P., Soloviova, L. M., Antipov, A. A., & Goncharenko, V. P. (2019). *Hlobalna parazytolohiia. Metodichni rekomendatsii dlia samostiinoi roboty* [Global parasitology. Methodical recommendations for independent work]. *Bila Tserkva* (in Ukrainian).
- Bessonov, A. S. (1970). *Epizootology (epidemiology), diagnostics and prevention of trichinosis*. Moskva (in Russian).
- Betson, M., Nejsun, P., Bendall, R. P., Deb, R. M., & Stothard, J. R. (2014). Molecular Epidemiology of *Ascaris*: A Global Perspective on the Transmission Dynamics of *Ascaris* in People and Pigs. *The Journal of Infectious Diseases*, 210(6), 932–941. DOI: 10.1093/infdis/jiu193.
- Borza, C., Neghina, A. M., Dumitrascu, V., Tirnea, L., Calma, C. L., & Neghina, R. (2012). Epizootiology of trichinellosis in pigs and wild boars in Western Romania, 1998–2011. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 12(8), 712–713. DOI: 10.1089/vbz.2011.0955.
- Boutsini, S., Papatsiros, V. G., Stougiou, D., Marucci, G., Liandris, E., Athanasiou, L. V., Papadoudis, A., Karagiozopoulos, E., Bisias, A., & Pozio, E. (2014). Emerging *Trichinella britovi* infections in free ranging pigs of Greece. *Vet Parasitol.*, 199(3–4), 278–282. DOI: 10.1016/j.vetpar.2013.10.007.
- Bruschi, F., & Pozio, E. (2020). *Trichinella britovi*. *Trends Parasitol.*, 36(2), 227–228. DOI: 10.1016/j.pt.2019.10.003.
- Bulhakov, V. A. (1972). *Vspyshky trykhynelleza v USSR. Problemy parazytolohyy* [Flashes of trichinosis in the USSR. Problems of parasitology]. *Trudy VII nauchnoi konferentsyy parazytolohov USSR* [Works VII scientific conference parasitologists]. Kyiv, 1, 109–111 (in Ukrainian).
- Caplinskas, S., Bartuliene, A., & Zagrebneviene, G. (2018). Human Trichinellosis: Epidemiological Situation in Lithuania, 2008–2017. *Immunochem Immunopathol.*, 4(1), 1000130. DOI: 10.4172/2469-9756.1000130.

- Cavallero, S., Rondón, S., Monterrosa, I. et al. (2021). Genotyping of *Ascaris* spp. infecting humans and pigs in Italy, Slovakia and Colombia. *Infection, Genetics and Evolution*, 94, 104997. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104997.
- Ceballos, L., Canton, C., Cadenazzi, G. et al. (2019). Oxfendazole kinetics in pigs: In vivo assessment of its pattern of accumulation in *Ascaris suum*. *Experimental Parasitology*, 199, 52–58. DOI: 10.1016/j.exppara.2019.02.017.
- Chelladurai, J., Murphy, K., Snobl T. et al. (2017). Molecular Epidemiology of *Ascaris* Infection Among Pigs in Iowa. *J Infect Dis*, 215(1), 131–138. DOI: 10.1093/infdis/jiw507.
- Conlan, J. V., Vongxay, K., Khamlome, B., Gomez-Morales, M. A., Pozio, E., Blacksell, S. D., Fenwick, S., Thompson, R. C. (2014). Patterns and risks of trichinella infection in humans and pigs in northern Laos. *PLoS Negl Trop Dis.*, 8(7), e3034. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003034.
- Cui, J., Jiang, P., Liu, L. N., & Wang, Z. Q. (2013). Survey of *Trichinella* infections in domestic pigs from northern and eastern Henan, China. *Vet Parasitol*, 194(2–4), 133–135. DOI: 10.1016/j.vetpar.2013.01.038.
- Diaz, J., Warren, R., & Oster, M. (2020). The Disease Ecology, Epidemiology, Clinical Manifestations, and Management of Trichinellosis Linked to Consumption of Wild Animal Meat. *Wilderness & Environmental Medicine*, 31(2), 235–44. DOI: 10.1016/j.wem.2019.12.003.
- Didyk, Yu. (2006). Wild Ungulate, as the Reserve of Trichinellosis in Polesie and Western Part of Ukraine. *Vestnik zoologii*, 40(3), 271–274. URL: <https://eurekamag.com/research/024/139/024139971.php>.
- Gottstein, B., Pozio, E., & Nöckler, K. (2009). Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control of Trichinellosis. *American Society for Microbiology Clinical Microbiology*, 22(1), 127–145. DOI: 10.1128/CMR.00026-08.
- Gutiérrez García, J. M. (2016). [Trichinae, pigs and veterinary public health: The introduction of the microscopic world into the scientific basis for meat inspection (Barcelona, 1870s)]. *Med Hist (Barc)*, 1, 4–16. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27352484>.
- Houin, R. (2014). Fascioloze, trichinellose et autres zoonoses parasitaires. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 198(7), 1437–1441. DOI: 10.1016/S0001-4079(19)31240-3.
- Jiang, P., Zhang, X., Wang, L. A., Han, L. H., Yang, M., Duan, J. Y., Sun, G. G., Qi, X., Liu, R. D., Wang, Z. Q., & Cui, J. (2016). Survey of *Trichinella* infection from domestic pigs in the historical endemic areas of Henan province, central China. *Parasitol Res*, 115, 4707–4709. DOI: 10.1007/s00436-016-5240-x.
- Kovalenko, L. M., & Kovalenko, O. I. (2017). Hematologic indicators of *Ascaris* infection in pigs [Hematologic indicators in ascess of pigs]. *Problemy zoonozhenarii ta veterynarnoi medytsyny*, 35(2.2), 58–60 (in Ukrainian).
- Kravchuk, V. F. (2015). Nebezpeka trykhinellozu. [The danger of trichinosis]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy*, 1(227), 43 (in Ukrainian).
- Lassen, B., Oliviero, C., Orro, T. et al. (2017). Effect of fenbendazole in water on pigs infected with *Ascaris suum* in finishing pigs under field conditions. *Vet Parasitol.*, 237, 1–7. DOI: 10.1016/j.vetpar.2017.03.005.
- Mendes, Â. J., Ribeiro, A. I., Severo, M., & Niza-Ribeiro, J. (2017). A multilevel study of the environmental determinants of swine ascariasis in England. *Preventive Veterinary Medicine*, 148, 10–20. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2017.09.012.
- Murrell, K. D. (2016). The dynamics of *Trichinella spiralis* epidemiology: Out to pasture? *Vet. Parasitol.*, 231, 92–96. DOI: 10.1016/j.vetpar.2016.03.020.
- Pyburn, D. G., Gamble, H. R., Wagstrom, E. A., Anderson, L. A., & Miller, L. E. (2005). Trichinae certification in the United States pork industry. *Vet. Parasitol.*, 132(1–2), 179–183. DOI: 10.1016/j.vetpar.2005.05.051.
- Roesel, K., Nöckler, K., Baumann, M. P., Fries, R., Dione, M. M., Clausen, P. H., & Grace, D. (2016). First Report of the Occurrence of *Trichinella*-Specific Antibodies in Domestic Pigs in Central and Eastern Uganda. *PLoS One*, 11(11), e0166258. DOI: 10.1371/journal.pone.0166258.
- Shevelytska, V. A., & Partoieva, O. H. (2016). Osoblyvosti perebihu trykhinelozu na suchasnomu etapi [Features of trichinosis in a compression stage]. *Oryhinalni doslidzhennia*, 4(86), 73–76. DOI: 10.11603/1681-2727.2016.4.7219 (in Ukrainian).
- Shmaun, S. S. (2013). Klitynni factory nespetsyficnoi rezystentnosti svynei za rozvytku askarozu [Cell factors of non-specific resistance of pigs for the development of ascarose]. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten instytutu biolohii tvaryn i Derzhavnoho naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu vetpreparativ ta kormovykh dobavok*, 14(3–4), 244–252. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntbibt_2013_14_3-4_47 (in Ukrainian).
- Soloviova, L. M., & Doha, I. V. (2013). Porivnialna efektyvnist antyhelmintykviv za askarozno-trykhuroznoi invazii svynei [Comparative efficiency of antihelminthics for ascarose-trichurose invasions of pigs]. *Naukovyi visnyk Natsionalnoho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy. Ser.: Veterynarna medytsyna, yakist i bezpeka produktsii tvarynnystva*, 188(3), 234–237. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_vet_2013_188\(3\)_49](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_vet_2013_188(3)_49) (in Ukrainian).
- Subbotin, A. M., & Yatusyevych, A. Y. (2009). Biologicheskie osnovy profilaktiki parazitov dikih kopytnykh i hishchynykh mlekopitajushchih Belarusii [Biological bases of preventing parasites of wild hoof and predatory mammals of Belarus]. *Monohrafiya [Monograph]. Vitebsk VHVM* (in Russian).
- Van De, N., Nga, V. T., Domy, P., Trung, N. V., Minh, P. N., Dung, D. T., & Pozio, E. (2015). Trichinellosis in Vietnam. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 92(6), 1265–1270. DOI: 10.4269/ajtmh.14-0570.
- Vlaminck, J., Levecke, B., Vercruysse, J., & Geldhof, P. (2014). Advances in the diagnosis of *Ascaris suum* infections in pigs and their possible applications in humans. *Parasitology*, 141(14), 1904–1911. DOI: 10.1017/S0031182014000328.

- Wang, J. (2021). Genomics of the Parasitic Nematode *Ascaris* and Its Relatives. *Genes*, 12, 493. DOI: [10.3390/genes12040493](https://doi.org/10.3390/genes12040493).
- Yuskiv, I., & Kozak, M. (2003). Trykhieloz-helmintozoonoz. Stan problemy (Povidomlennia)

[Trichinosis helminthosonosis. The state of the problem, message]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy*, 5, 28–30 (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/nvlvet10603

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

UDC 539.1.074

Control quality measurements of alpha and beta counter with low background ALBA 2000 v.2.5.6.

Z. Malimon¹✉, T. Vinokurova¹, V. Salata², H. Kochetova¹, T. Prokopenko¹, L. Gusak¹

¹State Scientific and Research Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

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

Article info

Received 16.03.2022

Received in revised form

18.04.2022

Accepted 19.04.2022

State Scientific and Research
Institute for Laboratory
Diagnostics and Veterinary
and Sanitary Expertise,
Donetska Str, 30, Kyiv,
03151, Ukraine.
Tel.: +38-044-242-01-47
E-mail: z_malimon@ukr.net

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

Malimon, Z., Vinokurova, T., Salata, V., Kochetova, H., Prokopenko, T., & Gusak, L. (2022). Control quality measurements of alpha and beta counter with low background ALBA 2000 v.2.5.6. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 18–21. doi: 10.32718/nvlvet10603

The article provides a systematic approach to quality control of measurements of total alpha and beta activity using a counter with a low background ALPHA / BETA COUNTING SYSTEM ALBA (mod. ALBA / LLAB) and software ALBA 2000 v.2.5.6. The purpose is to determine the compliance of these objects with the requirements of regulatory documentation. The spectrometry method is based on the physical concentration of radionuclides from the sample volume, measuring the rate of alpha, and beta radiation of the obtained dry residue of the sample, comparing the sample count rate with calibration values of activity, and calculating the total alpha, beta activity of the sample. The primary means of testing is a counter with a low background ALPHA / BETA COUNTING SYSTEM ALBA 200, the lower limit of measurements of the alpha activity, which is 0.02 Bq/l, and beta activity of 0.1 Bq/l, the relative random uncertainty of the measurement result is 60 % with a confidence level $P = 0.95$. The efficiency of registration on the alpha channel of 43 %, background on the alpha channel of 0.11 imp./min, for a measurement time of 60,000 s, the efficiency of registration on the beta channel of 30 %, background on the beta channel of 1.9 imp./min, for measurement time 60000 s. As a comparison sample for calculating total alpha activity, a sample with alpha radiation, ²⁴¹Am (geometry 2 π), is used. To calculate the total beta activity, a sample of beta-emitter of potassium sulfate with radionuclide is used at ⁴⁰K (geometry 2 π). The weight of the counting sample ranges from 200 to 1000 mg. The activity values are calculated automatically, using the software ALBA 2000, v.2.5.6. Measurement of the total activity of radionuclides in counting samples using the method should be performed only in calibrated geometries. At the same time, the safety requirements, personnel qualifications, and test conditions must be met. Quality control of measurements in the alpha, beta counter ALBA-2000 v.2.5.6. It is carried out in qualitative and quantitative ways.

Key words: counting sample, total activity, physical concentration, efficiency of registration, control card.

Контроль якості вимірювань альфа-, бета-лічильника з низьким фоном ALBA 2000 v.2.5.6.

З. Малімон¹✉, Т. Винокурова¹, В. Салата², Г. Кочетова¹, Т. Прокопенко¹, Л. Гусак¹

¹Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

У статті запропоновано системний підхід щодо контролю якості вимірювань сумарної альфа-, бета-активності із застосуванням лічильника з низьким фоном ALPHA/BETA COUNTING SYSTEM ALBA (мод. ALBA/LLAB) та програмним забезпеченням

ALBA 2000 v.2.5.6. Метою є визначити відповідність даних об'єктів вимогам нормативної документації. Метод спектрометрії базується на фізичній концентрації радіонуклідів з об'єму зразка, вимірюванні швидкості лічби альфа-, бета-випромінювань отриманого сухого залишку зразка, порівняння швидкості рахунку зразка з калібрувальними значеннями активності та розрахунку сумарної альфа-, бета-активності зразка. Основним засобом випробувань є лічильник з низьким фоном ALPHA/BETA COUNTING SYSTEM ALBA 200, нижня межа вимірювань альфа-активності якого 0,02 Бк/л, а бета-активності 0,1Бк/л, відносна випадкова невизначеність результату вимірювань складає 60 % при довірчій ймовірності $P = 0,95$. Ефективність реєстрації по альфа-каналу 43 %, фон по альфа-каналу 0,11 імп./хв, за час виміру 60000 с, ефективність реєстрації по бета-каналу 30 %, фон по бета-каналу 1,9 імп./хв, за час виміру 60000 с. Як зразок порівняння для розрахунку сумарної альфа-активності використовується зразок з альфа-випромінюванням ^{241}Am (геометрія 2 π), для розрахунку сумарної бета-активності використовується зразок бета-випромінювача сульфату калію з радіонуклідом ^{40}K (геометрія 2 π). Маса лічильного зразка в межах від 200 до 1000 мг. Розрахунок значень активності проводиться автоматично, з використанням програмного забезпечення ALBA 2000, v.2.5.6. Вимірювання сумарної активності радіонуклідів в лічильних зразках із використанням методу варто проводити лише в каліброваних геометріях. При цьому обов'язково дотримуються вимог техніки безпеки, кваліфікації персоналу та умов випробувань. Контроль якості вимірювань у альфа-, бета-лічильнику ALBA-2000 v.2.5.6. проводиться якісним і кількісним способами.

Ключові слова: лічильний зразок, сумарна активність, фізична концентрація, ефективність реєстрації, контрольна карта.

Вступ

Минуло 35 років після аварії на Чорнобильській АЕС – найбільшої радіоекологічної катастрофи сучасності. Відтоді живемо в умовах постійної загрози здоров'ю населення внаслідок радіаційного забруднення значної території України та інших країн. Після аварії на Чорнобильській атомній електростанції та у випадках проведення ядерних випробувань у навколишнє середовище, в тому числі у воду потрапляють альфа- та бета-випромінюючі радіонукліди (NRBU-97/D-2000). Тому для запобігання шкідливому впливу на здоров'я населення (Nakaz MOZ Ukrainy; Malimon, 2020) необхідне своєчасне виявлення таких викидів у біосферу та розробка відповідними структурами програми щодо зведення їхнього впливу до мінімального. Враховуючи потребу масового забезпечення питною водою населення існує необхідність моніторингу прісної природної води господарсько-питного призначення (ISO 9696:2017; ISO 9697:2018; DSANPiN 2.2.4-171-10.9:2013). Саме тому було розроблено методику спектрометрії зі сцинтилятором NaI (TI) із застосуванням лічильника з низьким фоном ALPHA/BETA COUNTING SYSTEM ALBA (мод. ALBA/LLAB) з програмним забезпеченням ALBA 2000, v.2.5.6.

Мета роботи. Провести контроль якості вимірювань альфа-, бета-лічильників з програмним забезпеченням ALBA-2000, v.2.5.6., а також визначити засоби, необхідні для проведення даної перевірки.

Матеріал і методи випробувань

Основним засобом випробувань є лічильник з низьким фоном ALPHA/BETA COUNTING SYSTEM ALBA (мод. ALBA/LLAB) з програмним забезпеченням ALBA 2000, v.2.5.6. Нижня межа вимірювань альфа-активності 0,02 Бк/л, бета-активності 0,1Бк/л, відносна випадкова невизначеність результату вимірювань складає 60 % при довірчій ймовірності $P = 0,95$. Основні параметри лічильника: ефективність реєстрації по альфа-каналу 43 %, фон по альфа-каналу 0,11 імп./хв за час виміру 60000 с, ефективність реєстрації по бета-каналу 30 %, фон по бета-каналу 1,9 імп./хв за час виміру 60000 с (ALBA 2000, 2014).

Комплект джерел альфа- і бета-випромінювань для контролю збереження лічильником його основних

метрологічних характеристик, комплект джерел порівняння з відомим радіонуклідним складом, атестовані геометрії для зразків (Çakal et al., 2015; Fons et al., 2013; Stojković et al., 2015; 2016; 2017; Tsroya, 2018).

Результати та їх обговорення

Вимірювання активності лічильного зразка проводиться методом спектрометрії із застосуванням лічильника з низьким фоном ALPHA/BETA COUNTING SYSTEM ALBA (мод. ALBA/LLAB), з програмним забезпеченням ALBA 2000, v.2.5.6. В основі методу лежить швидкість рахунку альфа-, бета-випромінювання лічильного зразка, порівняння його даних із швидкістю рахунку зразка з атестованими, калібрувальними значеннями активності та розрахунок сумарної альфа-, бета-активності зразка. Як зразок порівняння для розрахунку сумарної альфа-активності використовується зразок ^{241}Am (геометрія 2 π), для розрахунку сумарної активності бета-активності використовується зразок сульфату калію з радіонуклідом ^{40}K (геометрія 2 π). Маса лічильного зразка вибирається в межах від 200 до 1000 мг. Розрахунок значень сумарної активності проводиться автоматично, з використанням програмного забезпечення ALBA 2000, v.2.5.6.

Перед виконанням вимірювань активності лічильного зразка необхідно провести перевірку стабільності характеристик лічильника, яка включає: вимірювання фону Background (BGND), вимірювання активності контрольних джерел альфа- і бета-активності та ефективність реєстрації (Eff).

Для визначення фону BGND проводяться вимірювання пустої кювети за час експозиції 60000 с з періодичністю 1 раз на місяць. Вимірювання активності контрольних джерел альфа- і бета-активності проводиться щоденно перед початком вимірювань активності лічильного зразка, час експозиції 1800 с. Значення ефективності реєстрації (Eff) (Laptev, 2015) розраховується за формулою:

$$Eff = \frac{(n_{\text{кд}} - n_{\text{ф}})}{A_{\text{кд}}} \cdot 100\%,$$

де:

$n_{\text{кд}}$ – швидкість лічби контрольних джерел альфа- і бета-активності,

$n_{\text{ф}}$ – швидкість лічби фону,

$A_{\text{кд}}$ – активність контрольних альфа і бета джерел.

Контроль якості вимірювань у альфа-, бета-лічильника ALBA-2000 v.2.5.6. (ALBA 2000 Series, 2014) проводиться якісним і кількісним способами.

Якісний контроль вимірювань альфа-, бета-лічильника з програмним забезпеченням ALBA-2000, v.2.5.6. можна проводити протягом заданого інтервалу вимірювань лічильного зразка. На екрані в режимі реального часу відображається віконце з інформацією вимірювань лічильника (віконця α та β , рис. 1).

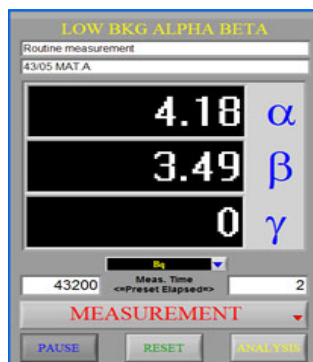


Рис. 1. Віконце з відображенням інформації вимірювань лічильника альфа-, бета-випромінювань

Відобразити більш повну інформацію можна через ANALYSIS (аналіз) (рис. 2).

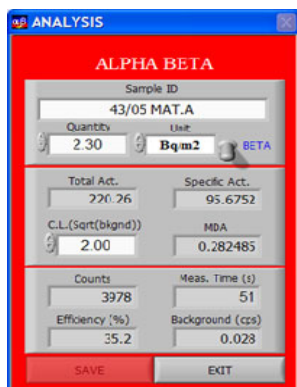


Рис. 2. Віконце аналізу вимірювань лічильника альфа-, бета-випромінювань

У віконці аналізу відображаються всі дані, що використовувалися для розрахунку активності: Sample ID (зразок) – дані про вимірювальний зразок, Unit – дані про вагу, масу, об'єм зразка (мг, г, мл), C.L.[Sqrt(bkgnd)] – визначає рівень достовірності для розрахунку мінімальної детектованої активності (МДА) (Vinokurova, 2020), Counts – загальне число відкликів, Meas/Time (s) – час вимірювання (с), Efficiency (%) – ефективність реєстрації (%), Background (cps) – значення фону.

Залежно від виду сигналізації інформація від детектора системи захисту відображається за допомогою зміни кольору віконця з даними вимірювань. Попереджувальна сигналізація визначає перший поріг альфа-, бета-активності, при його перевищенні, програма буде подавати оператору жовтий сигнал. Аварійна сигналізація визначає другий поріг альфа-, бета-активності, при його перевищенні програма буде подавати червоний сигнал. При спрацюванні сигналізації вимірювання припиняється до з'ясування причин.

Для підтвердження стабільності вимірювань проводиться кількісний (статистичний) контроль вимірювань альфа-, бета-лічильника з програмним забезпеченням ALBA-2000, v.2.5.6. Для зручності ця інформація подана графічним способом у вигляді контрольної карти (рис. 3). Для її побудови програмне забезпечення ALBA 2000, v.2.5.6. в автоматичному режимі проводить послідовність вибірок, що відображає поточний стан процесу із межами, встановленими на основі, властивій процесу мінливості.

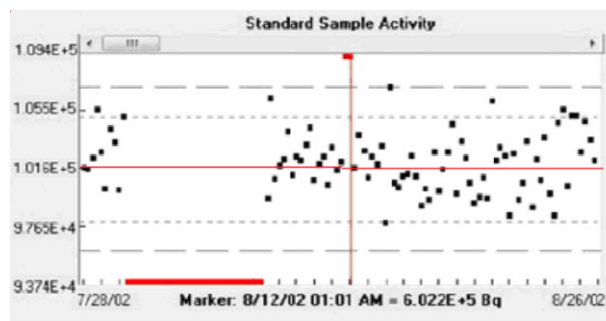


Рис. 3. Контрольна карта вимірювань альфа-, бета-лічильника

На рис. 3 наведена контрольна карта, короткі пунктирні лінії якої означають попереджувальні межі, а довгі пунктирні лінії – порогові межі прийняття. Середня лінія (червона) – це межа прийняття. Межа прийняття встановлюється за допомогою вимірювань калібрувального джерела альфа-випромінювання і стандартного зразка бета-випромінювання з відомим значенням активності в Бекерелях (Бк).

Межа прийняття, або стандартне відхилення активності (S), вираховується за формулою:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

де:

n – кількість вимірювань,

x_i – значення активності у i -му вимірюванні,

$\bar{x}$ – середнє арифметичне зібраних даних, яке вираховується за формулою:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Верхня контрольна межа UCL (верхні короткі пунктирні лінії) вираховується за формулою:

$$UCL = \bar{x} + k \cdot s$$

де: $k = 2$

Нижня контрольна межа LCL (нижні короткі пунктирні лінії) вираховується за формулою:

$$LCL = \bar{x} - k \cdot s$$

де: $k = 2$

Верхня і нижня межі розрахованої активності є попереджувальними межами і перебувають в інтервалах розширеної невизначеності (U) навколо результату вимірювання:

- права межа цього інтервалу $UCL = \bar{x} + U$

- ліва межа цього інтервалу $LCL = \bar{x} - U$

Величина розширеної невизначеності, а отже і ширина цього інтервалу, залежить від вибраного під

час розрахунку рівня довіри (P), який менший або дорівнює одиниці. В даному випадку $P = 0,95$. Це означає, що інтервал невизначеності включає 95 % з усіх значень, які можуть бути результатом вимірювання. Розширена невизначеність результатів вимірювань залежить від часу експозиції. Якщо точність отриманого результату недостатня, її можна збільшити за рахунок збільшення часу вимірювань. Необхідний час вимірювань можна приблизно оцінити за таким відношенням $U \sim (t_{\text{експ}})^{-1/2}$

де: U – розширена невизначеність результатів вимірювань,

$t_{\text{експ}}$ – часу виміру.

Максимальна і мінімальна межі (довгі пунктирні лінії) в контрольній карті вимірювань альфа-, бета-лічильника розрахованої активності є пороговими межами прийняття.

$$A_{\min} < A \leq A_{\max}; P = 0,95$$

$$A_{\min} = A_{\text{вим}} - LCL,$$

$$A_{\max} = A_{\text{вим}} + UCL$$

Попередження про перевищення першого порогу альфа-, бета-активності та спрацювання попереджувальної сигналізації є пріоритетним порівняно з попередженням про досягнення другого порогу альфа-, бета-активності (зазвичай поріг спрацювання аварійної сигналізації вищий, ніж поріг попереджувальної сигналізації).

Висновки

Контроль якості вимірювань альфа-, бета-лічильника ALBA-2000 v.2.5.6. можна проводити якісним і кількісним способами. Його проводять з метою запобігання недостовірності результатів вимірювань.

Основним засобом випробувань є лічильник з низьким фоном, нижня межа вимірювань по альфа-активності 0,02 Бк/л, по бета-активності 0,1Бк/л, відносна випадкова невизначеність результату вимірювань складає 60 % при довірчій ймовірності $P = 0,95$. Ефективність реєстрації по альфа-каналу становить 43 %, по бета-каналу – 30 %.

Межі прийняття рішень в контрольній карті вимірювань альфа-, бета-лічильника використовуються для визначення, як програма працює в неочікуваних умовах і відображають поточний стан процесу із межами, встановленими на основі властивий процесу мінливості.

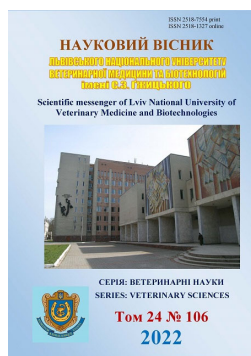
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

ALBA 2000 Series (2014). Management and analysis software ALBA 2000 Series. User Manual P. 1, 27p.
Çakal, G. Ö., Güven, R. Y., & Yüce, H. (2015). An application of LSC method for the measurement of gross alpha and beta activities in spiked water and drinking water samples. *Nukleonika*, 60(3), 637–642. DOI: 10.1515/nuka-2015-0089.

DSanPiN 2.2.4-171-10 (2013). State health and safety standards and rules. Health and safety requirements for drinking water intended for human consumption. Kyiv, Ministry of Health of Ukraine (in Ukrainian).
Fons, J., Zapata-García, D., Tent, J., & Llauroadó, M. (2013). Simultaneous determination of gross alpha, gross beta and ^{226}Ra in natural water by liquid scintillation counting. *J Environ Radioact*, 125, 56–60. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2013.01.017.
ISO 9696:2017 (E) Water quality — Gross alpha activity — Test method using thick source. URL: <https://www.iso.org/ru/standard/66766.html>.
ISO 9697:2018 (E) Water quality — Gross beta activity — Test method using thick source. URL: <https://www.iso.org/ru/standard/72374.html>.
Laptev, G. V., Pirnach, L. S., & Dyvak, T. I. (2015). Determination of ^{90}Sr in water by direct measurement using liquid scintillation counter. *Nuclear Physics and Atomic Energy*, 16(2), 177–182. DOI: 10.15407/jnpae2015.02.177 (in Ukrainian).
Malimon, Z. V., Salata, V. Z., Kochetova, G. S., Prokopenko, T. O., & Gusak, L. M. (2020). Analysis of radiouclide contamination of forestry products on the territory of Ukraine 2013–2019. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 22(97), 47–51. DOI: 10.32718/nvlvet9709 (in Ukrainian).
Nakaz MOZ Ukrainy № 256 vid 03.05.2006 r. Dopustymy rivni vmistu radionuklidiv ^{137}Cs i ^{90}Sr u produktakh kharchuvannia ta pytnii vodi. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0845-06#Text> (in Ukrainian).
Normy radiatsiinoi bezpeky Ukrainy (NRBU-97/D-2000). URL: <http://consultant.parus.ua/?doc=052UL932A5> (in Ukrainian).
Stojković, I., Tenjović, B., Nikolov, J., & Todorović, N. (2015). Radionuclide, scintillation cocktail and chemical/color quench influence on discriminator setting in gross alpha/beta measurements by LSC. *J Environ Radioact*, 144, 41–46. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2015.02.028.
Stojković, I., Tenjović, B., Nikolov, J., & Todorović, N. (2017). Possibilities and limitations of color quench correction methods for gross alpha/beta measurements. *Appl Radiat Isot*, 122, 164–173. DOI: 10.1016/j.apradiso.2017.01.041.
Stojković, I., Todorović, N., Nikolov, J., & Tenjović, B. (2016). PSA discriminator influence on (^{222}Rn) efficiency detection in waters by liquid scintillation counting. *Appl Radiat Isot*, 112, 80–88. DOI: 10.1016/j.apradiso.2016.03.020.
Tsroya, S. (2018) Fast screening of operational aqueous samples by gross alpha and beta counting with LSC systems. *J. Radioanal Nucl Chem*, 317, 1211–1221. DOI: 10.1007/s10967-018-6007-x.
Vinokurova, T., Malimon, Z., Salata, V., Prokopenko, T., Kochetova, G., & Gusak, L. (2020) Factors affecting the minimum detected activity of the GAMMAVISION software report protocol. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(28), 138–143. DOI: 10.32718/nvlvet9824 (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/nvlvet10604

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

UDC 636.52/.58.09:614.31:637.1/.05.07

Identification of freshness of chicken-broiler meat according to developed express methods

A. F. Bogatko✉

Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

Article info

Received 16.03.2022

Received in revised form

18.04.2022

Accepted 19.04.2022

Bila Tserkva National Agrarian
University, Cathedral Square, 8/1,
Bila Tserkva, Kyiv region,
09117, Ukraine.
Tel.: +38-096-143-94-73
E-mail: bogatko.aliona.ua@gmail.com

Bogatko, A. F. (2022). Identification of freshness of chicken-broiler meat according to developed express methods. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 22–28. doi: 10.32718/nvlvet10604

Market operators for the production and circulation of broiler meat should implement a traceability system and a HACCP system that will allow them to control their safety and quality during the production, storage, and sale cycle. For the work of state inspectors of veterinary medicine, new express methods of controlling chilled meat of broiler chickens to establish their freshness and shelf life due to compliance with sanitary and hygienic requirements at facilities for the production and circulation of poultry meat according to Nesler's color of the extract of poultry meat with Nesler's reagent and the optical density of meat-water extract with Nesler's reagent, which have reliability of 99.9 % in the tests. Studies have identified chilled broiler meat by freshness in determining the Nessler number and optical density of the color intensity of the meat-water extract and Nessler reagent by photometric method at 5, 6, 7, and 8 days of storage at 0–4 °C. It was determined that the Nessler number for the intensity of the yellow color of the extract from the meat of broiler chickens fresh from the breast and thigh for the use of Nessler's reagent on the fifth day was – 1.4–1.6 (olive-yellow color); the doubtful freshness of the breast and thigh for 6–7 days – 1.8–2.4 (light yellow color); stale from the breast and thigh for eight days – more than 2.4 (from intense yellow to orange). It was found that the optical density of the intensity of the olive-yellow color of the extract from chilled meat of fresh broiler chickens for five days at a temperature of 0–4 °C was: in the breast – 0.898 ± 0.060 Bel, in thighs – 1.057 ± 0.020 Bel; the yellow color of the extract from poultry meat of dubious degree for 6–7 days at a temperature of 0–4 °C: in the breast – 1.260 ± 0.004 Bel ($P \leq 0.01$), in the thigh – 1.318 ± 0.006 Bel ($P \leq 0.001$); the yellow-orange color of the extract from the meat of fresh poultry for eight days at a temperature of 0–4 °C – in the breast – 2.265 ± 0.020 Bel ($P \leq 0.001$), in the thigh – 2.432 ± 0.012 Bel ($P \leq 0.001$). Monitoring the freshness of meat of broiler chickens found that when sold in agri-food markets and supermarkets, respectively: fresh meat was – 74.14 and 66.67 %; questionable freshness – 17.24 and 21.67 %; stale – 8.62 and 11.66 %.

Key words: safety, quality, chilled poultry carcasses, broiler chickens, freshness.

Ідентифікація свіжості м'яса курчат-бройлерів за розробленими експресними методиками

А. Ф. Богатко✉

Білоцерківський національний аграрний університет, Біла Церква, Україна

Оператори ринку з виробництва та обігу м'яса курчат-бройлерів мають впроваджувати систему простежуваності та систему НАССР, що дасть можливість контролювати їх безпечність та якість упродовж циклу виробництва, зберігання й реалізації. Для роботи державних інспекторів ветеринарної медицини рекомендовано розроблені нові експресні методики контролювання охолодженого м'яса курчат-бройлерів щодо встановлення їх свіжості та дотримання термінів зберігання внаслідок дотримання санітарно-гігієнічних вимог на потужностях з виробництва та обігу м'яса птиці за встановлення числа Неслера за інтенсивністю жовтого забарвлення витяжки з м'яса птиці з реактивом Неслера та оптичної густини м'ясо-водної витяжки з реактивом Неслера фотометричним методом, які мають достовірність у випробуваннях 99,9 %. Дослідженнями було ідентифіковано охоло-

джене м'ясо курчат-бройлерів за ступенем свіжості при визначенні числа Неслера та оптичної густини інтенсивності кольору м'ясо-водної витяжки і реактиву Неслера фотометричним методом на 5, 6, 7, 8 доби зберігання за температури 0–4 °С. Визначено, що число Неслера за інтенсивності жовтого забарвлення витяжки з м'яса курчат-бройлерів свіжого із грудки та стегна за використання реактиву Неслера на 5 добу становило – 1,4–1,6 (оливково-жовтий колір); сумнівної свіжості з грудки та стегна на 6–7 добу – 1,8–2,4 (світло-жовтий колір); несвіжого із грудки та стегна на 8 добу – більше ніж 2,4 (від інтенсивно-жовтого до помаранчевого кольору). Встановлено, що оптична густина інтенсивності оливково-жовтого забарвлення витяжки з охолодженого м'яса курчат-бройлерів свіжого на 5 добу за температури 0–4 °С становила: у грудці – $0,898 \pm 0,060$ Бел, у стегні – $1,057 \pm 0,020$ Бел; жовтого забарвлення витяжки з м'яса птиці сумнівного ступеня на 6–7 добу за температури 0–4 °С: у грудці – $1,260 \pm 0,004$ Бел ($P \leq 0,01$), у стегні – $1,318 \pm 0,006$ Бел ($P \leq 0,001$); жовто-помаранчевого забарвлення витяжки з м'яса птиці несвіжого на 8 добу за температури (0–4) °С – у грудці – $2,265 \pm 0,020$ Бел ($P \leq 0,001$), у стегні – $2,432 \pm 0,012$ Бел ($P \leq 0,001$). За моніторингу свіжості м'яса курчат-бройлерів встановлено, що при реалізації на агропродовольчих ринках і в супермаркетах, відповідно: свіже м'ясо становило – 74,14 і 66,67 %; сумнівної свіжості – 17,24 і 21,67 %; несвіже – 8,62 і 11,66 %.

Ключові слова: безпечність, якість, охолоджені тушки птиці, курчата-бройлери, свіжість.

Вступ

Потужності з виробництва та зберігання охолоджених тушок курчат-бройлерів мають запроваджувати систему простежуваності та систему НАССР для визначення й аналізу небезпечних ризиків, управління критичними контрольними точками з оцінюванням цих результатів (Bohatko et al., 2016; Fotina et al., 2016). Дієвість систем простежуваності та НАССР дає можливість випуску безпечних та якісних харчових продуктів для пересічних споживачів, що є актуальним у глобальному масштабі на переробних підприємствах України. Здійснення ризик-орієнтованого контролю на потужностях з виробництва та обігу м'яса птиці потребує розроблення експресних методів визначення його безпечності та якості (Yatsenko et al., 2017; Salata, 2018; Savelli, 2019). Вимоги до показників безпечності та якості м'яса птиці регламентуються чинними нормативними документами (DSTU 3143:2013; DSTU 8253:2015).

Науковці приділяли значну увагу питанням розробки нових експресних та оптимізованих методик контролювання безпечності та якості харчових продуктів (Singh & Neelam, 2011; Doosti et al., 2014; Omarov et al., 2017; Kukhtyn et al., 2020; Simonov et al., 2022).

Споживачі стали більш вимогливими до якості та безпечності м'яса птиці та м'ясопродуктів. Наразі гостро постає питання ризик-орієнтованого контролю виробництва та обігу м'яса курчат-бройлерів в роботі державних інспекторів ветеринарної медицини (Rodionova et al., 2020; Barlow et al., 2015). Потужності з виробництва та обігу м'яса птиці мають виконувати програми-передумови щодо розроблення, впровадження і застосування постійнодіючих процедур, що засновані на принципах системи НАССР, в тому числі дотримання температурних режимів охолодження тушок курчат-бройлерів (Singh & Neelam, 2011).

Контроль безпечності та якості м'яса за зберігання ґрунтується на дотриманні санітарно-гігієнічних вимог при забої птиці, обробці, закладанні на охолодження, зберіганні й реалізації (Vojir et al., 2012; Rehlement № 854/2004).

Методики, які використовують нині для виявлення свіжості м'яса курчат-бройлерів за виробництва, зберігання й реалізації, є трудомісткими, взаємосуперечливими, недоскональними, тривалими в часі та недостатньо інформативними (Luybchuk et al., 2015). Отже, розробка нових експресних методик контролю безпечності та якості охолодженого м'яса курчат-

бройлерів, є важливим і актуальним питанням в роботі інспекторів ветеринарної медицини при застосуванні простих випробувань.

Тому метою роботи було з'ясувати доцільність застосування розроблених експресних методик ідентифікації свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів за встановлення числа Неслера за інтенсивністю жовтого забарвлення витяжки з м'яса птиці з реактивом Неслера та оптичної густини м'ясо-водної витяжки з реактивом Неслера фотометричним методом щодо обґрунтування їх свіжості та дотримання термінів зберігання внаслідок дотримання санітарно-гігієнічних вимог на потужностях з виробництва та обігу м'яса птиці.

Матеріал і методи досліджень

Зразки тушок охолодженого м'яса курчат-бройлерів у кількості 36 екземплярів відбирали з потужностей обігу – агропродовольчих ринків Київської області. Відбирали зразки тушок охолодженого м'яса курчат-бройлерів за температури 0–4 °С на 5 добу реалізації. Проводили експериментальні дослідження щодо встановлення псування тушок охолодженого м'яса курчат-бройлерів за отримання сумнівної свіжості і несвіжого м'яса курчат-бройлерів на 6–8 доби реалізації. Проводили моніторинг свіжості м'яса курчат-бройлерів на потужностях з обігу – агропродовольчих ринках і супермаркетах.

Методика визначення числа Неслера ґрунтувалася на кількісному визначенні числа Неслера за встановлення ступеня свіжості м'яса курчат-бройлерів шляхом використання профільрованої витяжки з м'яса у співвідношенні 1:4 та додаванням 1,0–1,1 см³ реактиву Неслера за витримування упродовж 4–5 хвилин та подальшим центрифугуванням та порівнюванням до кольору біхроматної шкали, що містить число Неслера. На дану експресну методику отримано Патент України на корисну модель 147313 (Bohatko et al., 2021a).

Методика ідентифікації свіжості м'яса курчат-бройлерів ґрунтувалася на використанні фотометра фотоелектричного за використання профільрованої водної витяжки з м'яса курчат-бройлерів у співвідношенні 1:2 та додаванням 0,9–1,0 см³ реактиву Неслера та витримування упродовж 3–4 хвилин та подальшим центрифугуванням і вимірюванням оптичної густини інтенсивності забарвлення від оливково-жовтого до жовто-помаранчевого кольору витяжки у

Белах за довжини хвилі $445 \pm 0,05$ нм (синій світло-фільтр) при використанні в якості контрольної проби дистильованої води. На дану експресну методику отримано Патент України на корисну модель 147315 (Bohatko et al., 2021b).

Для встановлення свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів застосовували загальноприйняті методики: визначення аміаку та солей амонію з реактивом Неслера, підрахунку кількості мікроорганізмів за мікроскопії м'яса, вміст аміно-аміачного азоту, реакція з міді сульфатом відповідно до чинних нормативних документів.

Достовірність проведених досліджень підтверджується використанням сертифікованого обладнання, сучасних методів випробувань, при застосуванні статистичної обробки даних результатів.

Результати досліджень

1. Ідентифікація свіжості м'яса курчат-бройлерів за встановлення числа Неслера

Розроблена нами методика ідентифікації свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів полягає у визначенні числа Неслера за інтенсивністю жовтого забарвлення витяжки з м'яса птиці з реактивом Неслера відповідно до кольору біхроматної шкали.

В основу даної методики було покладено завдання розробити спосіб ідентифікації ступеня свіжості м'яса курчат-бройлерів за числом Неслера, який ґрунтувався на кількісному визначенні числа Неслера за встановлення ступеня свіжості м'яса курчат-бройлерів шляхом використання профільованої витяжки з м'яса у співвідношенні 1:4 ($5,0\text{--}5,1$ г м'яса птиці і 20 см^3 дистильованої води) у кількості $3,0\text{--}3,1\text{ см}^3$ з додаванням $1,0\text{--}1,1\text{ см}^3$ реактиву Неслера за витримув-

вання упродовж 4–5 хвилин та подальшим центрифугування упродовж 6–7 хвилин за 1000 об/хв та порівнюванням до кольору біхроматної шкали, що містить число Неслера, що забезпечило достовірність результатів при встановленні ступеня свіжості м'яса курчат-бройлерів за зберігання й реалізації.

Запропонована експресна кількісна методика встановлення числа Неслера може використовуватися для визначення безпечності та якості м'яса курчат-бройлерів у виробничих лабораторіях на потужностях з переробки м'яса і м'ясних продуктів, оптових баз під час зберігання, у супермаркетах, у державних лабораторіях Держпродспоживслужби України та в лабораторіях ветеринарно-санітарної експертизи на агропродовольчих ринках.

Розроблена експресна методика мала достовірність у визначенні кількісних показників щодо ідентифікації свіжості м'яса курчат-бройлерів у 99,9 %. Також більш достовірні дані – у 99,0–99,9 % були отримані порівняно з результатами досліджень мікроскопічного методу встановлення ступеня свіжості м'яса птиці та у 99,4–99,8 % з результатами досліджень визначення вмісту аміно-аміачного азоту у м'ясі птиці. Використовуючи розроблену експресну методику, було проведено випробування щодо встановлення свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів за реалізації на агропродовольчих ринках за числом Неслера при виявленні інтенсивності жовтого забарвлення витяжки із м'яса курчат-бройлерів за використання реактиву Неслера відповідно до кольору біхроматної шкали різних ступенів свіжості на 36 досліджуваних пробах.

Результати встановлення свіжості м'яса курчат-бройлерів за розробленим експресним і загальноприйнятими методиками наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Показники безпечності та якості охолодженого м'яса курчат-бройлерів на агропродовольчих ринках за використання експресної методики при виявленні числа Неслера ($M \pm m$, $n = 36$)

Показники	Якість м'яса курчат-бройлерів					
	на 5 добу за температури $0\text{--}4\text{ }^{\circ}\text{C}$		на 6–7 добу за температури $0\text{--}4\text{ }^{\circ}\text{C}$		на 8 добу за температури $0\text{--}4\text{ }^{\circ}\text{C}$	
	М'ясо курчат-бройлерів свіже, $n = 12$		М'ясо курчат-бройлерів сумнівної свіжості, $n = 12$		М'ясо курчат-бройлерів несвіже, $n = 12$	
	Грудка	Стегно	грудка	Стегно	грудка	Стегно
Число Неслера, абсолютні одиниці	1,4–1,6 оливково-жовтий колір	1,4–1,6 оливково-жовтий колір	1,8–2,4 світло-жовтий	1,8–2,4 світло-жовтий	більше 2,4 інтенсивно-жовтий	більше 2,4 помаранчевий колір
Визначення аміаку та солей амонію з реактивом Неслера	витяжка з м'яса зеленкуватого жовтого кольору, прозора		витяжка з м'яса інтенсивного жовтого кольору, значне помутніння з утворенням тонкого шару осаду		витяжка з м'яса жовто-помаранчевого кольору, швидке утворення крупних пластівців, що випадають в осад	
Кількість мікроорганізмів за мікроскопії м'яса	5 ± 1	6 ± 1	$19 \pm 2^{***}$	$21 \pm 2^{***}$	$42 \pm 3^{***}$	$42 \pm 5^{***}$
Вміст аміно-аміачного азоту, мг	$0,36 \pm 0,02$	$0,52 \pm 0,03$	$0,72 \pm 0,02^{***}$	$0,74 \pm 0,02^{***}$	$0,94 \pm 0,02^{***}$	$0,92 \pm 0,03^{***}$
Реакція з сульфатом міді (визначення продуктів первинного розпаду білків у бульйоні)	бульйон з м'яса прозорий блакитно-зеленого кольору		бульйон з м'яса прозорий блакитно-жовтого кольору з легким помутнінням		бульйон з м'яса має значне помутніння, утворення пластівців або випадання желеподібного згустку синьо-блакитного кольору	

Примітка: *** – $P \leq 0,001$

Із даних [табл. 1](#) встановлено, що показники кількості мікроорганізмів та вмісту аміно-аміачного азоту у м'ясі курчат-бройлерів сумнівної свіжості мали високу ступінь достовірності ($P \leq 0,001$) порівняно з показниками свіжого м'яса курчат-бройлерів. Результати якісних реакцій за визначення аміаку і солей амонію з реактивом Неслера та реакції з сульфатом міді корегували із кількісними показниками різної свіжості м'яса курчат-бройлерів.

Отже, за загальноприйнятими методиками і розробленою експресною методикою визначення числа Неслера за інтенсивністю жовтого кольору відповідно до біхроматної шкали охолоджене м'ясо курчат-бройлерів відповідало свіжому – 1,4 – 1,6 (оливково-жовтий колір), сумнівної свіжості – 1,8 – 2,4 (світло-жовтий колір) та несвіжому – більше ніж 2,4 (від інтенсивно-жовтого до помаранчевого кольору). Встановлені кількісні показники за числом Неслера були стабільними та достовірними, тож ці показники можна використовувати для визначення безпечності та якості охолодженого м'яса курчат-бройлерів на потужностях за виробництва та обігу.

Розроблена нами методика є експресною, простою у виконанні, а кількісні результати дають достовірні показники для ідентифікації свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів за наявністю інтенсивності жовтого кольору відповідно до біхроматної шкали.

Розроблена експресна методика пропонується нами для встановлення свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів поряд з іншими методиками лабораторного випробування м'яса – якісною реакцією виявлення аміаку і солей амонію, вмістом аміно-аміачного азоту, кількістю мікроорганізмів в м'ясі птиці, якісною реакцією на виявлення продуктів розпаду білків (реакція з міді сульфатом), органолептичними показниками.

2. Ідентифікація свіжості м'яса курчат-бройлерів фотометричним методом за використання реактиву Неслера

Дослідженнями встановлено свіжість охолодженого м'яса курчат-бройлерів за розробленим експресним методом визначення оптичної густини інтенсивності кольору м'ясо-водної витяжки і реактиву Неслера фотометричним методом за зберігання й реалізації тушок за температури 0–4 °C.

В основу даної методики було покладено завдання розробити спосіб ідентифікації свіжості м'яса курчат-бройлерів, який ґрунтувався на використанні фотометра фотоелектричного із застосуванням профільтрованої водної витяжки з м'яса курчат-бройлерів у співвідношенні 1:2 у кількості 2,5–3,0 см³ з додаванням 0,9–1,0 см³ реактиву Неслера та витримуванням упродовж 3–4 хвилин та подальшим центрифугуванням упродовж 5–6 хвилин за 1000 об/хв і вимірюванням оптичної густини інтенсивності забарвлення від оливково-жовтого до жовто-помаранчевого кольору витяжки в Белах (Б) у кюветі з товщиною поглинаючого

світла 1,0 см на фотометрі фотоелектричному за довжини хвилі $445 \pm 0,05$ нм (синій світлофільтр) при використанні як контрольної проби дистильованої води, що забезпечило достовірність результатів при встановленні свіжості м'яса курчат-бройлерів за зберігання й реалізації.

Запропонована експресна кількісна методика встановлення оптичної густини інтенсивності кольору м'ясо-водної витяжки і реактиву Неслера фотометричним методом може використовуватися для визначення безпечності та якості м'яса курчат-бройлерів у виробничих лабораторіях на потужностях з переробки м'яса і м'ясних продуктів, оптових базах під час зберігання, в супермаркетах, у державних лабораторіях Держпродспоживслужби України та в лабораторіях ветеринарно-санітарної експертизи на агропродовольчих ринках.

Розроблена експресна методика мала достовірність у визначенні кількісних показників щодо ідентифікації свіжості м'яса курчат-бройлерів у 99,9 %. Також більш достовірні дані – у 99,0–99,9 % були отримані порівняно з результатами досліджень мікроскопічного методу встановлення ступеня свіжості м'яса птиці та в 99,4–99,8 % – з результатами досліджень визначення вмісту аміно-аміачного азоту у м'ясі птиці.

Використовуючи розроблену експресну методику, було проведено випробування щодо встановлення свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів за реалізації на агропродовольчих ринках за визначення оптичної густини інтенсивності кольору м'ясо-водної витяжки і реактиву Неслера фотометричним методом на 36 досліджуваних пробах.

Результати встановлення свіжості м'яса курчат-бройлерів за розробленим експресним і загальноприйнятими методиками наведені в [таблиці 2](#).

Із даних [табл. 2](#) встановлено, що показники кількості мікроорганізмів та вмісту аміно-аміачного азоту у м'ясі курчат-бройлерів сумнівної свіжості та несвіжому мали високий ступінь достовірності ($P \leq 0,001$) порівняно з показниками свіжого м'яса курчат-бройлерів. Результати якісних реакцій за визначення аміаку і солей амонію з реактивом Неслера та реакції з сульфатом міді корегували із кількісними показниками різної свіжості м'яса курчат-бройлерів. Оптична густина інтенсивності оливково-жовтого забарвлення витяжки з м'яса птиці свіжого становила: у грудці – $0,898 \pm 0,060$ Бел, у стегні – $1,057 \pm 0,020$ Бел; інтенсивно жовтого забарвлення витяжки з м'яса птиці сумнівного ступеня: у грудці – $1,260 \pm 0,004$ Бел ($P \leq 0,01$), у стегні – $1,318 \pm 0,006$ Бел ($P \leq 0,001$); жовто-помаранчевого забарвлення витяжки з м'яса птиці несвіжого – у грудці – $2,265 \pm 0,020$ Бел ($P \leq 0,001$), у стегні – $2,432 \pm 0,012$ Бел ($P \leq 0,001$). М'ясо-водна витяжка після центрифугування залишалася прозорою за різної свіжості.

Таблиця 2

Показники безпечності та якості охолодженого м'яса курчат-бройлерів на агропродовольчих ринках за використання експресної методики з визначення оптичної густини інтенсивності кольору м'ясо-водної витяжки і реактиву Неслера фотометричним методом ($M \pm m$, $n = 36$)

Показники	Якість м'яса курчат-бройлерів					
	на 5 добу за температури 0–4 °C		на 6–7 добу за температури 0–4 °C		на 8 добу за температури 0–4 °C	
	М'ясо курчат-бройлерів свіже, $n = 12$		М'ясо курчат-бройлерів сумнівної свіжості, $n = 12$		М'ясо курчат-бройлерів несвіже, $n = 12$	
	Грудка	Стегно	грудка	стегно	грудка	стегно
Оптична густина інтенсивності м'ясо-водної витяжки і реактиву Неслера, Бел	оливково-жовтий колір		інтенсивний жовтий колір		жовто-помаранчевий колір	
	$0,898 \pm 0,060$	$1,057 \pm 0,020$	$1,260 \pm 0,004^{**}$	$1,318 \pm 0,006^{***}$	$2,265 \pm 0,020^{***}$	$2,432 \pm 0,012^{***}$
Визначення аміаку та солей амонію з реактивом Неслера	витяжка з м'яса зеленкувато-жовтого кольору, прозора		витяжка з м'яса інтенсивного жовтого кольору, значне помутніння з утворенням тонкого шару осаду		витяжка з м'яса жовто-помаранчевого кольору, швидке утворення крупних пластівців, що випадають в осад	
Кількість мікроорганізмів за мікроскопії м'яса	7 ± 1	4 ± 1	$23 \pm 2^{***}$	$20 \pm 2^{***}$	$49 \pm 2^{***}$	$40 \pm 2^{***}$
Вміст аміно-аміачного азоту, мг	$0,33 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,02$	$0,72 \pm 0,02^{***}$	$0,73 \pm 0,02^{***}$	$0,98 \pm 0,02^{***}$	$0,96 \pm 0,02^{***}$
Реакція з міді сульфатом	бульйон з м'яса прозорий блакитно-зеленого кольору		бульйон з м'яса прозорий блакитно-жовтого кольору з легким помутнінням		бульйон з м'яса має значне помутніння, утворення пластівців або випадання желеподібного згустку синьо-блакитного кольору	

Примітка: ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

Отже, за загальноприйнятими методиками і розробленою експресною методикою визначення оптичної густини інтенсивності кольору м'ясо-водної витяжки і реактиву Неслера фотометричним методом охолоджене м'ясо курчат-бройлерів відповідало свіжому, сумнівної свіжості та несвіжому. Встановлені кількісні показники за оптичною густиною були стабільними та достовірними, тому ці показники можна використовувати для визначення безпечності та якості охолодженого м'яса курчат-бройлерів на потужностях за виробництва та обігу поряд з іншими загальноприйнятими методиками.

Розроблена нами методика є експресною, простою у виконанні, а кількісні результати дають достовірні показники для ідентифікації свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів за оптичною густиною інтен-

сивності кольору м'ясо-водної витяжки і реактиву Неслера фотометричним методом.

Розроблена експресна методика пропонується нами для встановлення свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів поряд з іншими методиками лабораторного випробування м'яса – якісною реакцією виявлення аміаку і солей амонію, вмістом аміно-аміачного азоту, кількістю мікроорганізмів в м'ясі птиці, якісною реакцією на виявлення продуктів розпаду білків (реакція з міді сульфатом), органолептичними показниками.

3. Моніторинг свіжості м'яса курчат-бройлерів на агропродовольчих ринках та супермаркетах

Здійснювали моніторинг свіжості м'яса курчат-бройлерів на потужностях з обігу – агропродовольчих ринках і супермаркетах. Результати наведено в таблиці 3.

Таблиця 3

Моніторинг свіжості м'яса курчат-бройлерів на потужностях з обігу за використання загальноприйнятих та розроблених експресних методик, % ($n = 118$)

Всього досліджуваних зразків	Якість м'яса курчат-бройлерів					
	м'ясо курчат-бройлерів свіже		м'ясо курчат-бройлерів сумнівної свіжості		м'ясо курчат-бройлерів несвіже	
	Кількість проб	%	Кількість проб	%	Кількість проб	%
Агропродовольчі ринки						
$n = 58$	43	74,14	10	17,24	5	8,62
Супермаркети						
$n = 60$	40	66,67	13	21,67	7	11,66

За даними табл. 3 доходимо висновку, що найбільший відсоток свіжого м'яса курчат-бройлерів було виявлено за загальноприйнятими та розробленими експресними методиками при реалізації на агропродовольчих ринках – 74,14 % і в супермаркетах –

66,67 %; сумнівної свіжості відповідно – 17,24 та 21,67 %. Проте відсоток несвіжого м'яса курчат-бройлерів встановлено було на агропродовольчих ринках – 8,62 % і в супермаркетах – 11,66 %.

Отже, дані розроблені експресні методики можна використовувати для ідентифікації свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів під час виробництва, зберігання й реалізації.

Дані розроблені експресні методики ідентифікації свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів апробовані та впроваджені на потужностях з його виробництва та обігу і рекомендовані до роботи державним інспекторам ветеринарної медицини при здійсненні державного ризик-орієнтованого контролю безпечності та якості м'яса птиці.

Обговорення

Розроблені та запатентовані нами методи є експресними, простими у виконанні, а його результати дають надійні кількісні показники щодо ідентифікації свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів на 5, 6–7, 8 доби за температури (0–4) °C за встановлення числа Неслера та оптичної густини інтенсивності кольору м'ясо-водної витяжки і реактиву Неслера фотометричним методом. Необхідно розробляти методики маловартісні, швидкі, які забезпечують роботу інспекторів ветеринарної медицини під час здійснення ризик-орієнтованого контролю встановлення показників безпечності та якості м'яса птиці, що забезпечить встановлення ступеня свіжості за зберігання й реалізації м'яса курчат-бройлерів за охолодження (Savelli & Mateus, 2019; Rodionova & Paliy, 2017).

Зазначено, що науковці розробили оптимізований достовірний метод у 99,8 % за встановлення обсіменіння мікроорганізмами м'яса птиці свіжого, сумнівної свіжості і несвіжого за підрахуванням кількості мікроорганізмів шляхом зміни кількості мазків-відбитків та фарбування їх за Грамом у модифікації Хукера (Bukalova et al., 2015).

Ідентифікація безпечності та якості м'яса та м'ясних продуктів, в тому числі їхньої свіжості внаслідок забруднення мікроорганізмами, хімічними чи фізичними домішками та зміни їх морфологічного складу – є однією із важливих складових ланок контролю санітарно-гігієнічних вимог на харчових потужностях (Spink et al., 2019).

У наукових працях вчені вказують на необхідність розробки експресних та оптимізованих методик контролювання м'яса і м'ясних продуктів за їх виробництва та обігу для інформування про харчових ланцюг в діючих комплексних системах простежуваності та HACCP (Sentandreu & Sentandreu, 2014; Haidei et al., 2018).

Інспектори ветеринарної медицини при здійсненні ризик-орієнтованого контролю повинні використовувати прості випробування щодо встановлення показників безпечності та якості м'яса птиці на потужностях з виробництва та обігу м'яса птиці для підтвердження належних санітарно-гігієнічних вимог щодо термінів та режимів виробництва і зберігання продукції (Delgado-Pando et al., 2019).

Висновки

Розроблені експресні методики щодо ідентифікації свіжості охолодженого м'яса курчат-бройлерів за встановлення числа Неслера та оптичної густини інтенсивності кольору м'ясо-водної витяжки і реактиву Неслера фотометричним методом на потужностях зі зберігання й реалізації на 5, 6, 7, 8 доби за температури 0–4 °C. Достовірність показників ідентифікації свіжості м'яса курчат-бройлерів були достатньо високі – 99,9 %, що забезпечувало інформативність щодо встановлення свіжості м'яса внаслідок порушення санітарно-гігієнічних вимог і термінів зберігання. За моніторингу свіжості м'яса курчат-бройлерів встановлено, що при реалізації на агропродовольчих ринках і в супермаркетах відповідно: свіже м'ясо становило 74,14 і 66,67 %; сумнівної свіжості – 17,24 і 21,67 %; несвіже – 8,62 і 11,66 %.

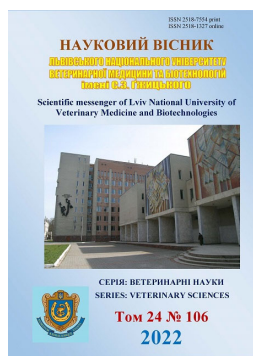
Відомості про конфлікт інтересів

Автор стверджує про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Barlow, S. M., Boobis, A. R., Brides, J., Cockburn, A. et al. (2015). The role of hazard- and risk-based approaches in ensuring food safety. *Trends in Food Science & Technology*, 46(2), 176–188. DOI: 10.1016/j.tifs.2015.10.007.
- Bohatko, A. F., Bohatko, N. M., Mazur, T. H., Bukalova, N. V., Prylipko, T. M., Liasota, V. P., Bakhur T. I., & Bohatko, L. M. (2021a). Patent Ukrainy No 147313. Kyiv: Ukrainskyi instytut intelektualnoi vlastnosti (in Ukrainian).
- Bohatko, A. F., Bohatko, N. M., Mazur, T. H., Dyman, T. M., Dudus, T. V., & Bohatko, L. M. (2021b). Patent Ukrainy No 147315. Kyiv: Ukrainskyi instytut intelektualnoi vlastnosti (in Ukrainian).
- Bohatko, N. M., Bukalova, N. V., Sakhniuk, V. V., & Dzhamil, V. I. (2016). Osoblyvosti vprovadzhennia systemy HACCP na m'iaso-, moloko- ta ryboprerobnykh pidpriemstvakh Ukrainy: navchalnyi posibnyk. Bila Tserkva (in Ukrainian).
- Bukalova, N. V., Bohatko, N. M., Prylipko, T. M., Hrubá, H. M., & Bohatko, D. L. (2015). Patent Ukrainy No 97931. Kyiv: Ukrainskyi instytut intelektualnoi vlastnosti. URL: <https://uapatents.com/6-97931-sposib-bakterioskopichnogo-ocinyuvannya-stupenya-obsimeninnya-myasa-ptici-mikroorganizmami.html> (in Ukrainian).
- Delgado-Pando, G., Alvarez, C., & Moran, L. (2019). From farm to fork: new strategies for quality evaluation on fresh meat and processed meat products. *Journal of Food Quality*, 2019, 4656842. DOI: 10.1155/2019/4656842.
- Doosti, A., Ghasemi, D. P., & Rahimi, E. J. (2014). Technol Molecular assay to fraud identification of meat products. *Food Science Technology*, 51(1), 148–152. DOI: 10.1007/s13197-011-0456-3.
- DSTU 3143:2013. M'iaso ptytsi. Zahalni tekhnichni umovy: Kyiv: Minekonomrozvytku Ukrainy

- (Natsionalnyi standart Ukrainy). URL: http://online.budstandart.com.ua/catalog/doc-page?id_doc=81578 (in Ukrainian).
- DSTU 8253:2015. M'iaso ptytsi. Metody khimichnoho analizuvannia svizhosti. Kyiv: DP "UkrNDNTs". (Natsionalnyi standart Ukrainy). URL: http://online.budstandart.com.ua/catalog/doc-page?id_doc=71556 (in Ukrainian).
- Fotina, T. I., Zapara, S. I., Fotina, H. A., & Fotin, A. V. (2016). HACCP system as pass for quality and safety products. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 2(3), 19–22. URL: http://jvmbbs.kharkov.ua/archive/2016/volume2/issue3/oJVMBBS_2016023_019-022.pdf
- Haidei, O. S., Balanchuk, I. S., & Tyshkivska, N. V. (2018). Problema falsyfikatsii m'iasnykh produktiv v Ukraini. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medytsyny*, 1, 5–9. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvvm_2018_1_3 (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.
- 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.
- Luybchyk, O., Mykyjchuk, M., & Vorobets, M. (2015). Development of operational quality control method for meat products. *Food & Environment Safety*, 14(2), 212–217. URL: <http://fens.usv.ro/index.php/FENS/article/view/35> (in Ukrainian).
- Omarov, R., Agarkov, A., Rastovarov, E., & Shlykov, S. (2017). Modern methods for food safety. *Engineering for rural development. Jelgava*, 960–963. DOI: 10.22616/ERDev2017.16.N195.
- Rehlament № 854/2004 Yevropeiskoho Parlamentu i Rady YeS pro vstanovlennia osoblyvykh pravyl orhanizatsii ofitsiinoho kontroliu nad produktsiieiu tvarynnoho pokhodzhennia. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_a67#Text (in Ukrainian).
- Rodionova, K. O., & Paliy, A. P. (2017). Analysis of quality and safety indicators of poultry meat during primary processing. *Veterinary medicine, biotechnology and biosafety*, 3(2), 5–9. URL: http://jvmbbs.kharkov.ua/archive/2017/volume3/issue2/oJVMBBS_2017032.pdf.
- Rodionova, K., Steshenko, V., & Yatsenko, I. (2020). Approximating Ukraine's laws to those of the European Union concerning meat and meat products cold chain. *Journal of Advanced Research in Law and Economic*, 9(3), 978–992. DOI: 10.14505/jarle.v11.3(49).34.
- Salata, V. (2018). Characteristics of the composition of the psychrotrophic microflora of frozen beef in the process of storage. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 20(83), 308–313. DOI: 10.15421/nvlvet8362.
- Savelli, C. J., & Mateus, C. A. (2019). Mixed-method exploration in to the experience of members of the FAO/WHO International Food Safety Authorities Network (INFOSAN): study protocol. *BMJ Open*, 9(5), e027091. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-027091.
- Savelli, C. J., Bradshaw, A., Embarek P. B., & Mateus, C. (2019). The FAO/WHO International Food Safety Authorities Network in Review, 2004–2018: Learning from the Past and Looking to the Future. *Foodborne Pathog Dis*, 16(7), 480–488. DOI: 10.1089/fpd.2018.2582.
- Sentandreu, M. A., & Sentandreu, E. (2014). Authenticity of meat products: Tools against fraud. *Food Research International*, 60, 19–29. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.03.030.
- Simonov, M., Stronskyi, I., Salata, V., Stronskyi, Y., Kladnytska, L., Kukhtyn, M., Tomchuk, V., Kozytska, T., & Tokarchuk, T. (2022). The effect of transportation and pre-slaughter detention on quality of pig meat. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 16, 80–91. DOI: 10.5219/1699.
- Singh, P., & Neelam, S. (2011). Meat species specifications to ensure the quality of meat: A review. *International Journal of Meat Science*, 1(1), 15–26. DOI: 10.3923/ijmeat.2011.15.26.
- Spink, J., Embarek, P. B., Savelli, C. J., & Bradshaw, A. (2019). Global perspectives on food fraud: results from a WHO survey of members of the International Food Safety Authorities Network (INFOSAN). *NPJ Science Food*, 3, 12. DOI: 10.1038/s41538-019-0044-x.
- Vojir, F., Schübl, E., & Elmadfa, I. (2012). The origins of a global standard for food quality and safety: Codex Alimentarius Austriacus and FAO/WHO Codex Alimentarius. *Int J Vitam Nutr Res*, 82(3), 223–227. DOI: 10.1024/0300-9831/a000115.
- Yatsenko, I. V., Holovko, N. P., & Bohatko, N. M. (2017). Bezpechnist i yakist produktiv zaboiu kurchat-broileriv za zbahachennia ratsionu tsytratom nanomolibdenu ta kormovoioi dobavkoioi "Probiks": Monohrafiia. Kharkiv: FOP Brovin O. V. (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/nvlvet10605

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

UDC 619:612. 017:636.3.084

Influence of microbial additive on the number of dominant intestinal microorganisms of piggies under action of stress weaning

O. I. Slepokura, I. A. Kolomiets[✉], L. S. Garmata, V. A. Kolotnytskiy, O. I. Kamratska

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

Article info

Received 21.03.2022

Received in revised form

21.04.2022

Accepted 22.04.2022

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-112-41-45
E-mail: kolomiecyrina@gmail.com

Slepokura, O. I., Kolomiets, I. A., Garmata, L. S., Kolotnytskiy, V. A., & Kamratska, O. I. (2022). Influence of microbial additive on the number of dominant intestinal microorganisms of piggies under action of stress weaning. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 29–33. doi: 10.32718/nvlvet10605

The article presents the results of the study of the number of dominant intestinal microorganisms in piglets during weaning for 28 days of life (under stress), as well as in different periods of resistance (20 and 60 days after weaning) and the inclusion in the diet of microbial supplements "Biovir". The experiments were performed on clinically healthy piglets 5–90 days of the age of the Poltava white breed. On the 28th day of life, the piglets were weaned from the sow, which served as industrial stress for the animals. Piglets of the experimental group were additionally fed from 5 to 45 days of age feed supplement "Biovir," the use and doses of which are agreed following the instructions and offered by the manufacturer – biotechnology company "Ariadna" in Odessa. The analysis of the obtained results indicates that during weaning (28 days of life) in the intestines of piglets that did not receive supplements of microbial origin "Biovir," the number of dominant microorganisms is within the specified age of animals, which is a sign of microorganisms, healthy animals and indicates a sufficient level of adaptive responses of their body. It was found that under stress in the ileum and colon of piglets that did not receive supplements, the number of dominant intestinal microorganisms is characterized by a decrease in bifidobacteria and lactobacilli, as well as the growth of *Escherichia coli* by an average of two orders of magnitude ($P < 0.05$), resistance 20 days after weaning. There was no stabilization of the number of groups of microorganisms studied in the intestines of piglets 60 days after weaning. The use of "Biovir" supplements in piglets from 5 to 45 days of age has a positive effect on the number of dominant intestinal microorganisms before and after exposure to weaning stress (at the stage of resistance) due to a stable and probably higher number of bifidobacteria and lactobacilli on average, by 15.8 % ($P < 0.05$), as well as redistribution of *Escherichia coli* even after cessation of feeding (60 days after weaning). The results show that the components of "Biovir" supplements – products of lactic acid and bifidobacteria metabolism – affect the function of the intestinal mucosa and help restore normal microflora.

Key words: lactobacillus, bifidobacteria, *E. coli*, microflora, intestine, piglets, weaning, stress, adaptation.

Вплив добавки мікробного походження на кількість домінуючих мікросимбіонтів кишечника поросят за дії стресу-відлучення

О. І. Слепокура, І. А. Коломієць[✉], Л. С. Гармата, В. А. Колотницький, О. І. Камрацька

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

У статті наведено результати дослідження кількості домінуючих мікросимбіонтів кишечника поросят у період відлучення на 28 добу життя (за дії стресу), а також у різні періоди розвитку стадії резистентності (через 20 та 60 діб після відлучення) та при включенні в раціон добавки мікробного походження "Біовір". Досліди проведені на клінічно здорових поросятах 5–90-добового віку полтавської білої породи. На 28 добу життя поросят відлучали від свиноматки, що слугувало промисловим стресом для орга-

нізму тварин. Поросят дослідної групи додатково з 5- до 45-добового віку згодовували кормову добавку “Біовір”, застосування та дози якої узгоджені відповідно до інструкції та запропоновані виробником – біотехнологічною компанією “Аріадна” м. Одеси. Аналіз отриманих результатів вказує на те, що у період відлучення (28 доба життя) у кишкового поросят, які не отримували добавки мікробного походження “Біовір”, кількість домінуючих мікросимбіонтів перебуває у межах, визначених для даного віку тварин, що є ознакою сформованого мікробіоценозу, клінічно здорових тварин та вказує на достатній рівень адаптаційних реакцій їх організму. Виявлено, що за дії стресу в клубовій та ободовій кишці поросят, які не отримували добавки, кількість домінуючих мікросимбіонтів кишкового характеризується зниженням біфідо- і лактобактерій, а також зростанням кишкової палички в середньому на два порядки ($P < 0,05$), насамперед на стадії резистентності через 20 діб після відлучення. Не встановлено стабілізації кількості досліджуваних нами груп мікроорганізмів кишкового поросят через 60 діб після відлучення. Використання в годівлі добавки “Біовір” з 5- до 45-добового віку поросят чинить позитивний вплив на кількість домінуючих мікросимбіонтів їх кишкового до та після дії стресу-відлучення (на стадії резистентності) за рахунок стабільно і вірогідно вищої кількості біфідо- і лактобактерій в середньому на 15,8 % ($P < 0,05$), а також перерозподілу кишкового палички навіть після припинення її згодовування (через 60 діб після відлучення). Отримані результати свідчать про те, що складові добавки “Біовір” – продукти метаболізму молочнокислих і біфідобактерій – впливають на функцію слизової оболонки кишкового і сприяють відновленню нормальної мікрофлори.

Ключові слова: лактобактерії, біфідобактерії, кишкова паличка, мікробіота, кишечник, поросята, відлучення, стрес, адаптація.

Вступ

Відомо, що ранній постнатальний період онтогенезу поросят-сисунів характеризується “природним дисбактеріозом”, оскільки процес колонізації біфідо- і лактофлорою відбувається в кишкового лише до 20–25-добового віку тварин (Han et al., 2019; Che et al., 2019; Tan et al., 2019). Літературні дані переконливо доводять, що біфідо- і лактофлора домінує в кишкового здорових тварин як за чисельністю, так і за фізіологічною значущістю, в чому детермінуючою є її участь в кооперації з макросимбіотом для забезпечення колонізаційної резистентності (Zhang et al., 2016; Valero-Cases et al., 2020). Механізм дії домінуючих мікросимбіонтів полягає у зміні міжмкробної взаємодії шляхом стимуляції вироблення секреторних анти-тіл, процесів фагоцитозу, кліренсу, конкуренції за лімітуючі поживні речовини і за місця прикріплення до кишкової стінки, розщеплення і нейтралізації інгібувальних речовин, синтезу лізоциму та інтерферону, утворення ацетатного буферу, перекису водню, антибіотикоподібних речовин, летких жирних кислот і т. д. (Hedemann & Jensen, 2004; Ren et al., 2022; Tian et al., 2022). Раннє відлучення поросят-сисунів від свиноматки та зміна годівлі стає додатковим надпороговим стресором (Danchuk et al., 2020), який не відповідає рівню детермінованих адаптаційно-компенсаторних можливостей організму тварин, виходячи з того, що ця вікова група має недосконалу та незрілу систему імунного захисту, що веде до розвитку ендогенної інфекції, супроводжується розвитком шлунково-кишкових захворювань (Stojanovskyj & Ogrodnyk, 2016; Khalak et al., 2020; 2021). Актуальним залишається ефективність застосування добавок мікробного походження для збереження колонізаційної резистентності біфідо- і лактофлори, для зменшення числа і спектру потенційно патогенних мікроорганізмів та їх транслокації через стінку кишкового, тому метою роботи було з’ясувати загальну кількість лакто-, біфідобактерій та кишкового палички у кишкового поросят до та після дії стресу-відлучення при включенні в раціон добавки мікробного походження “Біовір”.

Матеріал і методи досліджень

Досліди проведені на клінічно здорових поросятах 5–90-добового віку полтавської білої породи. Забій тварин проводили після легкого хлороформного наркозу методом гострого знекровлення. Всі маніпуляції з поросятами, які були задіяні в експерименті, проводили згідно з Європейською конвенцією “Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей” (Страсбург, 1986 р.) і “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та дотриманням принципів гуманності, викладеними у директиві Європейської Спільноти.

Дослід зі згодовуванням поросятм добавки мікробного походження “Біовір” проведений в умовах ННВЦ “Давидівський” Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Для досліджень було сформовано дві групи поросят – контрольна (К) і дослідна (Д), у кількості 15 особин у кожній групі. Починаючи з 5-добового віку поросят усіх груп підгодовували престартерним комбікормом, а поросятм Д групи додатково з 5- до 45-добового віку згодовували кормову добавку “Біовір”, застосування та дози якої узгоджені відповідно до інструкції та запропоновані виробником – біотехнологічною компанією “Аріадна” м. Одеси. До складу добавки входить комплекс активованих низькомолекулярних пептидів клітинної стінки бактерій *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* і продуктів їх метаболізму (молочна, оцтова кислоти, лізоцим, реутерин, плантарицин, лактоцидин, лактолін, ацидофілін) у загальній кількості 700 г/кг, а також бурштинова кислота у загальній кількості 300 г/кг. Добавку згодовували у вигляді сухого порошку з розрахунку 10 мг/кг маси тіла на добу для поросят-сисунів (0,8–1,0 кг/1 т корму), для поросят при відлученні (1,2–1,5 кг/1 т стартерного комбікорму), для поросят на вирощуванні до 40 кг (1,5–2 кг/1 т гроверного комбікорму), яку змішували спочатку з невеликою кількістю корму, а потім отриману суміш додавали до основної маси корму та перемішували, не допускаючи нагрівання до

температури вище ніж 400 °С. На 28 добу життя поросят відлучали від свиноматки, що слугувало промисловим стресом для організму тварин. Для виконання завдання вранці – до годівлі тварин із кожної групи поросят на 28 добу життя (відлучення), на 48 добу життя (20 доба після відлучення, що відповідає стадії резистентності за Г. Сельє), на 88 добу життя (60 доба після відлучення, що відповідає стадії резистентності за Г. Сельє) відбирали по три тварини, проводили забій і отримували відрізки товстих кишок разом із вмістом.

У вмісті клубової та ободової кишки визначали загальну кількість лакто-, біфідобактерій, кишкової палички. Виділення та ідентифікацію мікроорганізмів проводили за багатоступеневою системою, яка включала виділення чистої культури, вивчення культуральних, морфологічних, тинкторіальних та біохімічних властивостей культур за методиками, описаними Таракановим Б. В. (1998). Отримані числові значення загальної кількості мікроорганізмів за допомогою Microsoft Excel переводили в $\log_{10}$ для подальшої статистичної обробки одержаних цифрових даних, які проводили за допомогою програми Statystika для Windows XP з використанням t-критерію Стюдента. Визначали ступінь вірогідності різниці (p) між досліджуваними показниками поросят К і Д груп. Результати середніх значень вважали статистично вірогідними при $P < 0,05$ – *, $P < 0,01$ – **, $P < 0,001$ – ***.

Результати та їх обговорення

Досліджуючи кількість домінуючих мікросимбіонтів клубової кишки поросят за умови відлучення, було встановлено, що на 28 добу життя у тварин К групи

кількість біфідобактерій складала $8,02 \pm 0,37 \lg \text{ КУО/г}$, відмінностей між Д групою не виявлено (рис. 1А). Кількість лактобактерій в поросят К групи становила $7,09 \pm 0,61 \lg \text{ КУО/г}$, у тварин Д групи була більшою на 27,8 % ($P < 0,05$). Кількість кишкової палички у вмісті клубової кишки поросят К і Д групи перебувала в межах чотирьох порядків. Через 20 діб після відлучення, що відповідає стадії резистентності (за Сельє), у клубовій кишці поросят К групи виявлено зменшення кількості біфідо- та лактобактерій на два порядки порівняно з періодом до відлучення (рис. 1А). Використання добавки “Біовір” у раціоні поросят з 5- до 45-добового віку сприяло підвищенню кількості біфідобактерій на 34,6 % ($P < 0,01$), лактобактерій – на порядок, порівняно з тваринами К групи. Кількість кишкової палички у вмісті клубової кишки поросят К групи була вищою на два порядки, порівняно з 28 добою життя. У тварин Д групи кількість кишкової палички була на порядок вищою порівняно з контролем, проте вірогідних міжгрупових різниць виявлено не було.

Через 60 діб після відлучення не спостерігали тенденції до збільшення кількості біфідо- і лактобактерій у клубовій кишці поросят К групи, їхні числові значення не наближалися до величини цих показників поросят на 28 добу життя (рис. 1А). Згодовування добавки “Біовір” поросят Д групи сприяло збільшенню кількості біфідо- і лактобактерій на 24,8 % ($P < 0,05$) і 22,8 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем, що вказує на пролонговану дію добавок в організмі тварин. Кількість кишкової палички у вмісті клубової кишки поросят К групи становила $4,56 \pm 0,36 \lg \text{ КУО/г}$, що наближалось до величини 28 доби життя, у поросят Д групи – підвищувалася на порядок без вірогідних змін щодо контролю.

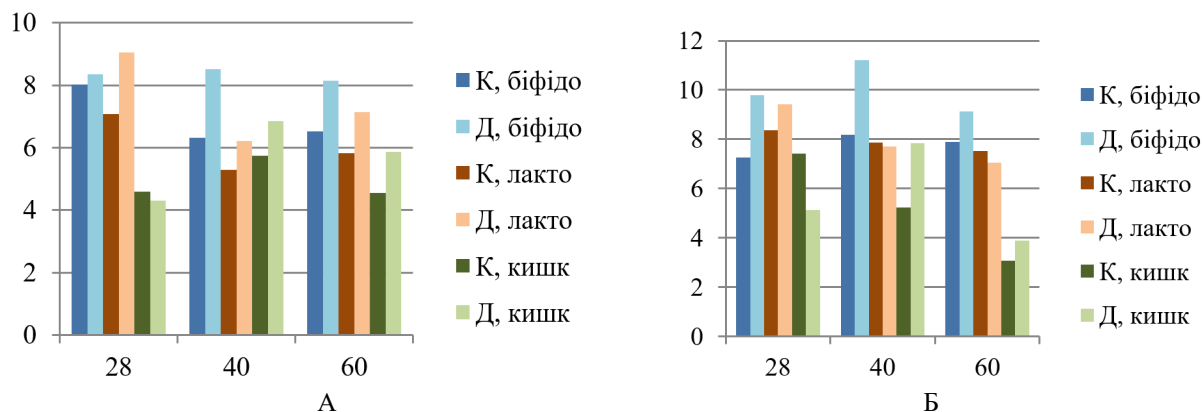


Рис. 1. Динаміка складу домінуючих мікросимбіонтів клубової (А) та ободової (Б) кишки поросят у різні стресорні періоди при згодовуванні добавки “Біовір”, $\lg \text{ КУО/г}$ ($M \pm m$, $n = 3$)

Досліджуючи кількість домінуючих мікросимбіонтів ободової кишки поросят за умови раннього відлучення (рис. 1Б) було встановлено, що на 28 добу життя у тварин К групи кількість біфідобактерій становила $7,27 \pm 0,67 \lg \text{ КУО/г}$, у поросят Д групи – збільшувалася на 34,8 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем. У вмісті ободової кишки поросят К і Д групи кількість лактобактерій перебувала в межах $8,37 \pm 0,70 \lg \text{ КУО/г}$. Кількість кишкової палички поросят К групи складала $7,43 \pm 0,51 \lg \text{ КУО/г}$, у

тварин Д групи – знижувалася на 30,9 % ($P < 0,05$), порівняно з контролем. Через 20 діб після відлучення у вмісті ободової кишки поросят К групи кількість біфідобактерій становила $8,18 \pm 0,54 \lg \text{ КУО/г}$, що було на порядок вище, порівняно з періодом відлучення (рис. 1Б). У поросят Д групи виявлено збільшення кількості біфідобактерій на 37,0 % ($P < 0,01$), порівняно з контролем. У вмісті ободової кишки поросят К групи кількість лактобактерій була нижчою на порядок порівняно з періодом відлучення.

ня. На цьому рівні перебувала кількість лактобактерій у порожнині ободової кишки поросят Д груп. Кількість кишкової палички в поросят К групи зменшувалася на два порядки порівняно з періодом до відлучення. В поросят Д групи величина досліджуваного показника була вищою на 16,2 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Через 60 діб після відлучення кількість біфідобактерій у поросят К групи наближалася за числовим значенням до поросят 28-добового віку, тимчасом як у поросят Д групи виявлено збільшення їхньої кількості на 15,8 % ($P < 0,05$), порівняно з контролем. Кількість лактобактерій у поросят К групи у цьому відділі кишок була нижчою на порядок, порівняно з періодом відлучення, вірогідних міжгрупових різниць між К і Д групою не виявлено. Кількість кишкової палички у вмісті ободової кишки поросят К групи складала $3,09 \pm 0,76 \lg \text{ КУО/г}$, що було нижчим на чотири порядки, порівняно з періодом відлучення; у поросят Д групи – залишалася на рівні контролю.

Аналіз отриманих результатів вказує на те, що у період відлучення (28 доба життя) у кишечнику поросят К групи кількість домінуючих мікросимбіонтів перебуває у межах, визначених для даного віку тварин, що є ознакою сформованого мікробіоценозу, клінічно здорових тварин та вказує на достатній рівень адаптаційних реакцій їх організму (Kanitz et al., 2014; Stoyanovsky et al., 2018). Через 20 діб після відлучення виявлено зниження кількості біфідо- і лактобактерій, а також зростання кількості кишкової палички в середньому на два порядки у вмісті клубової кишки поросят К групи. Через 60 діб після відлучення отримані числові значення не наближались до величини тварин 28-добового віку. Отримані результати можна пояснити зміною типу живлення поросят, що обумовлювало перерозподіл домінуючих мікросимбіонтів кишечнику тварин з метою адаптації до нових умов існування (Martyshuk et al., 2019; 2020; 2021). Але водночас такий перерозподіл підвищує можливість адгезії непатогенних мікроорганізмів до епітелію, що може змінювати імунні реакції та впливати на стан кишкового імунного бар'єру (Kerry et al., 2018). Використання добавки "Біовір" у раціоні поросят з 5- до 45-добового віку сприяло збільшенню кількості домінуючих мікросимбіонтів кишечнику тварин на 28 добу життя, а також через 20 діб після відлучення (в основному за рахунок вірогідного зростання кількості біфідобактерій в клубовій та ободовій кишці та кількості лактобактерій). Згодовування добавки "Біовір" сприяло стабілізації кількісного складу домінуючих мікросимбіонтів кишечнику поросят за рахунок стабільно і вірогідно вищої кількості біфідо- і лактобактерій, а також перерозподілу кишкової палички навіть після припинення згодовування добавок (через 60 діб після відлучення), що вказує на їх пролонговану дію в організмі тварин (Gutyj et al., 2017). Отримані результати можна пояснити тим, що складові добавки "Біовір" – продукти метаболізму молочнокислих і біфідобактерій – впливають на функцію слизової оболонки кишечнику і сприяють відновленню нормальної мікрофлори кишечнику. В основі механізму дії лежить їхня здатність підвищувати

енергозабезпечення епітеліальних клітин, тобто включення в цикл Кребса низькомолекулярних метаболітів, які утворюються в результаті відщеплення моносахаридних фрагментів слизу і продуктів екзогенного походження під дією позаклітинних глікозидаз анаеробів-сахаролітиків (Kapustian et al., 2018). При розщепленні полісахаридів і глікопротеїдів позаклітинними глікозидазами мікробного походження утворюються моносахариди (глюкоза, галактоза), при окисленні яких виділяється у вигляді тепла не менше 60 % вільної енергії, яка може слугувати субстратом для росту і розвитку нормофлори кишечнику поросят.

Висновки

Виявлено, що за дії стресу в клубовій та ободовій кишці поросят, які не отримували добавки мікробного походження "Біовір", кількість домінуючих мікросимбіонтів кишечнику характеризується зниженням біфідо- і лактобактерій, а також зростанням кишкової палички в середньому на два порядки ($P < 0,05$), насамперед на стадії резистентності через 20 діб після відлучення. Не встановлено стабілізації кількості досліджуваних нами груп мікроорганізмів кишечнику поросят через 60 діб після відлучення. Використання в годівлі добавки "Біовір" з 5- до 45-добового віку поросят чинить позитивний вплив на кількість домінуючих мікросимбіонтів їх кишечнику до та після дії стресу-відлучення (на стадії резистентності) за рахунок стабільно і вірогідно вищої кількості біфідо- і лактобактерій в середньому на 15,8 % ($P < 0,05$), а також перерозподілу кишкової палички навіть після припинення її згодовування (через 60 діб після відлучення).

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується дослідження кількості основних представників мікробіоти кишечнику поросят на ранніх етапах постнатального онтогенезу.

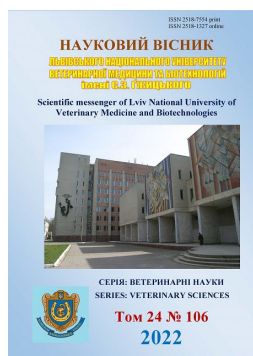
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Che, D., Adams, S., Wei, C., Gui-Xin, Q., Atiba, E. M., & Hailong, J. (2019). Effects of Astragalus membranaceus fiber on growth performance, nutrient digestibility, microbial composition, VFA production, gut pH, and immunity of weaned pigs. *Microbiologyopen*, 8(5), e00712. doi: 10.1002/mbo3.712.
- Danchuk, O. V., Broshkov, M. M., Karpovsky, V. I., Bobrytska, O. M., Tsvivlikhovsky, M. I., Tomchuk, V. A., Trokoz V. O., & Kovalchuk I. I. (2020). Types of higher nervous activity in pigs: characteristics of behavior and effects of technological stress. *Neurophysiology*, 52, 358–366. DOI: 10.1007/s11062-021-09892-7.
- Gutyj, B., Leskiv, K., Shcherbatyy, A., Pritsak, V., Fedorovych, V., Fedorovych, O., Rusyn, V., & Kolomiets, I. (2017). The influence of Metisevit on

- biochemical and morphological indicators of blood of piglets under nitrate loading. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(3), 427–432. DOI: 10.15421/021766.
- Han, C., Dai, Y., Liu, B., Wang, L., Wang, J., & Zhang, J. (2019). Diversity analysis of intestinal microflora between healthy and diarrheal neonatal piglets from the same litter in different regions. *Anaerobe*, 55, 136–141. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2018.12.001.
- Hedemann, M. S., & Jensen, B. B. (2004). Variations in enzyme activity in stomach and pancreatic tissue and digesta in piglets around weaning. *Archives of Animal Nutrition*, 58(1), 47–59. DOI: 10.1080/00039420310001656677.
- Kanitz, E., Hameister, T., & Tuchscherer, M. (2014). Social support attenuates the adverse consequences of social deprivation stress in domestic piglets. *Horm. Behav.*, 65(3), 203–210. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2014.01.007.
- Kapustian, A., Chernov, N., & Kolomiets, I. (2018). Obtaining and characteristic of muropeptides of probiotic cultures cell walls. *Food Science and Technology*, 12(1), 10–17. DOI: 10.15673/fst.v12i1.885.
- Kapustian, A., Chernov, N., Stankevich, G., Kolomiets, I., Matsjuk, O., Musiy, L., & Slyvka, I. (2018). Determination of the enzyme destruction rational mode of biomass autolysate of lactic acid bacteria. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies: technology and equipment of food production*, 11(91), 63–69. DOI: 10.15587/1729-4061.2018.120877.
- Kerry, R. G., Patra, J. K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H. S., & Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: a review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(3), 927–939. DOI: 10.1016/j.jfda.2018.01.002.
- Khalak, V., Guttyj, B., Bordun, O., Ilchenko, M., & Horchanok, A. (2020). Effect of blood serum enzymes on meat qualities of piglet productivity. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(1), 158–161. DOI: 10.15421/2020_25.
- Khalak, V., Guttyj, B., Bordun, O., Horchanok, A., Ilchenko, M., Smyslov, S., Kuzmenko, O., & Lytvynshchenko, L. (2020). Development and reproductive qualities of sows of different breeds: innovative and traditional methods of assessment. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(2), 356–360. DOI: 10.15421/2020_109.
- Khalak, V., Guttyj, B., Stadnytska, O., Shuvar, I., Balkovskyi, V., Korpita, H., Shuvar, A., & Bordun, O. (2021). Breeding value and productivity of sows of the Large White breed. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(1), 319–324. DOI: 10.15421/2021_48.
- Martyshuk, T. V., Guttyj, B. V., Vishchur, O. I., & Todoruk, V. B. (2019). Biochemical indices of piglets blood under the action of feed additive “Butaselmavit-plus”. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 2(2), 27–30. DOI: 10.32718/ujvas2-2.06.
- Martyshuk, T. V., Guttyj, B. V., Zhelavskiy, M. M., Midyk, S. V., Fedorchenko, A. M., Todoruk, V. B., Nahirniak, T. B., Kisera, Ya. V., Sus, H. V., Chemerys, V. A., Levkivska, N. D., & Iglitskej, I. I. (2020). Effect of Butaselmavit-Plus on the immune system of piglets during and after weaning. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(2), 347–352. DOI: 10.15421/2020_106.
- Martyshuk, T., Guttyj, B., & Khalak, V. (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.
- Ren, W., Yu, B., Yu, J., Zheng, P., Huang, Z., Luo, J., Mao, X., He, J., Yan, H., Wu, J., Chen, D., & Luo, Y. (2022). Lower abundance of Bacteroides and metabolic dysfunction are highly associated with the post-weaning diarrhea in piglets. *Sci China Life Sci*, 21. DOI: 10.1007/s11427-021-2068-6.
- Stojanovskyj, V., & Oгородnyk, M. (2016). Function of intestinal immune barrier of piglets under technological stress. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 18(3(71)), 112–116. DOI: 10.15421/nvlvet7126.
- Stoyanovskyj, V. G., Kamratska, O. I., Kolomiets, I. A. & Slepokura, O. I. (2018). To studying the development of technological stress in the organism of piglets during the influence of the feed additives “Pramiks Bionorm K”. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 20(87), 8–12. DOI: 10.15421/nvlvet8702.
- Tan, Z., Dong, W., Ding, Y., Ding, X., Zhang, Q., & Jiang, L. (2019). Porcine Epidemic Diarrhea Altered Colonic Microbiota Communities in Suckling Piglets. *Genes (Basel)*, 11(1), 44. DOI: 10.3390/genes11010044.
- Tian, S., Wang, J., Wang, J., & Zhu, W. (2022). Differential Effects of Early-Life and Postweaning Galactooligosaccharide Intervention on Colonic Bacterial Composition and Function in Weaning Piglets. *Appl Environ Microbiol*, 88(1), e0131821. DOI: 10.1128/AEM.01318-21.
- Valero-Cases, E., Cerdá-Bernad, D., Pastor, J. J., & Frutos, M. J. (2020). Non-dairy fermented beverages as potential carriers to ensure probiotics, prebiotics, and bioactive compounds arrival to the gut and their health benefits. *Nutrients*, 12(6), 1666. DOI: 10.3390/nu12061666.
- Zhang, D., Ji, H., Liu, H., Wang, S., Wang, J., & Wang, Y. (2016). Changes in the diversity and composition of gut microbiota of weaned piglets after oral administration of Lactobacillus or an antibiotic. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100(23), 10081–10093. DOI: 10.1007/s00253-016-7845-5.



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/nvlvet10606

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

UDC 619:618.312.2-002:637.438

Dynamics of individual biochemical parameters of blood of intact white mice under the action of the drug “Vitosept”

V. M. Hunchak¹, M. P. Soltys¹✉, B. V. Gutyj¹, A. V. Hunchak², R. O. Vasiv¹, I. I. Khariv¹

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

²Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

Article info

Received 21.03.2022

Received in revised form

21.04.2022

Accepted 22.04.2022

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

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

Hunchak, V. M., Soltys, M. P., Gutyj, B. V., Hunchak, A. V., Vasiv, R. O., & Khariv, I. I. (2022). Dynamics of individual biochemical parameters of blood of intact white mice under the action of the drug “Vitosept”. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 34–42. doi: 10.32718/nvlvet10606

The active substance of the drug “Vitosept” is high-purity sodium hypochlorite (HPSH), obtained by the direct electrochemical reaction on a newly developed diaphragm-free flow cell, bypassing the formation of molecular chlorine. The developers (Altapharm, Dnipro) used an isotonic (0.9 %) sodium chloride solution prepared in water purified by special technology as the starting electrolyte. The study aimed to determine the effect of different concentrations of Vitosept on the dynamics of serum biochemical parameters of intact white mice. During our research, we found that intragastric administration of even the highest concentrations (500 mg/L) of the drug “Vitosept” did not cause the death of animals or visible signs of intoxication. According to the analysis of clinical manifestations, behavioral reactions, assessment of discomfort, reflex reactions, and the course of metabolic processes, the animals of the experimental groups did not differ from the analogs of the control group. Assessing the protein-synthesizing function of the liver, it was found that the total protein content in the serum of white mice depended on the concentrations of the studied hypochlorite-containing drug and the duration of its receipt. In the animals of the first, second, and third experimental groups during the whole period of the experiment (20 days), the level of total protein in the serum was close to that of the animals of the control group. In animals of groups R4 and R5, on the 10th day of the experiment with the highest applied concentrations of Vitosept (400 and 500 mg/L), the content of total protein in the serum of white mice probably decreased by 8.3 and 7.7 %. It is established that such reduction occurs against the background of changes in the fractional composition of proteins. In white mice of group R5 on the 10th day of the experiment revealed a decrease in blood glucose by 5.9 % ($P < 0.05$), urea – by 7.4 % ($P < 0.05$), creatinine – by 9.1 % ($P < 0.05$). The activity of alkaline phosphatase was 32.1 % ($P < 0.05$) and GGTP – 70 % ($P < 0.05$) higher than in the blood of animals of the control group. On the 20th day of the experiment, the level of the studied indicators decreased slightly compared to the similar ones on the 10th day. It was within the limit values, although in most cases, it still differed from the indicators of the animals of the control group. It is obvious that when too high concentrations of even a slightly toxic drug are received, the animal's body reacts with a compensatory-adaptive reaction to the arrival of a foreign substance. Thus, we state that the hypochlorite-containing drug “Vitosept” with the long-term intragastric intake of white mice did not cause hepato- and nephrotoxic effects and revealed some deviations in biochemical parameters in animals of the fourth and fifth groups, on the background of 400–500 mg/L, is most likely the result of adaptive-compensatory response to the intake of the test substance.

Key words: sodium hypochlorite, subacute toxicity, white mice, blood biochemical parameters.

Динаміка окремих біохімічних показників крові інтактних білих мишей за дії препарату “Вітосепт”

В. М. Гунчак¹, М. П. Солтис¹✉, Б. В. Гутій¹, А. В. Гунчак², Р. О. Васів¹, І. І. Харів¹

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

²Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

Діючою речовиною препарату “Вітосепт” є високочистий натрію гіпохлорит (ВНГХ), одержаний в прямій електрохімічній реакції на новорозробленому бездіафрагмовому проточному електролізері, минаючи процес утворення молекулярного хлору. Як вихідний електроліт розробники (фірма “Альтафарм”, м. Дніпро) використовували ізотонічний (0,9 %) розчин натрію хлориду, приготовлений на воді, очищений за спеціальною технологією. Завданням досліджень було з’ясувати вплив різних концентрацій “Вітосепту” на динаміку біохімічних показників сироватки крові інтактних білих мишей. У процесі проведених досліджень нами встановлено, що внутрішньошлункове введення навіть найвищих концентрацій (500 мг/л) препарату “Вітосепт” не викликало загрозливих тварин чи видимих ознак інтоксикації. За аналізом клінічного прояву, поведінкових реакцій, оцінкою дискомфорту, рефлексними реакціями, перебігом метаболічних процесів тварини дослідних груп нічим не відрізнялися від аналогів групи контролю. Оцінюючи протеїнсинтезальну функцію печінки, встановлено, що вміст протеїну загального в сироватці крові білих мишей залежав від концентрацій досліджуваного гіпохлоритвмісного препарату і тривалості його поступлення. У тварин першої, другої і третьої дослідних груп упродовж всього періоду досліду (20 діб) рівень загального протеїну в сироватці крові був близьким до показника тварин контрольної групи. У тварин групи Д₄ і Д₅ на 10 добу досліду за поступлення найвищих стосованих концентрацій “Вітосепту” (400 і 500 мг/л) вміст загального протеїну в сироватці крові білих мишей вірогідно знижувався на 8,3 і 7,7 %. Встановлено, що таке зменшення відбувається на тлі зміни фракційного складу протеїнів. У білих мишей групи Д₅ на 10 добу досліду виявлено зменшення в крові концентрації глюкози на 5,9 % ($P < 0,05$), сечовини – на 7,4 % ($P < 0,05$), креатиніну – на 9,1 % ($P < 0,05$). При цьому активність лужної фосфатази була на 32,1 % ($P < 0,05$) а ГГТП – на 70 % ($P < 0,05$) вищою, ніж у крові тварин групи контролю. На 20 добу досліду рівень досліджуваних показників порівняно з аналогічними на 10 добу дещо зменшувався, перебував у межах лімітних величин, хоч у більшості випадків ще відрізнявся від показників тварин контрольної групи. Очевидно, що за поступлення надто високих концентрацій навіть слаботоксичного препарату організм тварин реагує компенсаторно-приспосовальною реакцією на поступлення чужорідної речовини. Таким чином констатуємо, що гіпохлоритвмісний препарат “Вітосепт” за довготривалого внутрішньошлункового поступлення в організм білих мишей не спричиняє гепато- і нефротоксичної дії, а виявлені окремі відхилення біохімічних показників у тварин четвертої і п’ятої груп, на тлі введення препарату в концентрації 400-500 мг/л, є, найімовірніше, результатом пристосувально-компенсаторної реакції на поступлення досліджуваної речовини.

Ключові слова: натрію гіпохлорит, підгостра токсичність, білі миші, біохімічні показники крові.

Вступ

Проблема якості й безпеки лікарських засобів стає все більш актуальною у світі та в Україні зокрема. Це пов’язано насамперед з тим, що у медичній і ветеринарній практиці зростає впровадження нових лікарських засобів з високою біологічною активністю, застосування яких може супроводжуватись виникненням різних за проявом побічних ефектів (Mandyhra et al., 2012; Palii et al., 2014; Khalifa et al., 2021).

Появі нового лікарського засобу на ринку ветеринарних препаратів передувє тривалий і складний процес його дослідження, в якому токсикологічним експериментам відводиться значна роль (Litvinova et al., 2001; Kotsiumbas, 2006; Issa et al., 2017).

Лікарські речовини, які визначають фармакологічну активність нових препаратів відповідно до вимог нормативно-технічної документації, мають зараховуватися до класу високочистих. Наявність в них навіть незначної кількості домішок може призводити до небажаних наслідків (Zhungietu & Granik, 2000; Dajani et al., 2016; Gutty et al., 2017; 2018; Varkholiak et al., 2021). Джерелами забруднення лікарської субстанції часто є недостатня очистка сировини і допоміжних матеріалів, які використовують у синтезі, а також відхилення від технологічних процесів або їхня недосконалість, що ведуть до утворення побічних продуктів (Todorik et al., 2018). Проблемою часто виступає недостатня очистка кінцевих продуктів, неправильне зберігання препарату тощо (Lide, 2005; Panas & Kornichuk, 2014; Girenko & Velichenko, 2014).

Останнім часом все більше з’являється наукових повідомлень про використання електрохімічних методик в лікуванні гнійних ран у тварин. Найчастіше мова йде про оксигенвмісні препарати та гіпохлорит

натрію (Abuhaimeid & Abou Neel, 2017; Osono et al., 2021). Не піддаючи сумніву здатність останнього проявляти антисептичну дію, вважають, що безпечність цієї хімічної компоненти в токсикологічному плані (наявність чи відсутність як домішок хлоритів, хлорорганічних сполук, іонів перехідних метаболітів) не завжди ідеальна і залежить від технології утримання гіпохлоритів і зокрема – від типу електролізера (Kotsiumbas et al., 2009; Diab et al., 2013; Brezvy et al., 2020).

Пропонований нами фрагмент наукових досліджень є результатом проведених спільних досліджень із фірмою “Альтафарм” (м. Дніпро) щодо з’ясування доклінічних характеристик безпеки і якості препарату “Вітосепт” за умов застосування його у практиці ветеринарної медицини. Діючою речовиною наданого нам для дослідження препарату “Вітосепт” є високочистий натрію гіпохлорит, одержаний за прямої електрохімічної реакції в спеціально розробленому бездіафрагмовому проточному електролізі, минаючи процес утворення молекулярного хлору. Як вихідний електроліт розробники використовували ізотонічний (0,9 %) розчин натрію хлориду, приготовлений на воді, очищений за спеціальною технологією. Вважається, що за такого способу отримання натрію гіпохлориту в одержаному розчині відсутні домішки органічних речовин та іонів перехідних металів, які впливають на організм тварин (Kotsiumbas et al., 2009; Girenko & Velichenko, 2014).

І. Я. Коцюмбас і співавтори (2006) у своїй монографії відзначають, що дослідження токсичності досліджуваного засобу або його діючої субстанції дозволяє встановити рівень токсичності та визначити співвідношення між дозою і токсичним ефектом, з’ясувати видову та статеву чутливість лабораторних тварин до дії

досліджуваної речовини в умовах гострого і підгострого дослідів. Основою ж хронічних токсикологічних досліджень є виявлення ступеня шкідливої дії препарату, за умови довготривалого його поступлення в організм піддослідних тварин та установлення найбільш чутливих органів і систем організму (Kotsiumbas, 2006; Yoshino et al., 2019; Li et al., 2020). До того ж практичне значення має також вивчення ступеня зворотного відновлення функції на тлі дії досліджуваного препарату. Нами проведено дослідження токсичності препарату “Вітосепт” не лише на лабораторних щурах, а й на білих мишах, оскільки це відповідає сучасним вимогам щодо доклінічних досліджень нових засобів для практики ветеринарної медицини, а подібність отриманих результатів на різних видах піддослідних тварин підтверджуватиме ймовірність безпомилкового прогнозу за екстраполяції токсикологічних даних на сільськогосподарські тварини (Litvinova et al., 2001).

Метою досліджень було з’ясувати в умовах підгострого дослідів вплив різних концентрацій препарату “Вітосепт” на динаміку біохімічних показників сироватки крові інтактних білих мишей, оскільки біохімічна оцінка дії лікарських препаратів відіграє важливу роль у прогнозі його побічних впливів на організм тварин.

Матеріал і методи досліджень

Експериментальні дослідження, пов’язані з вивченням токсикологічних параметрів новоствореного гіпохлоритвмісного препарату “Вітосепт” проводились в умовах віварію Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів і кормових добавок (ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок, м. Львів) на лабораторних тваринах, зокрема на білих інтактних мишах.

Експерименти на тваринах проводили відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментах і для інших наукових цілей (ETS 123. Страсбург, 1986) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) (Yevropeiska konventsia).

Для вивчення впливу різних концентрацій препарату “Вітосепт” на біохімічні показники крові білих мишей було сформовано 6 груп тварин масою тіла 19–24 г (одну контрольну (К) і п’ять дослідних (Д₁–Д₅) по 15 у кожній).

За планування експерименту важливим було обрати шлях введення досліджуваного засобу. Нами використано один із поширених способів перорального задавання, а саме препарат “Вітосепт” в різних концентраціях вводили білим мишам безпосередньо в шлунок за допомогою шприца з металевим зондом (голка з тупим кінцем). За такого поступлення досліджуваної речовини забезпечується точність дозування і, крім того, нівелюється можливість її місцевого впливу на слизові оболонки ротової порожнини і стравоходу. Стосовно досліджуваних доз виходило з того, що основним завданням хронічного експерименту є встановлення граничних (мінімальних) концентрацій досліджуваної речовини, а також з’ясування залежності доза–ефект і доза–час–ефект. Нами вивчено дію пре-

парату “Вітосепт” у 5 концентраціях, розрив між якими становив 5 разів (Zhungietu & Granik, 2000).

Отже, інтактним білим мишам впродовж 20 діб після 3–4 год. голодної дієти щоденно, внутрішньошлунково вводили по 0,5 мл досліджуваного розчину. При цьому тварини групи К (контроль) отримували ізотонічний розчин натрію хлориду, а білі миші дослідних груп розчин “Вітосепту” в різних концентраціях (Д₁ – 100 мг/л; Д₂ – 200 мг/л; Д₃ – 300 мг/л; Д₄ – 400 мг/л і Д₅ – 500 мг/л). Після задавання препарату тварин впродовж 3–4 годин не допускали до води і корму. На 5, 10 і 20 доби дослідів їх зважували, відбирали по 5 тварин з кожної групи і за легкого ефірного наркозу проводили декапітацію та відбирали кров для проведення біохімічних досліджень. Клінічні спостереження впродовж дослідів проводили, реєструючи періоди можливого розвитку токсикозу чи загибелі тварин. В сироватці крові тварин досліджували показники: вміст загального протеїну і його фракційний склад, концентрацію глюкози, сечовини, креатиніну та активність ензимів аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ) і гамма-глутамілтранспептидази (ГГТП). Дослідження біохімічних показників крові проводили за методами, описаними в довіднику “Фізіологічні і біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині” (Vlizlo, 2012).

Результати та їх обговорення

У процесі проведених досліджень встановлено, що внутрішньошлункове введення навіть найвищих концентрацій препарату “Вітосепт” (500 мг/л) не викликало загибелі тварин чи видимих ознак інтоксикації. За спостереженнями у всі періоди дослідів з’ясовано, що в лабораторних мишей контрольної і дослідних груп суттєвих клінічних відхилень, зміни поведінкових реакцій чи ознак фізіологічного дискомфорту не було. Тварини за збереженої активності та рефлекторної діяльності з апетитом поїдали корм. Будь-яких видимих порушень фізіологічних процесів в організмі тварин не спостерігалося, а про відповідний перебіг метаболічних процесів в їхньому організмі підтвердження є відповідна маса тіла та окремих органів мишей контрольної і дослідних груп. Препарат істотно не впливав на процеси травлення і сечовиділення у піддослідних тварин.

Вплив препарату “Вітосепт” на морфологічні показники крові у інтактних мишей за вивчення підгострої форми токсичності подано нами в одній з попередніх наукових статей (Soltys et al., 2020; 2022).

Фізіолого-морфологічна і біохімічна оцінка дії лікарських препаратів відіграє важливу роль у прогнозі побічних впливів на організм тварин. Токсикологічні реакції, які виникають після введення особливо великих доз (концентрацій) препаратів, зазвичай зумовлені тропізмом його складників до різних тканин організму. Діагностувати нейро-, гепато- чи нефротоксичні зміни можна після всебічного вивчення токсичності з урахуванням біохімічних і морфологічних змін. Печінка як орган метаболічних процесів та центральний дезінтоксикаційний фільтр в організмі тварин забезпечує проте-

інсинтезувальні процеси та знешкодження токсичних продуктів екзо- і ендogenous походження. Вона на-самперед реагує на дію несприятливих чинників.

Вплив речовин, які володіють гепатотропним ефектом, здебільшого позначається на пригніченні протеїнсинтезувальної функції печінки. Розвивається гіпопротеїнемія, яка зумовлена в основному гіпоальбумінемією. Ступінь вираженості останньої є критерієм тяжкості перебігу процесів в печінці. За тривалого надходження чужорідних сполук до організму лабораторних тварин, як вказує ряд авторів, змінюються біохімічні процеси в тканинах, а це відповідно веде до порушення функціонування окремих органів і систем. Ступінь напруги регуляторних систем, в тому числі тонуусу симпатичного відділу вегетативної нервової системи, впливає на рівень функціонування кровообігу, мобілізації тієї чи іншої частини функціонального резерву. При цьому печінка виконує ряд важливих функцій, зокрема синтезує безліч необхідних організму специфічних білків, жирів і вуглеводів та знешкоджує і виводить з організму чужорідні сполуки, які утворилися в процесі життєдіяльності тощо.

Таблиця 1

Вміст загального протеїну в сироватці крові білих мишей за вивчення токсичності препарату “Вітосепт”, г/л ($M \pm m$)

№п/п	Група тварин	Доби дослідю		
		5 доба (n = 15)	10 доба (n = 10)	20 доба (n = 5)
1	Контроль (К)	54,84 $\pm$ 3,16	56,32 $\pm$ 0,88	55,72 $\pm$ 0,66
2	Дослідна I (Д ₁)	55,10 $\pm$ 1,13	56,7 $\pm$ 1,12	55,16 $\pm$ 1,02
3	Дослідна II (Д ₂)	55,12 $\pm$ 1,27	55,28 $\pm$ 1,18	56,60 $\pm$ 0,94
4	Дослідна III (Д ₃)	55,06 $\pm$ 0,82	53,88 $\pm$ 0,66	52,00 $\pm$ 1,44
5	Дослідна IV (Д ₄)	53,82 $\pm$ 0,90	53,12 $\pm$ 0,90	51,08 $\pm$ 1,20*
6	Дослідна V (Д ₅)	53,16 $\pm$ 0,75	52,42 $\pm$ 0,88*	51,44 $\pm$ 0,42*

Примітка: в цій та інших таблицях: * – $P < 0,05$

Вміст загального протеїну в сироватці крові тварин групи Д₁, Д₂ і Д₃ впродовж всього періоду дослідю не зазнав значних відхилень від аналогічного показника тварин контрольної групи. Лише за введення найвищої досліджуваної концентрації досліджуваного препарату, зокрема в мишей п'ятої дослідної групи (500 мг/л) виявлено вірогідне на 6,9 % ($P < 0,05$) зниження вмісту загального протеїну в сироватці крові на 10 добу дослідю, а в четвертій та п'ятій групах – на 8,3 та 7,7 % ($P < 0,05$) – на 20 добу дослідю. Очевидно, що надто високі концентрації препарату за тривалого їх поступлення в організм тварин мають пригнічувальний вплив на протеїнсинтезувальну функцію печінки. Останню оцінюють головним чином за якісним складом сироватки крові. При цьому особливо важливе діагностичне значення мають кількісні взаємозв'язки між окремими протеїновими фракціями в ній. Альбуміни є головним секреторним протеїном, який синтезується в печінці, а виявлена закономірність чи навіть тенденція до зниження його вмісту є до певної міри результатом гепатотоксичної дії досліджуваної речовини чи субстанції. Для токсичного ураження печінки характерне помірне зниження вмісту альбумінів в сироватці крові та підвищення рівня глобулінів.

Тому вивчення морфофункціонального стану печінки за поступлення ксенобіотичних речовин в організм тварин є визначальним. Дослідження біохімічних показників крові піддослідних тварин відображає функціональний стан окремих органів, які зазвичай є органами-мішенями токсичної дії.

Оцінюючи протеїнсинтезувальну функцію печінки на тлі дії препарату “Вітосепт” нами встановлено, що вміст загального протеїну в сироватці крові білих мишей залежав як від концентрації досліджуваного гіпохлоритвмісного препарату, так і від тривалості його поступлення. За аналізом вмісту загального протеїну у сироватці крові білих інтактних мишей можна зробити висновок, що натрію гіпохлорит, який є в основі препарату “Вітосепт” – малотоксична сполука, тривале поступлення його в організм піддослідних тварин суттєво не впливає на рівень досліджуваного показника (табл. 1).

З'ясовано, що на 5 добу дослідю концентрація загального протеїну не зазнавала суттєвих відхилень порівняно із показником інтактних мишей групи контролю.

Подальші наші експериментальні дослідження стосовно фракційного складу протеїнів власне показали, що концентрація останніх, на тлі дії вітосепту міняється здебільшого за рахунок зниження вмісту альбумінів (табл. 2).

Так, концентрація останніх в сироватці крові білих мишей групи Д₄ і Д₅ на 10-ту добу дослідю була нижчою порівняно з контролем на 19,9 % і 18,4. За більш тривалого введення досліджуваного препарату (20 діб) у концентраціях 400 і 500 мг/л нами відзначено вірогідне зменшення протеїнів альбумінової фракції на відповідно 17,6 і 17,9 ($P < 0,05$). Стосовно піддослідних тварин першої, другої і третьої груп, то вміст протеїнів цієї фракції в сироватці крові був близьким до аналогічного показника у групі контролю.

Дослідження фракції глобулінів має велике значення, оскільки дає можливість виявляти патологію, за якої вміст загального протеїну сироватки крові може не змінюватися. Результати наших досліджень щодо вивчення впливу препарату “Вітосепт” на організм білих мишей, зокрема на вміст глобулінів в їхній крові, подано у табл. 3.

Таблиця 2

Вміст альбумінів в сироватці крові білих мишей за внутрішньошлункового введення препарату “Вітосепт” в різних концентраціях, г/л ($M \pm m$)

№ п/п	Група тварин	Доби досліджу		
		5 доба (n = 15)	10 доба (n = 10)	20 доба (n = 5)
1	Контроль (К)	31,18 $\pm$ 1,12	32,74 $\pm$ 0,78	32,06 $\pm$ 1,18
2	Дослідна I (Д ₁)	31,25 $\pm$ 0,9	32,42 $\pm$ 1,12	31,84 $\pm$ 1,78
3	Дослідна II (Д ₂)	32,06 $\pm$ 2,24	32,06 $\pm$ 0,96	32,26 $\pm$ 0,98
4	Дослідна III (Д ₃)	30,62 $\pm$ 1,18	28,26 $\pm$ 2,02	28,28 $\pm$ 2,02
5	Дослідна IV (Д ₄)	29,20 $\pm$ 2,02	26,23 $\pm$ 3,02*	26,42 $\pm$ 1,66*
6	Дослідна V (Д ₅)	28,18 $\pm$ 0,92	26,72 $\pm$ 1,16*	26,32 $\pm$ 1,48*

Таблиця 3

Вплив препарату “Вітосепт” у різних концентраціях на вміст глобулінів в сироватці крові інтактних мишей, г/л ($M \pm m$)

№ п/п	Група тварин	Доби досліджу		
		5 доба (n = 15)	10 доба (n = 10)	20 доба, (n = 5)
1	Контроль (К)	23,66 $\pm$ 0,42	23,58 $\pm$ 0,42	23,66 $\pm$ 0,92
2	Дослідна I (Д ₁)	23,85 $\pm$ 0,24	24,28 $\pm$ 0,72	23,32 $\pm$ 1,22
3	Дослідна II (Д ₂)	23,06 $\pm$ 0,80	23,22 $\pm$ 0,18	24,34 $\pm$ 0,5
4	Дослідна III (Д ₃)	24,44 $\pm$ 1,06	24,02 $\pm$ 0,64	23,72 $\pm$ 0,3
5	Дослідна IV (Д ₄)	24,62 $\pm$ 0,5	24,59 $\pm$ 0,60	24,66 $\pm$ 0,9
6	Дослідна V (Д ₅)	24,98 $\pm$ 0,6	25,70 $\pm$ 0,90	25,12 $\pm$ 1,0

З'ясовано, що концентрація глобулінів в сироватці крові мишей контрольної і дослідних груп не зазнавала вірогідних змін, хоч незначна тенденція щодо зростання цього показника на 20 добу досліджу зберігається у тварин групи Д₄ і Д₅, або тих, які внутрішньошлунково отримували значні концентрації препарату “Вітосепт” (400 і 500 мг/л). Отже, як видно з результатів досліджень, зниження вмісту загального протеїну в сироватці крові тварин, відзначене нами за введення максимально досліджуваних концентрацій гіпохлорит-твмісного препарату відбувається за рахунок знижен-

ня протеїнів альбумінової фракції на тлі порівняно стабільного рівня глобулінів. При цьому альбумін-глобуліновий коефіцієнт був відносно стабільним у тварин всіх дослідних груп.

Найбільш важливим показником вуглеводного обміну в організмі тварин є вміст глюкози в крові. Нами встановлено, що її рівень в сироватці крові білих мишей, які отримували препарат “Вітосепт”, теж був залежним від концентрації натрію гіпохлориту і періоду досліджу (табл. 4).

Таблиця 4

Концентрація глюкози в сироватці крові білих мишей за поступлення в їх організм препарату “Вітосепт” в різних концентраціях, ммоль/л ($M \pm m$)

№ п/п	Група тварин	Доби досліджу		
		5 доба (n = 15)	10 доба (n = 10)	20 доба (n = 5)
1	Контроль (К)	4,90 $\pm$ 0,66	4,78 $\pm$ 0,16	4,96 $\pm$ 0,34
2	Дослідна I (Д ₁)	4,66 $\pm$ 0,36	4,82 $\pm$ 0,42	4,80 $\pm$ 0,60
3	Дослідна II (Д ₂)	4,88 $\pm$ 0,24	4,74 $\pm$ 0,20	5,04 $\pm$ 0,22
4	Дослідна III (Д ₃)	4,72 $\pm$ 0,18	4,86 $\pm$ 0,26	5,10 $\pm$ 0,20
5	Дослідна IV (Д ₄)	5,06 $\pm$ 0,54	5,0 $\pm$ 0,32*	4,98 $\pm$ 0,34
6	Дослідна V (Д ₅)	5,12 $\pm$ 0,24	5,06 $\pm$ 0,14*	5,00 $\pm$ 0,60

Так, ознаки незначної гіпоглікемії виявлено у тварин дослідних груп Д₄ і Д₅. Вміст глюкози в сироватці їх крові на 10 добу досліджу був меншим за показник тварин контрольної групи на 4,7 і 5,9 % відповідно. При цьому під кінець досліджу (20 доба) досліджуваний показник в сироватці тварин контрольної і дослідних груп був відносно рівним.

За дослідженням токсичного впливу досліджуваних фармакологічних препаратів чи синтетичних субстанцій важливим є з'ясувати активність органос-

пецифічних і неспецифічних ензимів. Зростання активності окремих із них є ознакою більш чи менш виражених гепатотоксичних ефектів. На наявність гепатотоксичної дії, за вивчення токсичності препарату “Вітосепт”, вказує динаміка активності трансаминаз крові піддослідних тварин. На тлі внутрішньошлункового введення різних концентрацій (100–500 мг/л) препарату “Вітосепт” вивчено активність АЛАТ, АсАТ, ГГТП і ЛФ. Отримані результати подані у табл. 5 і 6.

Таблиця 5Динаміка активності аланінамінотрансферази в сироватці крові білих мишей за впливу препарату “Вітосепт” у різних концентраціях, од/л ($M \pm m$)

№ п/п	Група тварин	Доби досліджу		
		5 доба (n = 15)	10 доба (n = 10)	20 доба (n = 5)
1	Контроль (К)	90,42 $\pm$ 2,14	106,64 $\pm$ 4,12	104,70 $\pm$ 4,54
2	Дослідна I (Д ₁)	92,18 $\pm$ 3,30	100,42 $\pm$ 2,88	98,4 $\pm$ 2,88
3	Дослідна II (Д ₂)	91,20 $\pm$ 4,20	99,10 $\pm$ 5,16	104,17 $\pm$ 6,16
4	Дослідна III (Д ₃)	94,88 $\pm$ 2,88	98,82 $\pm$ 4,24	99,10 $\pm$ 4,22
5	Дослідна IV (Д ₄)	94,16 $\pm$ 1,44	124,88 $\pm$ 3,88	104,12 $\pm$ 3,76
6	Дослідна V (Д ₅)	98,20 $\pm$ 5,16	142,4 $\pm$ 2,60*	116,60 $\pm$ 5,12

Таблиця 6Активність аспартатамінотрансферази у білих мишей за впливу препарату “Вітосепт”, од/л ($M \pm m$)

№ п/п	Група тварин	Доби досліджу		
		5 доба (n = 15)	10 доба (n = 10)	20 доба (n = 5)
1	Контроль (К)	96,16 $\pm$ 4,40	102,12 $\pm$ 3,16	102,84 $\pm$ 4,46
2	Дослідна I (Д ₁)	100,50 $\pm$ 6,60	102,16 $\pm$ 2,88	104,10 $\pm$ 5,16
3	Дослідна II (Д ₂)	100,0 $\pm$ 4,18	102,60 $\pm$ 6,06	102,08 $\pm$ 4,82
4	Дослідна III (Д ₃)	104,18 $\pm$ 4,64	108,10 $\pm$ 4,82	110,90 $\pm$ 3,16
5	Дослідна IV (Д ₄)	105,18 $\pm$ 6,16	112,44 $\pm$ 2,18	114,16 $\pm$ 5,10
6	Дослідна V (Д ₅)	108,16 $\pm$ 6,06	128,32 $\pm$ 5,72	122,44 $\pm$ 4,88

Встановлено, що вірогідно значущого зростання в сироватці крові білих мишей активність амінотрансферази набуває у тварин п'ятої дослідної групи на 10 добу. Збільшення активності АлАТ у білих мишей на 33,5 % є, очевидно, результатом прояву компенсаторно-приспосувальної реакції їх організму на поступлення висококонцентрованого розчину чужорідної для нього сполуки. Ймовірно, власне цим можна пояснити і те, що подальше введення у шлунок мишей досліджуваної речовини спричиняло на 20 добу дослідження певне зниження активності АлАТ щодо показника 10 доби, хоч порівняно з контролем і навіть показником 5 доби активність АлАТ була ще вищою.

Стосовно дослідних першої, другої і третьої груп – активність досліджуваних ензимів не виходила за межі лімітованих величин і була близькою до показника контролю. На відсутність вираженої гепатотоксичної дії навіть найбільш концентрованих досліджуваних розчинів гіпохлоритовмісного препарату вказує порівняно стабільна в сироватці крові білих мишей активність ще одного ензиму, а саме аспартатамінотрансферази, яка є внутрішньоклітинним ензимом і з'являється в крові зазвичай за більш глибоких порушень у структурі гепатоцитів.

Одним із показників дослідження токсичного впливу лікарських препаратів чи новостворених фармакологічних субстанцій на організм лабораторних тварин є зміна активності лужної фосфатази. Нами вивчено динаміку активності цього ензиму в сироватці крові інтактних білих мишей за поступлення в організм розчинів препарату “Вітосепт” в різних концентраціях (табл. 7).

З'ясовано, що за найбільш високої досліджуваної концентрації натрію гіпохлориту в складі препарату “Вітосепт” у тварин п'ятої дослідної групи вірогідно на 32,1 % ($P < 0,05$) зростала активність лужної фосфатази на 10 добу досліджу. Стосовно 5 та 20 діб у тварин цієї групи виявлено лише тенденцію до незначного збільшення цього показника.

Стосовно піддослідних тварин інших груп, то встановлено, що внутрішньошлункове введення білим мишам натрію гіпохлориту в концентрації 100–300 мг/л не спричиняло вірогідних змін активності досліджуваного ензиму в усіх періодах досліджу. Характерним, як і для трансаминаз, було тенденційне зниження активності ЛФ у тварин всіх дослідних груп на 20 добу досліджу порівняно із 10 добою.

Таблиця 7Динаміка активності лужної фосфатази у сироватці крові білих мишей за дослідження токсичності препарату “Вітосепт”, од/л ($M \pm m$)

№ п/п	Група тварин	Доби досліджу		
		5 доба (n = 15)	10 доба (n = 10)	20 доба (n = 5)
1	Контроль (К)	254,2 $\pm$ 13,16	268,16 $\pm$ 15,02	280,0 $\pm$ 14,02
2	Дослідна I (Д ₁)	260,16 $\pm$ 19,18	270,06 $\pm$ 12,16	268,88 $\pm$ 20,10
3	Дослідна II (Д ₂)	270,82 $\pm$ 15,10	278,18 $\pm$ 21,16	276,66 $\pm$ 10,54
4	Дослідна III (Д ₃)	264,66 $\pm$ 8,82	284,14 $\pm$ 12,14	282,20 $\pm$ 16,16
5	Дослідна IV (Д ₄)	274,22 $\pm$ 20,12	314,16 $\pm$ 10,82	294,24 $\pm$ 20,24
6	Дослідна V (Д ₅)	294,3 $\pm$ 18,18	354,26 $\pm$ 18,4*	306,16 $\pm$ 12,82

Нами досліджено активність ще одного ензиму, а саме гамма-глутамілтранспептидази в сироватці крові білих мишей. Він за своєю фізіологічною приналежністю каталізує перенесення глутамілового залишку та гамма-глутамінілпептиду на альфаамінокислоту. Крім нирок, має високу активність в тканині печінки. Зростання активності ГГТП в сироватці крові є свідченням прояву гепатоцитолізу. При цьому гіперфер-

ментемія є раннім і надійним тестом інтергепатитного стази жовчі та пошкодження мембран гепатоцитів.

Нами у процесі експериментальних досліджень встановлено, що активність ГГТП набувала окремих змін залежно від концентрації стосованого препарату і тривалості його застосування. Отримані результати подано в табл. 8.

Таблиця 8

Активність гамма-глутамілтранспептидази у сироватці крові білих мишей за перорального введення в їх організм препарату “Вітосепт”, од/л ($M \pm m$)

№ п/п	Група тварин	Доби досліджу		
		5 доба (n = 15)	10 доба (n = 10)	20 доба (n = 5)
1	Контроль (К)	7,16 ± 0,78	7,42 ± 0,92	7,44 ± 0,88
2	Дослідна I (Д ₁)	6,88 ± 1,10	7,16 ± 0,66	7,02 ± 0,46
3	Дослідна II (Д ₂)	7,28 ± 0,70	7,56 ± 0,54	7,18 ± 1,12
4	Дослідна III (Д ₃)	7,88 ± 0,66	8,10 ± 1,06	8,08 ± 0,78
5	Дослідна IV (Д ₄)	8,10 ± 1,12	9,10 ± 1,02	8,72 ± 0,70
6	Дослідна V (Д ₅)	9,16 ± 1,44	12,62 ± 0,72*	10,12 ± 0,54

Вірогідне зростання активності ГГТП відзначено лише на 10 добу досліджу в сироватці крові білих мишей групи Д₅. Так, порівняно з контролем цей показник зростав на 70 %. Про тенденцію до зростання активності ГГТП в сироватці крові можна до певної міри говорити стосовно мишей групи Д₃ і Д₄, хоч отримані результати і не виходили за межі показників тварин контрольної групи.

Дослідження концентрації сечовини в сироватці крові є важливим тестом на з'ясування функціонального стану печінки, де вона синтезується, і нирок – через які піддається елімінації. Нами вивчено динаміку цього показника в крові білих мишей, які впродовж 20 діб отримували в умовах підгострого досліджу препарат “Вітосепт”.

Таблиця 9

Концентрація сечовини в сироватці крові інтактних білих мишей за впливу препарату “Вітосепт”, ммоль/л ($M \pm m$)

№п/п	Група тварин	Доби досліджу		
		5 доба (n = 15)	10 доба (n = 10)	20 доба (n = 5)
1	Контроль (К)	4,64 ± 0,26	4,42 ± 0,30	4,62 ± 0,18
2	Дослідна I (Д ₁)	4,83 ± 0,20	4,48 ± 0,18	4,42 ± 0,14
3	Дослідна II (Д ₂)	4,80 ± 0,38	4,32 ± 0,16	4,48 ± 0,10
4	Дослідна III (Д ₃)	4,34 ± 0,12	4,18 ± 0,26	4,26 ± 0,32
5	Дослідна IV (Д ₄)	4,30 ± 0,46	4,10 ± 0,30	4,22 ± 0,24
6	Дослідна V (Д ₅)	4,32 ± 0,24	4,02 ± 0,22	4,12 ± 0,18

Із даних, наведених у таблиці 9, видно, що рівень сечовини на 5 добу досліджу мав тенденцію до зниження. У білих мишей групи Д₄ і Д₅, які отримували внутрішньошлунково вітосепт в концентраціях 400 і 500 мг/л концентрація сечовини була на 7,3–7,4 % меншою, ніж у контролі. Подібна картина була характерною і на 10 добу досліджу.

Динаміка рівня сечовини в крові тварин дослідних груп Д₁–Д₃ на 5, 10 і 20 доби була нехарактерною, а сам вміст був близьким до аналогічного показника мишей контрольної групи. В останній період досліджу, зокрема на 20 добу концентрація сечовини в крові мишей четвертої і п'ятої дослідних груп була дещо вищою, ніж на 10 добу, хоч порівняно з контролем мала ще деяке відхилення.

Компенсаторно-приспосувальною реакцією організму на тривале поступлення Вітосепту можна також, очевидно, пояснити динаміку рівня креатиніну в сироватці крові білих мишей (табл. 10).

За введення в шлунок мишей перших трьох дослідних груп (Д₁–Д₃) натрію гіпохлориту в складі препарату “Вітосепт” в концентраціях 100–300 мг/л на 10 добу досліджу рівень креатиніну в сироватці крові був на рівні 55,4–59,2 мкмоль/л, перебував у межах лімітів, характерних для тварин цього виду і віку та був наближеним до показника тварин контрольної групи. Вірогідне зниження концентрації креатиніну на 8,1 % нами виявлено в цей період лише у мишей п'ятої дослідної групи (500 мг/л), хоч в подальшому, на 20 добу, і в цій групі тварин характерним було зниження цього показника.

Таблиця 10

Вплив препарату “Вітосепт” на концентрацію креатиніну в сироватці крові інтактних білих мишей, ммоль/л ($M \pm m$)

№ п/п	Група тварин	Доба досліджу		
		5 доба (n = 15)	10 доба (n = 10)	20 доба (n = 5)
1	Контроль (К)	56,8 ± 2,12	56,2 ± 2,42	56,8 ± 3,12
2	Дослідна I (Д ₁)	58,2 ± 2,17	58,8 ± 1,18	57,4 ± 1,88
3	Дослідна II (Д ₂)	56,6 ± 1,64	59,2 ± 2,80	59,0 ± 2,02
4	Дослідна III (Д ₃)	55,2 ± 3,18	55,4 ± 3,12	54,8 ± 1,66
5	Дослідна IV (Д ₄)	54,0 ± 1,30	52,3 ± 2,02	53,0 ± 1,34
6	Дослідна V (Д ₅)	54,2 ± 1,66	51,6 ± 1,92*	52,8 ± 2,12

Висновки

1. За оцінкою досліджуваних біохімічних показників встановлено, що гіпохлоритовмісний препарат “Вітосепт” є малотоксичним засобом із відсутньою гепатоксичною і нефротоксичною дією.

2. За внутрішньошлункового введення білим мишам натрію гіпохлоритовмісного препарату “Вітосепт” в концентраціях 100–300 мг/л рівень досліджуваних показників перебував у межах лімітованих величин і був близьким до показників тварин контрольної групи.

3. Зниження на 10 добу досліджу вмісту в сироватці крові білих мишей групи Д₄ і Д₅ (400–500 мг/л) вмісту загального протеїну (на 8,3 і 7,7 %), альбумінів (на 19,9 і 18,4 %), глюкози (4,7 і 5,9 %), сечовини (на 7,3–7,4 %), креатиніну (в групі Д₅ на 9,1) та зростання активності ензимів сироватки крові білих мишей п'ятої групи (АлАТ на 33,5; ЛФ на 32,1 %; ГГТП на 70 %) є результатом компенсаторно-пристосувальної реакції на поступлення висококонцентрованих розчинів досліджуваної речовини. Підтвердженням цього є зміна досліджуваних показників в бік наближення до аналогічних у тварин групи контролю та вихідних величин на 20 добу досліджу.

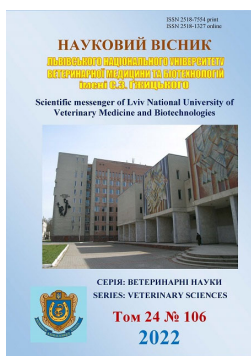
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abuhaimed, T.S., & Abou Neel, E. A. (2017). Sodium Hypochlorite Irrigation and Its Effect on Bond Strength to Dentin. *Biomed Res Int*, 2017, 1930360. DOI: 10.1155/2017/1930360.
- Brezvyn, O. M., Hunchak, V. M., Soltys, M. P., Rudyk, H. V., & Kurylas, L. V. (2020). Tekhnichni umovy na preparat “Vitosept”. TU U 21.2-02070758-001:2020 (in Ukrainian).
- Dajani, E. Z., Shahwan, T. G., & Dajani, N. E. (2016). Overview of the preclinical pharmacological properties of *Nigella sativa* (black seeds): a complementary drug with historical and clinical significance. *J Physiol Pharmacol*, 67(6), 801-817. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28195061>.
- Diab, K., Overchenko, A. I., & Tulsyky, H. H. (2013). Udoskonalennia elektrokhimichnoi tekhnolohii kontsentrovanykh rozchyniv NaClO. *Visnyk NTU “KhPI”*, 47(1020), 159–163. URL: <http://repository.kpi.kharkov.ua/handle/KhPI-Press/5057> (in Ukrainian).
- Girenko, D. V., & Velichenko, A. B. (2014). Jelektrohimicheskij reaktor dlja poluchenija nizkokoncentrovannyh rast-vorov hlorida natrija visokoj chistoty. *Visnik NTU “HPI”*, 51(1993), 25–36. URL: <http://repository.kpi.kharkov.ua/handle/KhPI-Press/13424> (in Russian).
- Gutyj, B., Grymak, Y., Hunchak, V., Mysak, A., Nazaruk, N., Brezvyn, 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.
- 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. *Regul. Mech. Biosyst.*, 8(1), 41–45. DOI: 10.15421/021708.
- Issa, N. T., Wathieu, H., Ojo, A., Byers, S. W., & Dakshanamurthy, S. (2017). Drug Metabolism in Preclinical Drug Development: A Survey of the Discovery Process, Toxicology, and Computational Tools. *Curr Drug Metab*, 18(6), 556–565. DOI: 10.2174/1389200218666170316093301.
- Khalifa, S. A. M., Yosri, N., El-Mallah, M. F., Ghonaim, R., Guo, Z., Musharraf, S. G., Du, M., Khatib, A., Xiao, J., Saeed, A., El-Seedi, H. H. R., Zhao, C., Efferth, T., & El-Seedi, H. R. (2021). Screening for natural and derived bio-active compounds in preclinical and clinical studies: One of the frontlines of fighting the coronaviruses pandemic. *Phytomedicine*, 85, 153311. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153311.
- Kotsiumbas, I. Ia. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv*. Lviv: Triada plus (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, I. Ia., Velichenko, O. B., & Kotsiumbas, H. I. (2009). *Perspektyvy zastosuvannia hipokhlorytiv u vetery-narnii medytsyni*. Lviv: Vydvo “Afisha” (in Ukrainian).
- Li, P., Wu, H., Wang, Y., Peng, W., & Su, W. (2020). Toxicological evaluation of naringin: Acute, subchronic, and chronic toxicity in Beagle dogs. *Regul Toxicol Pharmacol*, 111, 104580. DOI: 10.1016/j.yrtph.2020.104580.
- Lide, D. R. (2005). *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. 86th. Boca Raton (FL): CRPress.
- Litvinova, N. V., Filonenko-Patrusheva, M. A., Frantsuzova, S. B., & Khrapak, V. V. (2001). *Doklinichni*

- doslidzhennia likarskykh zasobiv. Metodichni rekomendatsii. Kyiv: Avitsena (in Ukrainian).
- Mandyhra, M. S., Lysytsia, A. V., Zhyhaliuk, S. V., Dmytriiev, I. M., Velychko, Yu. M., Andrushchuk, I. L., Mandyhra, Yu. M., & Romanishyna, O. O. (2012). Analiz zasobiv dlia veterynarnoi dezinfeksii. *Veterynarna medytsyna*, 96, 163–166. URL: <http://jvm.kharkov.ua/sbornik/96/65.pdf> (in Ukrainian).
- Osono, E., Honda, K., Inoue, Y., Ichimura, K., Kamano, C., Akimoto, T., Kawamoto, S., Norose, Y., Takaku, S., & Morita, R. (2021). Sodium Hypochlorite is Effective against Biofilms in Dialysis Equipment. *Biocontrol Sci*, 26(1), 1–7. DOI: 10.4265/bio.26.1.
- Palii, H. K., Kovalchuk, V. P., & Fomina, N. S. (2014). Kharakterystyka suchasnoho arsenalu dezinfikuiuchykh zasobiv ta problemy dezinfektolohii. *Biomedical and Biosocial anthropologia*, 22, 82–85 (in Ukrainian).
- Panas, M. A., & Korniiichuk, O. P. (2014). Poiednanyi vplyv nyzkointensyvnoho lazernoho vyprominiuvannia ta antybakterialnykh preparativ na modeli *Escherichia coli*. *Biomedical and biosocial anthrology*, 22, 85–89. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bba_2014_22_24 (in Ukrainian).
- Soltys, M. P., Hunchak, V. M., Rudyk, H.V., & Vasiv R. O. (2020). Dynamika morfolohichnykh i biokhimichnykh pokaznykiv u krovi bilykh myshei za dii preparatu “Vitosept”. *Naukovyi visnyk LNUVMB imeni S.Z.Hzhytskoho. Serii: Veterynarni nauky*, 22(99), 167–172. DOI: 10.32718/nvlvet9925 (in Ukrainian).
- Soltys, M. P., Rudyk, H. V., Brezvyin, 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.
- Todoriuk, V. B., Hunchak, V. M., Gutyj, 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.
- Varkholiak, I. S., Gutyj, B. V., Gufriy, D. F., Sachuk, R. M., Mylostyvyi, R. V., Radzykhovskiy, M. L., Sedilo, H. M., & Izhboldina, O. 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. (2012). *Laboratorni metody doslidzen u biolohii, tvarynnytstvi ta veterynarnii medytsyni*. Dovidnyk. Lviv: Spolom (in Ukrainian).
- Yevropeiska konventsiiia 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#Text (in Ukrainian).
- Yoshino, S., Awa, R., Ohto, N., Miyake, Y., & Kuwahara, H. (2019). Toxicological evaluation of standardized *Kaempferia parviflora* extract: Subchronic and mutagenicity studies. *Toxicol Rep*, 6, 544–549. DOI: 10.1016/j.toxrep.2019.06.003.
- Zhugietu, G. I., & Granik, V. G. (2000). *Osnovnye principy konstruirovaniia lekarstv*. Kishinev (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/nvlvet10607

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

UDC 636.2.09:616.153.284

Production research of experimental disinfectant “Sukhodes”

D. S. Slaston✉

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Article info

Received 24.03.2022

Received in revised form
25.04.2022

Accepted 26.04.2022

Sumy National Agrarian University
Herasym Kondratiev Str., 160,
Sumy, 40021, Ukraine.
Tel.: +38-099-782-53-79
E-mail: slasten_dasha@ukr.net

Slaston, D. S. (2022). Production research of experimental disinfectant “Sukhodes”. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 43–48. doi: 10.32718/nvlvet10607

Disinfection is a set of measures to neutralize pathogens of infectious diseases in the premises and the environment. The welfare of livestock, like any other link in agricultural production, the welfare of animals cannot be adequately ensured without disinfectants. The paper considers the effectiveness of the new powdered disinfectant “Sukhodes” when used in industrial conditions in the presence of animals. Production tests of the complex disinfectant “Sukhodes” were conducted based on the farm FG “Turkey”, p. Boromlya, Sumy region. Cobb-500 broiler chickens were used in the experiment. The work aimed to investigate the new powdered disinfectant “Sukhodes”, namely its effectiveness in production compared to traditional disinfectants. The study was conducted in two stages. In the first stage, the level of bacterial contamination when using the disinfectant was determined. In the second stage, the disinfectant “Sukhodes” effect was selected by the biochemical and morphological parameters of chicken blood in which this product was used. Thus, at the first stage of research, the level of bacterial contamination in poultry houses before the disinfectant solidified was 630.0 thousand microns. bodies/m³ subsequently decreased to 143.3 thousand microns. bodies/m³, while the traditional disinfectant reduced the level of bacterial contamination by 3.39 times. In the second stage of research, the effect of Sukhodes disinfectant on morphological and biochemical parameters of blood was determined. During the study, it was found that the blood parameters of chickens when using the tool “Sukhodes” at a concentration of 50 g/m² were within physiological limits. Based on this, we can say about the effectiveness and feasibility of experimentally using the tool “Sukhodes” in production conditions in the presence of poultry because the experimental morphology of blood after the application was within physiological norms, which proves its safety.

Key words: Sukhodes, disinfection, production, poultry house, veterinary hygiene and sanitation.

Виробничі дослідження експериментального дезінфікуючого засобу “Суходез”

Д. С. Сластьон✉

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

Дезінфекція – це комплекс заходів, спрямований на знешкодження збудників заразних захворювань у приміщеннях та довкіллі. Благополуччя тваринництва, як і будь-якої іншої ланки аграрного виробництва, не може бути належним чином забезпечене без застосування дезінфікуючих засобів. У роботі розглядається визначення ефективності нового порошкоподібного дезінфікуючого засобу “Суходез” при застосуванні у виробничих умовах в присутності тварин. Виробничі випробування комплексного дезінфектанту “Суходез” проводили на базі господарства ФГ “Індичка”, с. Боромля Сумської області. В досліді використовували курчат-бройлерів породи “Кобб-500”. Метою роботи було дослідити новий порошкоподібний дезінфікуючий засіб “Суходез”, а саме його ефективність у виробничих умовах порівняно з традиційним дезінфікуючим засобом. Дослідження проводили в два етапи. На першому етапі визначали рівень бактеріальної забрудненості при застосуванні дезінфікуючого засобу, а на другому етапі досліджень визначали вплив дезінфікуючого засобу “Суходез” біохімічні і морфологічні показники крові курчат, при яких було застосовано даний засіб. Так, на першому етапі досліджень рівень бактеріальної забрудненості в пташниках до застосування дезінфікуючого засобу склав 630,0 тис. мікр. тіл/м³, а згодом знизився до 143.3 тис. мікр. тіл/м³, тимчасом як традиційний дезінфікуючий засіб знизив рівень бактеріальної забрудненості у 3,39 раза. На другому етапі досліджень визначали вплив дії дезінфікуючого засобу “Суходез” на морфологічні та біохімічні показники крові. Під час проведення дослідження було встановлено, що показники крові курчат при застосуванні засобу “Суходез” в концентрації 50 г/м² були в межах фізіологічної норми. На основі цього можемо

стверджувати про ефективність і доцільність використання експериментально засобу “Суходез” у виробничих умовах в присутності птиці, адже дослідні показники морфології крові після застосування засобу були в межах фізіологічної норми, що доводить його безпечність.

Ключові слова: “Суходез”, дезінфекція, виробництво, пташник, ветеринарна гігієна та санітарія.

Вступ

Птахівництво є одним з найперспективніших галузей сільськогосподарського сектору країни, крім того, поголів'я птиці займає велику частину серед господарств (Melnyk, 2009; Studenok et al., 2021; Sobolev et al., 2021). Отже, забезпечення біозахисту для птиці є обов'язковим для економічного процвітання та здоров'я населення. Але, на жаль, відсутність належних знань щодо стратегій особистої гігієни та санітарії підвищує ризик керування цим перспективним сектором. До того ж відсутність достатніх знань та підготовки щодо програми санітарії ускладнює контроль/запобігання передачі зоонозних захворювань, що призводить до високого ризику для здоров'я як тварин, так і фермерів (Mcward & Taylor, 2000; Mellata, 2013; Saha et al., 2020).

Очищення та дезінфекція пташників має вирішальне значення для забезпечення гігієни птахофабрики (Luyckx et al., 2017). Однак після використання дезінфікуючі речовини можуть залишатися в пташиному посліді, що робить його менш біологічно розкладним і складним для компостування (Onwosi et al., 2017). Звичайні дезінфікуючі засоби містять основи (наприклад, гідроксид натрію), кислоти (наприклад, лимонну кислоту), окислювачі (наприклад, гіпохлорит натрію), сполуки четвертинного амонію (QAC, наприклад, алкілдиметилбензиламоній хлорид) та альдегіди (наприклад, глутаральдегід) (Saklou et al., 2016). Доведено, що багато комерційних дезінфікуючих засобів, таких як QAC і гіпохлорит натрію, є високоефективними для інактивації бактеріальних ізолятів (Liu et al., 2018).

Адекватні та правильні процедури дезінфекції можуть знизити частоту захворювань та їх передачу. Кінетику дезінфекції змінюють декілька факторів навколишнього середовища, включаючи органічне навантаження, температуру та час контакту. Отже, коли програма дезінфекції приймається на господарстві або в промислових умовах, для успішної дезактивації необхідно враховувати багато факторів, а особливо дозування препаратів (Jang et al., 2017). Зазвичай використовують хімічні дезінфікуючі засоби, такі як хлор, озон, сіль четвертинного амонію та глутаровий альдегід (Saklou et al., 2017). Різні дезінфікуючі засоби, що використовуються для широкомасштабної дезінфекції на пташниках, діють за допомогою різних механізмів, отже, їхня ефективність дезінфекції також відрізняється. В даний час хлоровмісні сполуки (дихлорізоціанурат натрію, гіпохлорит натрію, відбілюючий порошок, діоксид хлору та ін.) широко використовуються як дезінфікуючі засоби у тваринництві та птахівництві. Доступний хлор може ефективно вбивати *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus* і *Bacillus subtilis*

var. у низькій концентрації (Mughini-Gras et al., 2014; Stromberg et al., 2017; Sonthipet et al., 2018).

Різні процедури дезінфекції мають різні результати, тому вибір відповідних дезінфікуючих засобів, а також процедур і методів дезінфекції може ефективно контролювати виникнення інфекційних захворювань у пташниках (Chaplyhin & Melnyk, 2012).

Ідеальний дезінфікуючий засіб повинен мати добру здатність знищувати патогенні мікроорганізми; бути стабільним за своєю природою, щоб на нього не могли легко впливати фізичні та хімічні фактори; та ефективно контролювати екологічну санітарію на господарстві. Тому дослідження на наявність мікроорганізмів, що залишилися після дезінфекції, є важливим засобом оцінки ефективності дезінфекції (Wu et al., 2012; Maertens et al., 2017). Крім того, використання дезінфікуючих засобів без валідації та оцінки може спричинити високий селективний тиск, що призведе до поступового зниження чутливості організмів до використовуваних дезінфікуючих засобів і навіть до перехресної резистентності, що викликають занепокоєння у сфері охорони здоров'я. Таким чином, неналежні санітарні процедури можуть бути ефективними у боротьбі з хворобами, що знижує продуктивність птахів (Soliman & Hassan, 2017). Отже, оцінка ефективності дезінфікуючих засобів в виробничих умовах має бути пріоритетною для вибору відповідного дезінфікуючого засобу шляхом мінімізації мікробного навантаження (Kyz, 2011; Riabinina, 2015; Saha et al., 2020). Тому актуальним постає питання виробничих випробувань дезінфікуючих засобів.

Мета роботи – дослідити новий порошкоподібний дезінфікуючий засіб “Суходез”, а саме його ефективність у виробничих умовах порівняно з традиційним дезінфікуючим засобом

Матеріал і методи досліджень

Виробничі випробування комплексного дезінфіканту “Суходез” проводили на базі господарства ФГ “Індичка”, с. Боромля, Сумської області. В досліді використовували курчат-бройлерів породи “Кобб-500”, 2 пташник контрольний і дослідний по 30 голів у кожному, які утримувались підлоговим методом на незмінній підстилці, щільність посадки 4 гол./м² підлоги пташника. Оптимальну температуру в приміщенні підтримували у межах 19–21 °С, а відносну вологість повітря – в межах 65–75 %, пил, 6,0 мг/м³, мікроорганізми 630,0 тис. мікр. тіл/м³, аміак 22,0 мг/м³. Доступ води для курчат був постійним протягом доби, доступ до корму надавали працівники 3 рази на добу. На пташниках встановлена приточно-втяжна системи вентиляції. В дослідному пташнику № 1 перед прийомом курчат на підлогу сипали дезінфікуючий засіб “Суходез” (0,1 кг/1 м²) і укладали рівним шаром підстилку. А також для санації примі-

щення використовували протягом періоду дорошування в присутності курчат-бройлерів методом рівномірного посипання поверхні, де утримувались курчата, з розрахунку 50 г/м² – один раз на тиждень. Аналогічно, перед посадкою курчат на підлогу контрольного пташника № 2 – сипали сухе гашене вапно (0,5 кг/1 м²) і укладали рівним шаром підстилку та протягом періоду дорошування використовували традиційний дезінфектант “Мікадез”.

Число червоних кров'яних тілець визначали фотонейфелометрично за методикою Є. С. Гаврилець і спів-авт. Принцип методу базується на фотометричній реєстрації густини розчину залежно від кількості еритроцитів у крові (Vlizlo et al., 2012).

Підрахунок числа лейкоцитів здійснювали у визначеному об'ємі камери Горяєва з відомим розведенням крові. Лейкограму оцінювали за морфологічними показниками кількості клітин білої крові з диференційованим підрахунком різних форм лейкоцитів (Vlizlo et al., 2012).

Визначення концентрації гемоглобіну в крові. Суть методу полягає у здатності гемоглобіну при взаємодії з залізоцианідом калію окислюватися до метгемоглобіну, утворюючи з ацетонагідридом гемоглобінціанід, оптична густина якого при 540 нм прямо пропорційна концентрації гемоглобіну в зразку крові (Vlizlo et al., 2012).

Активність аспартатамінотрансферази (АсАТ) (К.Ф.2.6.1.1.) і аланін амінотрансферази (АлАТ) (К.Ф.2.6.1.2.) визначали за уніфікованим динітрофенілгідразиним методом Райтмана–Френкеля. Принцип методу полягає у тому, що внаслідок переамінування, яке проходить за дії аспартатамінотрансферази, утворюється глутамінова і піровиноградна кислоти, а при дії аланінамінотрансферази – щавлева і піровиноградна кислоти. При додаванні 2,4-динітрофенілгідразину в лужному середовищі утворюється забарвлений гідрозон піровиноградної кисло-

ти, інтенсивність забарвлення (визначали за допомогою приладу “Spesol” при довжині хвилі 530 нм) яко-го прямо пропорційна активності ензиму (Vlizlo et al., 2012). Активність ензимів виражали у мікромолях (мкмоль) піровиноградної кислоти на грам тканини за годину інкубації.

Активність лужної фосфатази визначали за методом А. Т. Боданського. Принцип методу полягає у тому, що під впливом фосфатази натрій β-гліцерофосфат піддається гідролізу з вивільненням неорганічного фосфату, кількість якого визначається фотокolorиметрично за кольоровою реакцією з молібденовокислим амонієм і аскорбіновою кислотою. Активність лужної фосфатази досліджували за рН 8,6 (Vlizlo et al., 2012).

Рівень загального протеїну визначали за біуретовою пробою, а вміст окремих його фракцій – турбидиметричним способом за Л. М. Дилекторською. Принцип методу оснований на здатності розчину протеїну у присутності лужного розчину Купруму давати фіолетове забарвлення, інтенсивність якого пропорційна концентрації білка в досліджуваній пробі (Vlizlo et al., 2012).

Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Страсбург, 1986 р.).

Аналіз результатів досліджень проводили за допомогою пакету програм Statistica 6.0. Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Стюдента. Результати вважали вірогідними при P ≤ 0,05.

Результати та їх обговорення

Рівень бактеріального забруднення повітря в дослідному пташнику до початку та після обробки “Суходезом” наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Показники бактеріального забруднення пташників в процесі використання деззасобів в присутності курчат-бройлерів

Проби зразків	До обробки, тис. мікр.тіл/м ³				Після обробки, тис. мікр.тіл/м ³			
	Бак. забрудненість	В сер. по пташнику	Сан. показові м. о. %	сер.%	Бак. забрудненість	В сер. по пташнику	Сан. показові м. о. %	сер. %
Перший пташник, деззасіб “Суходез”								
1	618,0 ± 15,3		311,2		142,0 ± 5,2		2,2	
2	625,0 ± 21,2	620,6	297,5	310,8	133,0 ± 8,3	143,3	1,5	2,46
3	619,0 ± 14,7		303,8		155,0 ± 6,0		3,7	
Другий пташник, деззасіб “Мікадез”								
1	631,2 ± 11,2		318,5		158,0 ± 2,7		4,1	
2	627,0 ± 17,6	627,4	311,9	315,2	211,0 ± 15,2	184,66	7,25	5,91
3	624,2 ± 21,9		315,2		185,0 ± 8,3		6,4	

Примітка: в цій і наступній таблиці: * – P < 0,05 вірогідність до контролю

На основі отриманих результатів можемо стверджувати, що при обробці дезінфікуючим засобом “Суходез” рівень загальної бактеріальної забрудненості в першому пташнику знизився у 4,3 раза, тимчасом як у другому пташнику, де обробку проводили дезінфікуючим засобом “Мікадез”, рівень бактеріаль-

ної забрудненості знизився у 3,39 раза. Порівняно з контрольним засобом “Мікадез” дослідний дезінфікуючий засіб “Суходез” знизив показники санітарно-показових мікроорганізмів у 2,4 раза краще за контрольний засіб “Мікадез”.

При вимірюванні морфологічних показників крові нами було встановлено, що в середньому показники зазначені в межах норми (табл. 2).

За даними таблиць доходимо висновку, що під час застосування нового дезінфікуючого засобу в присутності птиці в середньому морфологічні показники крові коливалися в межах фізіологічної норми. Так, на 7 добу застосування експериментального дезінфікуючого засобу “Суходез” показники лейкоцитів становили 89,2 г/л, тимчасом як показники звичайного деззасобу на 14 добу становили 117,7 г/л, що має вже

верхню границю норми показників лейкоцитів клінічно здорової птиці (80–120 г/л) за даними референтних норм показників крові за М. В. Садовніковим та ін. (2009). Відповідно показники лейкоцитів перед початком випробувань також перебували в межах норми (20–40 г/л), а після застосування дезінфікуючих засобів змінилися у випадку деззасобу “Суходез” на краще, у випадку “Мікаdez” – погіршилися.

Отримані результати біохімічних досліджень наведено в табл. 3.

Таблиця 2

Досліджувані морфологічні показники крові курей-бройлерів за умов застосування деззасобів (n = 30, M ± m)

Показники	Дні досліджу	Приміщення	
		Перший пташник	Другий пташник
Гемоглобін, г/л	До застосування деззасобів	97,9 ± 1,46	98,4 ± 0,51
	Після обробки		
	7 доба	89,2 ± 0,79	111,7 ± 0,21
	14 доба	87,8 ± 0,75	117,7 ± 1,15
Еритроцити, Т/л	До застосування деззасобів	4,98 ± 0,33	4,69 ± 0,32
	Після обробки		
	7 доба	3,69 ± 0,75	4,96 ± 0,16
	14 доба	3,31 ± 0,56	4,88 ± 0,23
Лейкоцити, Г/л	До застосування деззасобів	21,8 ± 0,99	22,9 ± 0,87
	Після обробки		
	7 доба	24,9 ± 0,76	20,4 ± 0,65
	14 доба	26,2 ± 0,98	17,1 ± 0,72

Таблиця 3

Досліджувані біохімічні показники сироватки крові курчат-бройлерів (n = 30, M ± m)

Показники	Дні досліджу	Приміщення	
		Перший пташник	Другий пташник
АсАТ, мккат/л	До застосування деззасобів	198,5 ± 2,04	190,2 ± 1,82
	Після обробки		
	7 доба	201,9 ± 1,27	196,5 ± 1,90
	14 доба	202,7 ± 2,24	197,7 ± 1,52
АлАТ, мккат/л	До застосування деззасобів	4,64 ± 0,08	4,35 ± 0,33
	Після обробки		
	7 доба	4,04 ± 0,72	4,48 ± 0,24*
	14 доба	4,72 ± 0,06	4,32 ± 0,61
Лужна фосфатаза, мкмоль/л	До застосування деззасобів	1383,4 ± 1,23	1364,6 ± 1,57
	Після обробки		
	7 доба	1374,2 ± 1,88	1384,8 ± 2,58
	14 доба	1374,6 ± 2,5	1365,2 ± 2,18
Загальний протеїн, г/л	До застосування деззасобів	57,8 ± 0,07	57,4 ± 0,76
	Після обробки		
	7 доба	58,1 ± 0,69	60,7 ± 0,67*
	14 доба	58,2 ± 0,07	58,4 ± 0,78
Загальний білірубін, мкмоль/л	До застосування деззасобів	2,84 ± 0,19	2,69 ± 0,22
	Після обробки		
	7 доба	2,13 ± 0,22	2,25 ± 0,14
	14 доба	1,98 ± 0,26	1,84 ± 0,27

Загалом можемо стверджувати, що впродовж проведення дослідів у середньому біохімічні показники крові коливались в межах фізіологічних норм.

Отже, за результатами проведених досліджень суттєвих змін клінічних, гематологічних, біохімічних показників у курчат-бройлерів не спостерігали, тому можемо констатувати про відсутність токсичного впливу експериментального засобу “Суходез” на курчат-бройлерів.

Висновки

Доведено високий вплив досліджуваного засобу “Суходез” на зниження рівня бактеріальної забрудненості пташника при підлоговому методі утримання з початковою обробкою 100 г/м², та подальшою 50 г/м². На основі отриманих результатів можемо стверджувати, що при обробці дезінфікуючим засобом “Суходез” рівень загальної

бактеріальної забрудненості знизився у 4,3 раза.

Досліджуваний засіб “Суходез” доцільно використовувати для дезінфекції приміщень в присутності птиці. З проведених біохімічних і морфологічних досліджень можемо стверджувати, що дослідний засіб не має негативного впливу на показники крові курчат, а отже є безпечний у використанні в присутності птиці.

Перспектива подальших досліджень – вивчення і узагальнення стабільності і часової ефективності експериментального засобу “Суходез”, які тривають в лабораторних умовах.

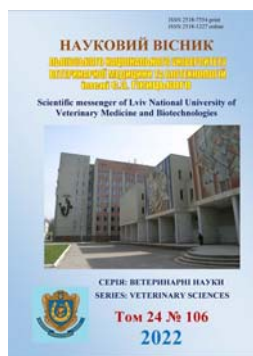
Відомості про конфлікт інтересів

Автор стверджує про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Chaplyhin, Ye. M., & Melnyk, V. O. (2012). Obrobka pidstylky dlia ptytsi z metoiu zneshkodzhennia patohennykh mikroorhanizmiv. Visnyk Kharkivskoho natsionalnoho tekhnichnoho universytetu silskoho hospodarstva im. P. Vasylenka, 120, 345–352 (in Ukrainian).
- Jang, Y., Lee, K., Yun, S., Lee, M., Song, J., Chang, B., & Choe, N. H. (2017). Efficacy evaluation of commercial disinfectants by using *Salmonella enterica* serovar Typhimurium as a test organism. *Journal of veterinary science*, 18(2), 209–216. DOI: 10.4142/jvs.2017.18.2.209.
- Kyz, T. V. (2011). Vlyv obrobky pidstylky u ptashnyku reahentamy na emisiiu shkidlyvykh haziv ta vidtvorni yakosti indykiv. *Ptakhivnytstvo*, 67, 43–50 (in Ukrainian).
- Liu, Y., Wang, W., Xu, J., Xue, H., Stanford, K., McAllister, T. A., & Xu, W. (2018). Evaluation of compost, vegetable and food waste as amendments to improve the composting of NaOH/NaClO-contaminated poultry manure. *PloS one*, 13(10), e0205112. DOI: 10.1371/journal.pone.0205112.
- Luyckx, K., Van Coillie, E., Dewulf, J., Van Weyenberg, S., Herman, L., Zoons, J., Vervae, E., Heyndrickx, M., & De Reu, K. (2017). Identification and biocide susceptibility of dominant bacteria after cleaning and disinfection of broiler houses. *Poultry science*, 96(4), 938–949. DOI: 10.3382/ps/pew355.
- Maertens, H., De Reu, K., Meyer, E., Van Coillie, E., & Dewulf, J. (2019). Limited association between disinfectant use and either antibiotic or disinfectant susceptibility of *Escherichia coli* in both poultry and pig husbandry. *BMC veterinary research*, 15(1), 310. DOI: 10.1186/s12917-019-2044-0.
- Mcward, G. W., & Taylor, D. R. (2000). Acidified clay litter amendment. *Journal of Applied Poultry Research*, 9(4), 518–529. DOI: 10.1093/japr/9.4.518.
- Mellata, M. (2013). Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. *Foodborne pathogens and disease*, 10(11), 916–932. DOI: 10.1089/fpd.2013.1533.
- Melnyk, V. O. (2009). Ekologichni problemy suchasnoho ptakhivnytstva. *Ptakhivnytstvo*, 63, 3–17 (in Ukrainian).
- Mughini-Gras, L., Enserink, R., Friesema, I., Heck, M., van Duynhoven, Y., & van Pelt, W. (2014). Risk factors for human salmonellosis originating from pigs, cattle, broiler chickens and egg laying hens: a combined case-control and source attribution analysis. *PloS one*, 9(2), e87933. DOI: 10.1371/journal.pone.0087933.
- Onwosi, C. O., Igbokwe, V. C., Odimba, J. N., Eke, I. E., Nwankwoala, M. O., Iroh, I. N., & Ezeogu, L. I. (2017). Composting technology in waste stabilization: On the methods, challenges and future prospects. *Journal of environmental management*, 190, 140–157. DOI: 10.1016/j.jenvman.2016.12.051.
- Riabinina, O. V. (2015). Ochyshchennia ventyliatsiinykh vykydiv ptashnyka. *NDTs biobezpeky ta ekologichnoho kontroliu resursiv APK*, 3(3), 141–146 (in Ukrainian).
- Saha, O., Rakhi, N. N., Istiaq, A., Islam, I., Sultana, M., Hossain, M. A., & Rahaman, M. M. (2020). Evaluation of Commercial Disinfectants against *Staphylococcus lentus* and *Micrococcus* spp. of Poultry Origin. *Veterinary medicine international*, 2020, Article ID 8811540. DOI: 10.1155/2020/8811540.
- Saklou, N. T., Burgess, B. A., Van Metre, D. C., Hornig, K. J., Morley, P. S., & Byers, S. R. (2016). Comparison of disinfectant efficacy when using high-volume directed mist application of accelerated hydrogen peroxide and peroxymonosulfate disinfectants in a large animal hospital. *Equine veterinary journal*, 48(4), 485–489. DOI: 10.1111/evj.12476.
- Shnurenko, E. O., Studenok, A. A., Karpovskiy, V. I., Trokoz, V. O., Gutij, 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.
- Sobolev, O. I., Lisohurska, D. V., Pyvovar, P. V., Topolnytskyi, P. P., Gutij, 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.
- Soliman, E. S., & Hassan, R. A. (2017). Evaluation of superphosphate and meta-bisulfide efficiency in litter treatment on productive performance and immunity of broilers exposed to ammonia stress. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 5(8), 253–259. URL: http://nexusacademicpublishers.com/table_contents_detail/4/840/html.
- Sonthipet, S., Ruenphet, S., & Takehara, K. (2018). Bactericidal and virucidal efficacies of potassium monopersulfate and its application for inactivating avian influenza virus on virus-spiked clothes. *The Journal of veterinary medical science*, 80(4), 568–573. DOI: 10.1292/jvms.17-0599.

- Stromberg, Z. R., Johnson, J. R., Fairbrother, J. M., Kilbourne, J., Van Goor, A., Curtiss, R., Rd, & Mellata, M. (2017). Evaluation of *Escherichia coli* isolates from healthy chickens to determine their potential risk to poultry and human health. *PloS one*, 12(7), e0180599. DOI: 10.1371/journal.pone.0180599.
- Studenok, A. A., Shnurenko, E. O., Karpovskyi, V. I., Trokoz, V. O. & Gutyj, B. V. (2021). Indicators of protein metabolism and intensity of lipid peroxide oxidation in chickens with different vegetative status. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 23(102), 110–118. DOI: 10.32718/nvlvet10217
- Vlizlo, V., Fedoruk, R., Ratych, I., ta in. (2012). *Laboratorni metody doslidzhen u biolohii, tvarynnytstvi ta veterynarii medytsyni: dovidnyk*. Lviv, SPOLOM (in Ukrainian).
- Wu, G., Ehricht, R., Mafura, M., Stokes, M., Smith, N., Pritchard, G. C., & Woodward, M. J. (2012). *Escherichia coli* isolates from extraintestinal organs of livestock animals harbour diverse virulence genes and belong to multiple genetic lineages. *Veterinary microbiology*, 160(1-2), 197–206. DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.05.029.



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/nvlvet10608

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

UDC 619:638.15-08

Epizootic situation with contagious diseases of bees in the North-West regions of Ukraine

A. R. Lakhman, O. Ye. Galatiuk, T. A. Romanishina✉, V. L. Behas

Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

Article info

Received 28.03.2022

Received in revised form

28.04.2022

Accepted 29.04.2022

Polissia National University,
Stary Boulevard, 7, Zhytomyr,
10008, Ukraine.

Tel.: +38-097-356-27-07

E-mail: tveterinar@gmail.com

Lakhman, A. R., Galatiuk, O. Ye., Romanishina, T. A., & Behas, V. L. (2022). Epizootic situation with contagious diseases of bees in the North-West regions of Ukraine. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 49–53. doi: 10.32718/nvlvet10608

The beekeeping industry provides not only honey but also other medicinal products for the human race. The health of bee colonies is supported by data on the prevalence of contagious bee diseases - monitoring investigations. At present, the system for providing such surveys is imperfect. There is a need not only to analyze diseases proposed by regional laboratories but also to diagnose other common diseases. To characterize the epizootic situation of contagious diseases of bees, we systematized and analyzed official data from the Departments of the State Consumer Service of Zhytomyr, Rivne, and Volyn regions. The article presents the data of the analysis of bee diseases investigated by regional laboratories in these regions. This study's materials were reports from regional laboratories of the State Consumer Service of Zhytomyr, Rivne, and Volyn regions. The data were statistically processed, and the results were analyzed by comparing the epizootic process development indicators. The data results indicate the prevalence of varroaosis and nosema annually in all regions studied. In the Volyn region, there is a trend toward decreasing diagnostic tests for bee diseases compared to 2019. An annual increase in diagnostic tests has been registered in the Zhytomyr and Rivne regions of Ukraine. Occasionally, regional laboratories sometimes conduct unscheduled tests for other bacterial and viral diseases of bees. Based on planned surveys alone, it is difficult to describe the prevalence of infectious diseases in these insects. Therefore, early detection of the source of the infectious agent is advisable to ensure the well-being of bee farms. Thus a monitoring system for bee diseases of viral and bacterial origin would be promising, with the primary objective of obtaining organic bee products. Such approaches would provide a more precise and more realistic picture of the epizootic state of each region.

Key words: monitoring, contagious diseases of bees, beekeeping, north-west region of Ukraine.

Епізоотична ситуація щодо контагіозних хвороб бджіл у Північно-Західному регіоні України

А. Р. Лахман, О. Є. Галатюк, Т. О. Романишина✉, В. Л. Бегас

Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

Галузь бджільництва забезпечує людство не лише медом, а й іншими лікувальними засобами. Підтримка здоров'я бджолиних колоній здійснюється на основі даних щодо поширеності контагіозних хвороб бджіл, тобто моніторингових досліджень. Наразі система щодо забезпечення таких досліджень недосконала. Адже існує необхідність не лише у дослідженні запропонованих регіональними лабораторіями хвороб, а й у діагностиці інших поширених захворювань. Для характеристики епізоотичного стану щодо заражених бджіл нами була проведена систематизація та аналіз офіційних даних управлінь Держпродспоживслужб Житомирської, Рівненської та Волинської областей. У статті наведені дані аналізу щодо досліджуваних регіональними лабораторіями хвороб бджіл у даних регіонах. Матеріалами для даного дослідження слугували звіти регіональних лабораторій Держпродспоживслужб Житомирської, Рівненської та Волинської областей. Було здійснено статистичну обробку даних та аналіз отриманих результатів шляхом порівняння показників розвитку епізоотичного процесу. Результати отриманих даних свідчать

про розповсюдженість вароатозу та нозематозу у всіх досліджуваних регіонах, які реєструють щорічно. У Волинській області спостерігається тенденція до зменшення діагностичних досліджень хвороб бджіл порівняно із 2019 роком. Натомість щорічне збільшення кількості діагностичних досліджень зареєстровано у Житомирській та Рівненській областях. В окремих випадках регіональні лабораторії проводять позапланові дослідження щодо інших бактеріальних та вірусних хвороб бджіл. Важко описати поширеність інфекційних хвороб комах, спираючись лише на планові дослідження. Тому для забезпечення благополуччя бджологосподарств доцільним є раннє виявлення джерела збудника інфекції. Так, перспективним є створення системи моніторингу захворювань бджіл вірусного та бактеріального походження, де головною ціллю є отримання органічної продукції бджільництва. Такі підходи забезпечать більш чітку та реальну картину епізоотичного стану кожної області.

Ключові слова: моніторинг, контагіозні хвороби бджіл, бджологосподарства, Північно-Західний регіон України.

Вступ

Відомо, що завдяки галузі бджільництва людство забезпечується не лише медом, а також іншими продуктами бджільництва, які мають значний лікувальний ефект (Traynor et al., 2016; Lakhman et al., 2021). Для забезпечення інтенсифікації даної галузі необхідне створення сучасної моніторингової програми щодо розповсюдження, діагностики та профілактики найбільш поширених хвороб бджіл. Адже вивчення реальної епізоотичної ситуації щодо захворювань цих комах різної етіології передбачає отримання даних не лише планових досліджень, а й результатів епізоотичного обстеження існуючих пасік, включаючи хвороби, які не входять у перелік запропонованих регіональними лабораторіями. Такий підхід розширить спектр діагностичних досліджень, що своєю чергою надасть більш чітку та реальну картину щодо епізоотичного стану конкретного регіону. Дослідження стаціонарних та виникнення емерджентних хвороб бджіл потребує постійного удосконалення методів профілактики, винайдення нових способів епізоотологічного моніторингу, адаптації ветеринарних препаратів для використання у бджільництві. Вивченням епізоотологічного моніторингу хвороб бджіл в Україні займалися Фотіна Т. І. (Kisil & Fotina, 2018), Галатюк О. Є., Тушак С. Ф. (Galatiuk & Tushak, 2016), Кистерна О. С. (Kisterna et al., 2014), в Європі епізоотичні дослідження проводили Buendia M., Hernández R. M., Gallego C. O., Barrios L., Husson C. B., Pascual M. H. (Buendia et al., 2018) та Morawetz, L., Köglberger H., Griesbacher A., Derakhshifar I., Crailsheim K., Brodschneider R., Moosbeckhofer R. (Morawetz et al., 2019), в Африці та Південній Європі Jamal Z. A., Abou-Shaara H. F., Qamer S., Alotaibi M. A., Khan K. A., Khan M. F., Ansari M. J. (Porrini et al., 2016; Jamal et al., 2021), аналогічні проблеми вивчали науковці Північної Америки (Traynor et al., 2021), Канади (Milbrath, 2021), Японії, Китаю та Тайланду (Ullah et al., 2021).

Нозологічний профіль інфекційних хвороб бджіл в Україні, зокрема у Житомирській області, свідчить, що найбільш поширені хвороби для даного регіону – вароатоз (58 %) та нозематоз (33 %) (Galatiuk & Tushak, 2016). Хвороби, що викликаються найпростішими (амебіоз) та паразитами (браульоз) реєструються спорадично серед проб, які було досліджено (Galatiuk & Tushak, 2016). Таким чином, удосконалення методів моніторингу та засобів профілактики інфекційних хвороб медоносних бджіл є важливою темою для інтенсифікації розвитку бджільництва в Україні.

Мета дослідження – систематизація та аналіз офіційних даних управлінь Держпродспоживслужб Житомирської, Рівненської та Волинської областей щодо контагіозних хвороб бджіл.

Матеріал і методи досліджень

Матеріали для проведення моніторингових досліджень за 2019–2021 роки були надані регіональними лабораторіями Держпродспоживслужб Житомирської, Рівненської та Волинської областей.

Для опрацювання даних використовували статистичну обробку за допомогою програмного забезпечення Microsoft Office Excel 2019 (Petrie & Watson, 2013).

Аналіз систематизованих результатів здійснювали шляхом порівняння показників розвитку епізоотичного процесу (Galatiuk & Tushak, 2016; Kisil & Fotina, 2018) розповсюджених інфекційних хвороб бджіл у Північно-Західному регіоні України.

Результати та обговорення

Вивчена епізоотична ситуація Північно-Західного регіону України в межах Житомирської, Рівненської та Волинської областей за 2019–2021 роки. За офіційними даними Держпродспоживслужб вищевказаних областей регіональні лабораторії проводять планові та діагностичні дослідження щодо гнильцевих хвороб (американський і європейський), паразитарних (акарапідоз, вароатоз, браульоз) та захворювань, що викликаються найпростішими (амебіоз і нозематоз) (Higes et al., 2010). У всіх досліджуваних областях щорічно реєстрували вароатоз та нозематоз (рис. 1), а в Житомирській області виявлено також американський гнилець у 2019 році (рис. 2).

Аналіз отриманих даних у Рівненській та Житомирській областях свідчить про щорічне збільшення кількості планових досліджень щодо вказаних паразитарних захворювань, гнильців та нозематозу (табл. 1–2).

Інша закономірність спостерігається у Волинській області (рис. 3), де найбільше діагностичних досліджень щодо бджолиних інфекційних та інвазійних хвороб зареєстровано в 2019 році, з тенденцією до зменшення у наступних роках.

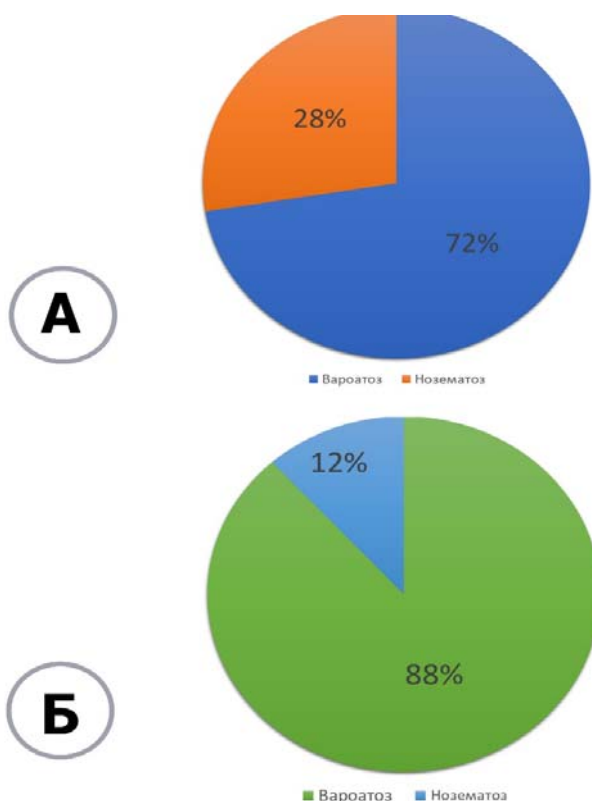


Рис. 1. Кількість випадків вароатозу та нозематозу бджіл у Рівненській (А) та Волинській (Б) областях

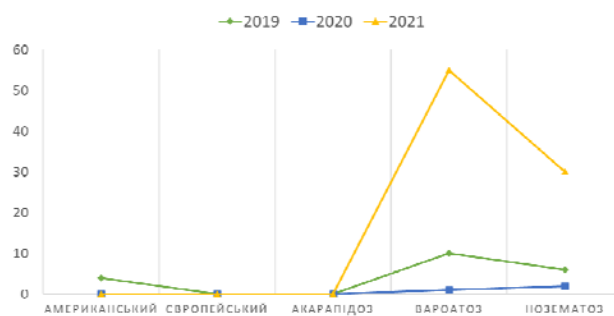


Рис. 2. Нозологічний профіль інфекційних хвороб бджіл у Житомирській області (2019–2021 рр.)

Свою чергою виявляли максимальні показники інфікованості досліджуваних інфекцій: вароатозу – 30,24 % (2021 рік) у Волинській області (табл. 3); нозематозу – 7,45 % (2019 рік) у Рівненській області (табл. 2); американського гнильця – 0,81 % (2019 рік) у Житомирській області (табл. 1).

В окремих випадках для лабораторної діагностики інших заразних захворювань бджіл проводять позапланові дослідження щодо сальмонельозу (Anjum et al., 2021), гафніозу (Kisil & Fotina, 2018), колибактеріозу (Anjum et al., 2021), мішкуватого розплоду (Yefimenko et al., 2022), гострого і хронічного паралічу (Amiri et al., 2018; Yang et al., 2020) та аскосферозу (Liubimov et al., 2020; Tapia-González et al., 2020).

Таблиця 1

Результати досліджень щодо заразних хвороб бджіл у Житомирській області за 2019–2021 роки

Назва хвороби	Показники	Рік дослідження		
		2019	2020	2021
Американський гнилець	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	496 / 0,81	907 / 0	1230 / 0
Європейський гнилець	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	496 / 0	907 / 0	1237 / 0
Акарапідоз	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	551 / 0	1131 / 0	4398 / 0
Вароатоз	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	1134 / 0,88	1602 / 0,06	4418 / 1,24
Нозематоз	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	1111 / 0,54	1556 / 0,13	4413 / 0,68

Таблиця 2

Результати досліджень щодо заразних хвороб бджіл у Рівненській області за 2019–2021 роки

Назва хвороби	Показники	Рік дослідження		
		2019	2020	2021
Американський гнилець	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	521 / 0	562 / 0	968 / 0
Європейський гнилець	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	521 / 0	562 / 0	954 / 0
Акарапідоз	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	1678 / 0	1791 / 0	1881 / 0
Вароатоз	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	1678 / 14,30	1791 / 11,06	1881 / 12,76
Нозематоз	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	1678 / 7,45	1791 / 3,63	1881 / 3,62

Напрямок дослідження залежить від первинного діагнозу, що базується на епізоотичних даних пасіки та клінічних ознаках хворих бджолиних колоній (Jacques et al., 2017).

Спираючись на статистичні офіційні дані, важко описати весь спектр поширення інфекційних хвороб бджіл, оскільки це результати планових досліджень, які є економічними для пасічника і проводяться найчастіше за рахунок держбюджету з метою отримання паспорту пасіки. Надана регіональними лабораторіями інформація не відображає об'єктивної епізоотич-

ної ситуації щодо хвороб бджіл, не дозволяє достовірно охарактеризувати всі ланки епізоотичного ланцюга, тому доцільно удосконалити систему моніторингу захворювань бджіл, враховуючи ареал їхнього існування та породні особливості. Так, для забезпечення благополуччя бджологосподарств доцільним є раннє виявлення етіологічного чинника конкретного захворювання (джерела збудника інфекції) для запобігання зараження всієї пасіки з одночасними заходами підвищення індивідуальної резистентності бджіл.

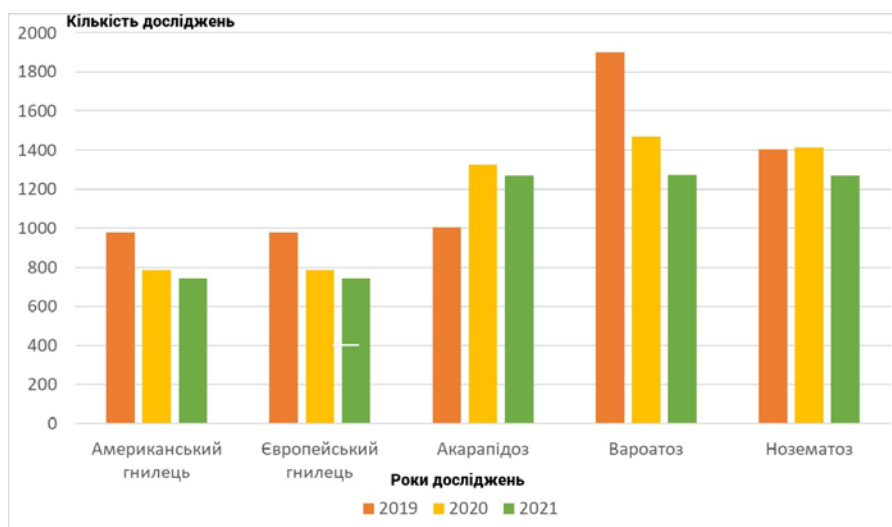


Рис. 3. Кількість діагностичних досліджень щодо інфекційних та інвазійних хвороб бджіл у Волинській області (2019–2021 рр.)

Таблиця 3

Результати досліджень щодо заразних хвороб бджіл у Волинській області за 2019–2021 роки

Назва хвороби	Показники	Рік дослідження		
		2019	2020	2021
Американський гнилець	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	976 / 0	787 / 0	743 / 0
Європейський гнилець	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	976 / 0	787 / 0	742 / 0
Акарапідоз	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	1003 / 0	1324 / 0	1271 / 0
Вароатоз	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	1901 / 17,41	1467 / 8,38	1273 / 30,24
Нозематоз	Кількість досліджень, вип. / інфікованість, %	1404 / 1,64	1413 / 0,35	1270 / 6,54

Висновки

1. Регіональними лабораторіями Держпродспоживслужб Північно-Західного регіону України регулярно проводиться щорічний моніторинг бактеріальних (американський та європейський гнильці), паразитарних (вароатоз, акарапідоз) захворювань бджіл і хвороб, збудниками яких є найпростіші мікроорганізми (нозематоз, амєбіаз).

2. Встановлено максимальні показники інфікованості досліджуваних інфекцій: вароатоз – 30,24 % (2021 рік) у Волинській області; нозематоз – 7,45 % (2019 рік) у Рівненській області; американського гнильця – 0,81 % (2019 рік) у Житомирській області.

3. Оцінка отриманих результатів свідчить про недостатню інформативність статистично-епізоотичних даних щодо досліджуваного спектру хвороб бджіл, оскільки дані дослідження є плановими і не враховують епізоотичної ситуації неспортизованих бджологосподарств.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним є розробка методів діагностики хвороб позапланових досліджень та схеми їх загальної профілактики з метою отримання якісної продукції бджільництва.

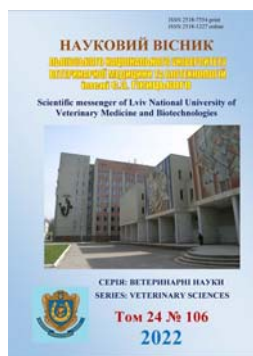
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Amiri, E., Seddon, G., Zuluaga Smith, W., Strand, M. K., Tapy, D. R., & Rueppell, O. (2019). Israeli acute paralysis virus: Honey bee queen–worker interaction and potential virus transmission pathways. *Insects*, 10(1), 9. DOI: 10.3390/insects10010009.
- Anjum, S. I., Aldakheel, F., Shah, A. H., Khan, S., Ullah, A., Hussain, R., Khan, H., Ansari, J. M., Mahmoud A. H. & Mohammed, O. B. (2021). Honey bee gut an unexpected niche of human pathogen. *Journal of King Saud University-Science*, 33(1), 101247. DOI: 10.1016/j.jksus.2020.101247.
- Buendia, M., Hernández, R. M., Gallego, C. O., Barrios, L., Husson, C. B., & Pascual, M. H. (2018). Epidemiological study of honeybee pathogens in Europe: The results of Castilla-La Mancha (Spain). *Spanish journal of agricultural research*, 16(2), 12. DOI: 10.5424/sjar/2018162-11474.
- Galatiuk, O. Ye., & Tushak, S. F. (2016). Epizootological monitoring of infectious diseases of honey bees in the north-western region of Ukraine. *Scientific Bulletin of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Series: Veterinary Medicine, Quality and Safety of Livestock Products*, 237, 372–379. URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Veterenarna/article/view/7474> (in Ukrainian).
- Hges, M., Martín-Hernández, R., & Meana, A. (2010). *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis. *Apidologie*, 41(3), 375–392. DOI: 10.1051/apido/2010019.

- Jacques, A., Laurent, M., Epilobee Consortium, Ribière-Chabert, M., Saussac, M., Bougeard, S., Saussac, M., Bougeard, S., Budge, G. E., Hendrikx, P., & Chauzat, M. P. (2017). A pan-European epidemiological study reveals honey bee colony survival depends on beekeeper education and disease control. *PLoS ONE*, 12(3), e0172591. DOI: 10.1371/journal.pone.0172591.
- Jamal, Z. A., Abou-Shaara, H. F., Qamer, S., Alotaibi, M. A., Khan, K. A., Khan, M. F., & Ansari, M. J. (2021). Future expansion of small hive beetles, *Aethina tumida*, towards North Africa and South Europe based on temperature factors using maximum entropy algorithm. *Journal of King Saud University-Science*, 33(1), 101242. DOI: 10.1016/j.jksus.2020.101242.
- Kisil, D. O., & Fotina, T. I. (2018). Monitoring the epizootic situation on mixed infectious diseases in bees in Northern Eastern region of Ukraine. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 20(83), 381–384. DOI: 10.15421/nvlvet8375 (in Ukrainian).
- Kisterna, O. S., Galatiuk, O. Ye., & Musiyenko, O. V. (2014). Significance of the assessment of the epizootological profile of honey bees of North-Eastern Ukraine. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 16(3(60)), 79–85 (in Ukrainian).
- Lakhman, A. R., Galatiuk, O. Y., Romanishina, T. A., & Behas, V. L. (2021). Antagonistic effect of *Bacillus subtilis* isolated and identified from different honey species against *Klebsiella pneumoniae* bee pathogens. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 4(3), 48–53. DOI: 10.32718/ujvas4-3.08.
- Liubimov, A. I., Vorobeva, S. L., Kisliakova, E. M., Berzskina, G. I., & Mushtaleva, E. D. (2020). Use of environmentally safe preventive remedy against ascospore. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 17, p. 00032). EDP Sciences. DOI: 10.1051/bioconf/20201700032.
- Milbrath, M. (2021). Honey Bee Bacterial Diseases. *Honey Bee Medicine for the Veterinary Practitioner*, 277–293. DOI: 10.1002/9781119583417.ch22.
- Morawetz, L., Köglberger, H., Griesbacher, A., Derakhshifar, I., Crailsheim, K., Brodschneider, R., & Moosbeckhofer, R. (2019). Health status of honey bee colonies (*Apis mellifera*) and disease-related risk factors for colony losses in Austria. *PLoS ONE*, 14(7), e0219293. DOI: 10.1371/journal.pone.0219293.
- Petrie, A., Watson, P. (2013). *Statistics for veterinary and animal science*. John Wiley & Sons. URL: <https://www.wiley.com/en-us/Statistics+for+Veterinary+and+Animal+Science%2C+3rd+Edition-p-9780470670750>.
- Porrini, C., Mutinelli, F., Bortolotti, L., Granato, A., Laurenson, L., Roberts, K., Gallina, A., Silvester, N., Medrzycki, P., Renzi, T., Sgolastra, F., & Lodesani, M. (2016). The status of honey bee health in Italy: Results from the nationwide bee monitoring network. *PLoS ONE*, 11(5), e0155411. DOI: 10.1371/journal.pone.0155411.
- Tapia-González, J. M., Alcazar-Oceguera, G., Macías-Macías, J. O., Contreras-Escareño, F., Tapia-Rivera, J. C., Petukhova, T., & Guzmán-Novoa, E. (2020). Ascospore in honey bees and its relationship to environmental factors in Jalisco, Mexico. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(2), 468–478. DOI: 10.22319/rmcp.v11i2.4926.
- Traynor, K. S., Rennich, K., Forsgren, E., Rose, R., Pettis, J., Kunkel, G., Madella, S., Evans, J., Lopez, D., & Engelsdorp, D. (2016). Multiyear survey targeting disease incidence in US honey bees. *Apidologie*, 47, 325–347. DOI: 10.1007/s13592-016-0431-0.
- Traynor, K. S., Tosi, S., Rennich, K., Steinhauer, N., Forsgren, E., Rose, R., & Evans, J. D. (2021). Pesticides in honey bee colonies: Establishing a baseline for real world exposure over seven years in the USA. *Environmental Pollution*, 279, 116566. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.116566.
- Ullah, A., Gajger, I. T., Majoros, A., Dar, S. A., & Khan, S. (2021). Viral impacts on honey bee populations: a review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 523–530. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.10.037.
- Yang, S., Zhao, H., Deng, Y., Deng, S., Wang, X., Diao, Q., & Hou, C. (2020). A reverse genetics system for the Israeli acute paralysis virus and chronic bee paralysis virus. *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1742. DOI: 10.3390/ijms21051742.
- Yefimenko, T. M., Odnosum, H. V., & Vorobiy, O. A. (2022). Perebih mishechkuvatoho rozplodu za stvorennia v bdzholnykh sim'yakh bezrozplidnoho periodu porivnyano z obroblenniam simey vytyazhkamy z evkaliptu i dereviyu ta zasobamy-analohamy. *Naukovovyrobnychyy zhurnal "Bdzhil'nytstvo Ukrayiny"*, 6(6), 18–23. DOI: 10.46913/beekeepingjournal.2021.6.03.



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/nvlvet10609

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

UDC 619:615.45:612.176:636

Influence of “Metisevit Plus” feed additive on morphological and biochemical parameters of bull blood under conditions of lead-cadmium loading

S. O. Slobodian¹✉, B. V. Gutyj¹, S. H. Shalovylo¹, P. I. Holovach¹, O. V. Pavliv², B. M. Kalyn¹,
B. M. Kurtyak¹, Yu. R. Hachak¹, T. V. Martyschuk¹, N. V. Demus¹, V. L. Shnaider³

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

²Separated subdivision of National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine “Berezhany Agrotechnical Institute”, Berezhany, Ukraine

³Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

Article info

Received 30.03.2022

Received in revised form

02.05.2022

Accepted 03.05.2022

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-316-74-30
E-mail: solomiaslobodian@ukr.net

Separated subdivision of National
University of Life and
Environmental Sciences of Ukraine
“Berezhany Agrotechnical
Institute”, Akademichna Str., 20,
Berezhany, Ternopil region,
47501, Ukraine.

Polissia National University,
Sary Boulevard, 7, Zhytomyr,
10008, Ukraine.

Slobodian, S. O., Gutyj, B. V., Shalovylo, S. H., Holovach, P. I., Pavliv, O. V., Kalyn, B. M., Kurtyak, B. M., Hachak, Yu. R., Martyschuk, T. V., Demus, N. V., & Shnaider, V. L. (2022). Influence of “Metisevit Plus” feed additive on morphological and biochemical parameters of bull blood under conditions of lead-cadmium loading. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 54–61. doi: 10.32718/nvlvet10609

In the conditions of modern man-caused pollution of the environment, environmental problems, as well as improving the quality of livestock products and their food safety, are important and relevant issues today. The study aimed to investigate the effect of the “Metisevit Plus” feed additive on bull blood's morphological and biochemical parameters under lead-cadmium loading conditions. The research was conducted based on the agricultural private enterprise “Ukraine” of Dubrovytsia district of Rivne region on 12 bulls of six months of age, Ukrainian black-and-white dairy breed, which was formed into two groups of 6 animals each. The bulls of the control group were on a standard diet. The bulls of the experimental group were fed the feed additive “Metisevit Plus” at a dose of 0.5 g/kg of feed. This farm has a high content of lead and cadmium in feed. According to the results of experimental studies, it was found that the feed additive “Metisevit Plus” is effective under lead-cadmium load in bulls. Administration of this feed additive to experimental animals helps restore their suppressed hematopoietic function; the number of erythrocytes and hemoglobin in their blood increased by 25.3 and 19.4 %, and the number of leukocytes decreased by 12.4 %, respectively. Metisevit Plus feed additive also enhanced the functional state and protein-synthesizing function of the liver of bulls under artificial conditions. When feeding the feed additive “Metisevit Plus”, a decrease in the activity of both alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in the serum of bulls of the experimental group was found. On day 40 of the experiment, it was found that the activity of alanine and aspartate aminotransferase in the serum of bulls of the experimental group fluctuated within physiological values. When a “Metisevit-Plus” feed additive is added to the diet, there is a tendency to increase the total protein level in bulls of the experimental group. In the study of the albumin level in the blood of bulls of the experimental group, its probable increase was found starting from the 10th day of the experiment. On the 30th and 40th day of the experiment, the albumin level in the blood of bulls in the experimental group was the highest, whereas compared to the control group, it increased by 15.4 and 17.0 %, respectively. Our studies confirm the feasibility of using the feed additive “Metisevit Plus” to prevent lead-cadmium toxicosis.

Key words: man-made load, intoxication, aminotransferases, proteins, selenium, methionine, vitamins.

Вплив кормової добавки “Метісевіт плюс” на морфологічні та біохімічні показники крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження

С. О. Слободян¹✉, Б. В. Гутий¹, С. Г. Шаловило¹, П. І. Головач¹, О. В. Павлів², Б. М. Калин¹,
Б. М. Куртяк¹, Ю. Р. Гачак¹, Т. В. Мартишук¹, Н. В. Демус¹, В. Л. Шнайдер³

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

²Відокремлений підрозділ Національного університету біоресурсів і природокористування України “Бережанський агротехнічний інститут”, м. Бережани, Україна

³Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

В умовах сучасного техногенного забруднення навколишнього середовища екологічні проблеми, як і підвищення якості тваринницької продукції та її харчової безпеки, є важливими й актуальними питаннями сьогодення. Метою роботи було дослідити вплив кормової добавки “Метісевіт плюс” на морфологічні та біохімічні показники крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження. Дослідження проводились на базі сільськогосподарського приватного підприємства “Україна” Дубровицького району Рівненської області на 12 бугайцях шестимісячного віку, української чорно-рябої молочної породи, які були сформовані у 2 групи по 6 тварин у кожній. Бугайці контрольної групи перебували на стандартному раціоні. Бугайцям дослідної групи згодовували кормову добавку “Метісевіт плюс” у дозі 0,5 г/кг комбікорму. У даному господарстві було встановлено високий вміст Свинцю і Кадмію в кормах. За результатами експериментальних досліджень встановлено, що кормова добавка “Метісевіт плюс” є ефективною за свинцево-кадмієвого навантаження у бугайців. Уведення піддослідним тваринам цієї кормової добавки сприяє відновленню в них пригніченої гемопоетичної функції, а саме число еритроцитів і вміст гемоглобіну в їхній крові зростало на 25,3 і 19,4 %, кількість лейкоцитів знижувалася на 12,4 % відповідно. Кормова добавка “Метісевіт плюс” також сприяла посиленню функціонального стану та протеїнсинтезувальної функції печінки бугайців за умов техногенного навантаження. При згодовуванні кормової добавки “Метісевіт плюс” встановлено зниження активності як аланін-амінотрансферази, так і аспартат-амінотрансферази у сироватці крові бугайців дослідної групи. На 40 добу досліді встановлено, що активність аланін- та аспартат-амінотрансферази у сироватці крові бугайців дослідної групи коливалася у межах фізіологічних величин. При додаванні до раціону кормової добавки “Метісевіт-плюс” спостерігається тенденція до зростання рівня загального протеїну у бугайців дослідної групи. При дослідженні рівня альбумінів у крові бугайців дослідної групи встановлено його вірогідне підвищення вже починаючи з 10 доби досліді. На 30 і 40 добу досліді рівень альбумінів у крові бугайців дослідної групи був найвищим, де порівняно з показниками контрольної групи він зріс на 15,4 і 17,0 % відповідно. Проведені нами дослідження підтверджують доцільність застосування кормової добавки “Метісевіт плюс” для профілактики свинцево-кадмієвого токсикозу.

Ключові слова: техногенне навантаження, інтоксикація, амінотрансферази, протеїни, Селен, метіонін, вітаміни.

Вступ

В умовах сучасного техногенного забруднення навколишнього середовища екологічні проблеми, підвищення якості тваринницької продукції та її харчової безпеки є важливим і актуальним питанням сьогодення (Ercal et al., 2001; Vishchur et al., 2019; Yaroshevych et al., 2021).

Через погіршення екологічної ситуації одним із пріоритетних напрямів є моніторинг важких металів у трофічному ланцюгу ґрунт – рослина – корм – тварина – продукція – людина. Дані забруднювачі швидко мігрують та накопичуються в компонентах біосфери (повітря, вода, ґрунт – рослини – тварини – людина), тим самим ускладнюють виробництво якісної сільськогосподарської продукції та негативно впливають на здоров'я людини (Rehman et al., 2018; Fryzova et al., 2018; Fu & Xi, 2020). Тому необхідно вибирати таку систему ведення відповідної галузі тваринництва, яка б відповідала напрямку очікуваної продуктивності з метою одержання максимальної кількості високоякісної та благополучної у санітарному плані продукції (Fan et al., 2015).

Важкі метали є пріоритетними забруднювачами атмосферного повітря, води водоймищ і ґрунтів у глобальних і регіональних масштабах. Через високу міграційну здатність, схильність до біоаккумуляції та політропності метали створюють небезпеку для людини та тварин не тільки при безпосередній дії, а й через негативний

вплив на санітарно-гігієнічні показники об'єктів навколишнього середовища (Pratish et al., 2018; Sall et al., 2020; Piven et al., 2020). Суміш токсичних речовин, які можуть діяти на живі організми як незалежно одна від одної, так і вступати в різну взаємодію, може впливати на ступінь токсичного ефекту окремих речовин (Ali et al., 1986; Kalyn et al., 2020). Так, при забрудненні довкілля важкими металами доведено, що прояви токсичної дії можуть залежати від наявності між ними взаємодії, яка призводить до зміни порогових значень, а тому важливе значення має не тільки токсичність кожного компонента системи, а й їхньої комбінованої дії (Järup, 2003; Rahman & Singh, 2019; 2020).

Серед забруднювачів довкілля одне з провідних місць за токсичністю і небезпечністю для людини і тварин посідає Кадмій та Свинець (Al-Azemi et al., 2010; Renu et al., 2021). Тривалий контакт з даними металами та їхнє надходження в організм тварин, навіть у невеликих концентраціях, призводить до пригнічення імунної системи організму тварин, зниження опору інфекціям, розвитку алергічної, аутоімунної та онкологічної патології. Дані метали блокують реактивні (сульфгідрильні, карбоксильні та фосфатні) групи біополімерів, у тому числі білків, нуклеїнових кислот, ензимів (Fregoneze et al., 1997; Gutty et al., 2019). Важкі метали, надходячи в організм тварин не тільки знижують їхню продуктивність (Gutty et al., 2016), а й впливають на хімічний склад, показники біологічної цінності і санітарної якості продукції тваринництва (Slobodi-

an et al., 2019). Корми, забруднені навіть малою кількістю важких металів, можуть бути причиною хронічного або субклінічного отруєння тварин.

Попередніми нашими дослідженнями було встановлено фоновий рівень окремих мікроелементів, Свинцю і Кадмію у різних кормах, які вирощувались для годівлі тварин у фермерському господарстві ім. Шевченка Здолбунівського району, СВК “Нива” Дубенського району та СП “Україна” Дубровицького району Рівненської області. Високий вміст Свинцю і Кадмію встановлено в кормах СВК “Нива” Дубенського району та СП “Україна” Дубровицького району. Одночасно виявлено значну відмінність у нагромадженні цих металів між різними видами кормів (Slivinska et al., 2019; Slobodian et al., 2020).

Найбільше Кадмію виявили у зернових та концкормах, де його концентрація перевищує максимально допустимий рівень у 1,39 (пшениця); 1,35 (жито); 1,23 (ячмінь) рази в СП “Україна” та відповідно 1,37; 1,20; 1,03 рази в СВК “Нива”. Вище МДР було кадмію в буряку кормовому та цукровому відповідно на 39 та 32 %.

Щодо вмісту Свинцю, то його найбільше було в соковитих кормах, а саме у гичці кормового буряка на 79,1 % у СП “Україна”, на 45,7% – в СВК “Нива”; зеленій масі трав природних пасовищ – відповідно на 69,3 % та 76,4 %; зеленій масі викомишанки – на 69,2 % та 70,7 % вище від максимально допустимого рівня.

Мета роботи – дослідити вплив кормової добавки “Метісевіт плюс” на морфологічні і біохімічні показники крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження.

Матеріал і методи досліджень

Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Official Journal of the European Union L276/33, 2010). Дослідження проводились на базі сільськогосподарського приватного підприємства “Україна” Дубровицького району Рівненської області на 12 бугайцях шестимісячного віку, української чорно-рябої молочної породи, які були сформовані у 2 групи по 6 тварин у кожній:

1 група – контрольна (К), бугайці перебували на стандартному раціоні;

2 група – дослідна (Д), бугайцям згодовували кормову добавку “Метісевіт плюс” у дозі 0,5 г/кг комбікорму.

У даному господарстві було встановлено високий вміст Свинцю і Кадмію в кормах. Одночасно виявлено значну відмінність у нагромадженні цих металів між різними видами кормів. Найбільше Кадмію виявили у зернових та концкормах, де його концентрація перевищувала максимально допустимий рівень у 1,39 (пшениця); 1,35 (жито); 1,23 (ячмінь) рази. Щодо вмісту Свинцю, то його найбільше було в соковитих кормах, а саме у гичці кормового буряка на 79,1 %; зеленій масі трав природних пасовищ – відповідно на 69,3 % та 76,4 %; зеленій масі викомишанки – на 69,2 % та 70,7 % вище від максимально допустимого рівня.

Для проведення досліджень дотримувалися правил, обов’язкових з виконання зоотехнічних дослідів щодо підбору та утримання тварин-аналогів у групі, технології заготівлі, використання й обліку спожитих кормів.

Для запобігання негативному впливу Кадмію та Свинцю на організм тварин на кафедрі фармакології та токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького було розроблено кормову добавку “Метісевіт плюс” на основі фенарону, вітамінів А і Е, метіоніну, Селену та Цинку.

Кров для аналізу брали з яремної вени на початку дослідів, а також на 10, 20, 30 та 40 добу після згодовування кормової добавки “Метісевіт плюс”.

В стабілізованій крові визначали: вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів, індекси червоної крові – за допомогою гематологічного аналізатора Mythic-18.

Досліджували концентрацію протеїну, його фракцій, активність амінотрансфераз за методикою (Vlislo, 2012).

Аналіз даних проводили за допомогою програми Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Дані наведені в діаграмах у вигляді $\bar{x} \pm SD$ ($\bar{x}$ – стандартне відхилення). Відмінності між величинами у контрольній та експериментальній групах визначали за допомогою ANOVA, де відмінності вважалися достовірними при $P < 0,05$ (з урахуванням похибки Бонферроні).

Результати та їх обговорення

При дослідженні впливу кормової добавки “Метісевіт плюс” на морфологічні показники крові бугайців за умов навантаження важкими металами встановлено підвищення кількості еритроцитів вже починаючи на 20 добу дослідів, де порівняно з контрольною групою тварин даний показник зріс на 9,8 % відповідно. На 30 і 40 добу дослідів кількість еритроцитів вірогідно зростала у крові дослідної групи на 25,3 і 19,6 % щодо показників, взятих у тварин контрольної групи (рис. 1).

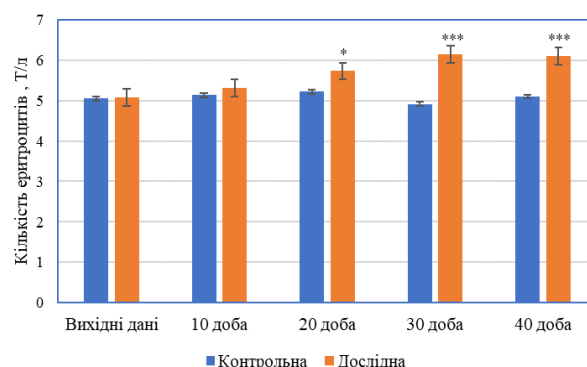


Рис. 1. Кількість еритроцитів у крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження та дії кормової добавки “Метісевіт плюс”, Т/л ($M \pm m$, $n = 6$)

При дослідженні рівня гемоглобіну у крові тварин встановлено, що у контрольної групи даний показник

коливався у межах $100,8 \pm 1,12 - 103,4 \pm 1,22$ г/л, тимчасом як у дослідній групі бугайців, яким протягом 30 діб згодовували кормову добавку “Метісевіт плюс”, рівень гемоглобіну в їхній крові зростає. Так, на 20 добу згодовування кормової добавки бугайцям дослідної групи встановлено підвищення рівня гемоглобіну на 10 %. На 30 добу досліді рівень показника, що досліджували, у крові тварин дослідної групи зростає на 19,4 % щодо показників контрольної групи.

На 40 добу досліді рівень гемоглобіну у крові дослідної групи бугайців коливався у фізіологічних межах, де відповідно становив $119,6 \pm 1,19$ г/л, що на 18,2 % вище за контроль (рис. 2).

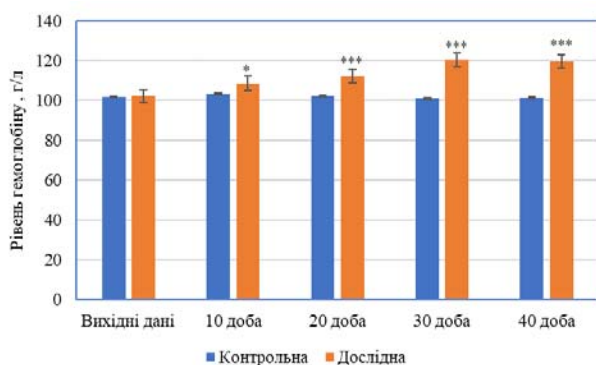


Рис. 2. Рівень гемоглобіну у крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження та дії кормової добавки “Метісевіт плюс”, г/л ($M \pm m$, $n = 6$)

При визначенні середнього вмісту гемоглобіну в одному еритроциті крові бугайців встановлено, що у контрольної групи він був дещо вищим порівняно з дослідною групою тварин, яким за умов навантаження важкими металами згодовували кормову добавку “Метісевіт плюс” (рис. 3). Найнижчим середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті крові бугайців був у дослідної групи на 20 і 30 доби досліді.

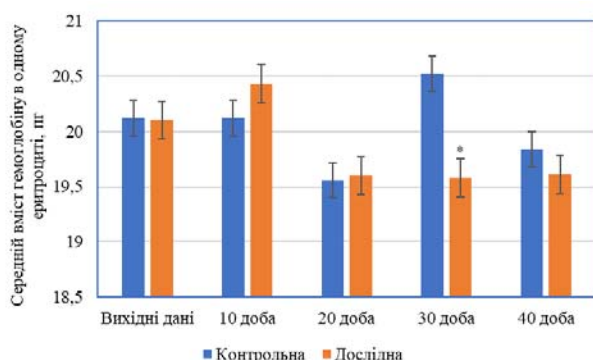


Рис. 3. Середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження та дії кормової добавки “Метісевіт плюс”, пг ($M \pm m$, $n = 6$)

При дослідженні кількості лейкоцитів у крові бугайців встановлено, що їхня кількість була високою у крові тварин контрольної групи, де відповідно вона коливалася у межах величин $10,5 \pm 0,21 - 10,9 \pm$

$0,34$ Г/л. У дослідній групі бугайців, яким згодовували кормову добавку “Метісевіт плюс”, кількість лейкоцитів протягом усього досліді поступово знижувалася. Так, на 10 добу досліді кількість досліджуваного показника знизилася на 5,6 %, тимчасом як на 20 добу досліді – відповідно на 9,3 % щодо контрольної групи тварин (рис. 4).

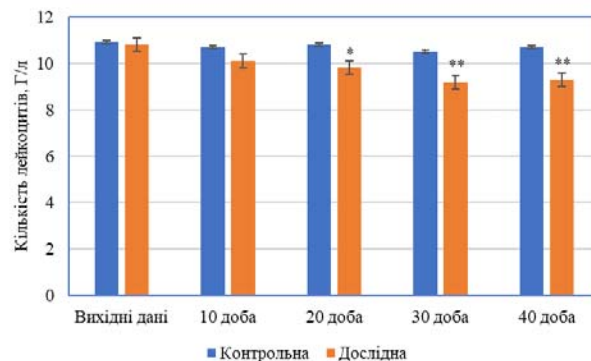


Рис. 4. Кількість лейкоцитів у крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження та дії кормової добавки “Метісевіт плюс”, Г/л ($M \pm m$, $n = 6$)

На 30 і 40 доби досліді кількість лейкоцитів у крові дослідної групи бугайців була найнижчою і відповідно коливалася у межах $9,2 \pm 0,27$ і $9,3 \pm 0,26$ Г/л, що на 12,4 і 13,1 % нижче за показники контрольної групи тварин у вказані періоди досліді.

При дослідженні протеїнсинтезувальної функції печінки у бугайців за умов навантаження Кадмієм і Свинцем встановлено зниження рівня загального протеїну в їхній крові до $59,8 \pm 1,10$ г/л (рис. 5).

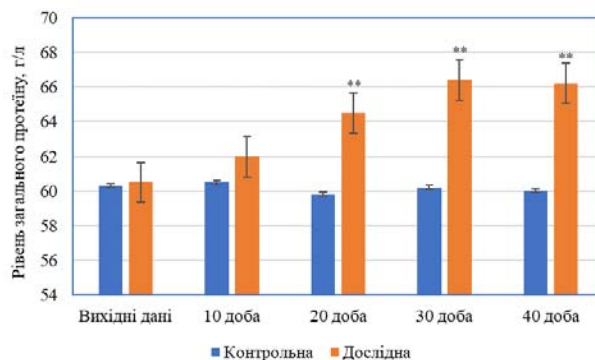


Рис. 5. Рівень загального протеїну у крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження та дії кормової добавки “Метісевіт плюс”, г/л ($M \pm m$, $n = 6$)

Згодовування кормової добавки “Метісевіт плюс” бугайцям дослідної групи сприяло посиленню протеїнсинтезувальної функції печінки протягом усього досліді. Встановлено, що згодовування кормової добавки на 20 добу досліді сприяло збільшенню рівня загального протеїну у крові дослідної групи на 7,9 % щодо контрольної групи тварин. У подальшому рівень загального протеїну знову продовжував зростати і щодо контролю на 30 добу досліді він зріс на 10,3 % відповідно.

На 40 добу дослідів рівень загального протеїну у крові дослідної групи бугайців був вірогідно вищим від показників контрольної групи на 10,3 %.

При дослідженні рівня альбумінів у крові бугайців дослідної групи встановлено його вірогідне підвищення вже починаючи з 10 доби дослідів, де відповідно він зріс на 8,4 %. На 20 добу дослідів рівень альбумінів у крові дослідної групи тварин, яким згодовували кормову добавку, зріс до $39,7 \pm 1,06$ г/л, тимчасом як у контрольної групи тварин даний показник становив $34,5 \pm 0,98$ г/л. На 30 і 40 добу дослідів рівень альбумінів у крові бугайців дослідної групи був найвищим, де порівняно з показниками контрольної групи він зріс на 15,4 і 17,0 % відповідно (рис. 6).

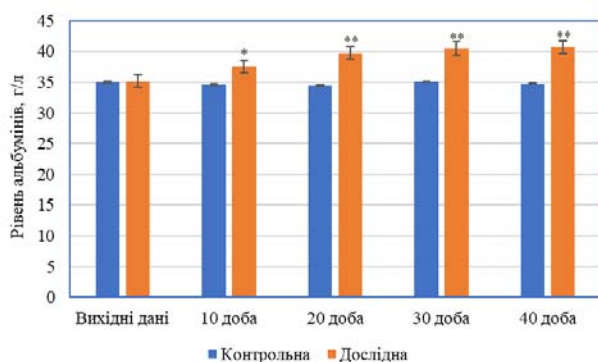


Рис. 6. Рівень альбумінів у крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження та дії кормової добавки “Метісевіт плюс”, г/л ($M \pm m$, $n = 6$)

При дослідженні рівня глобулінів у крові контрольної та дослідної групи тварин встановлено, що на початку дослідів він коливався у межах $35,0 \pm 0,95$ і $35,2 \pm 0,91$ г/л (рис. 7). На 10 і 20 доби дослідів встановлено дещо вищий рівень глобулінів у крові контрольної групи бугайців, тимчасом як на 30 і 40 доби дослідів рівень показника, що досліджувався, був вищим у крові дослідної групи.

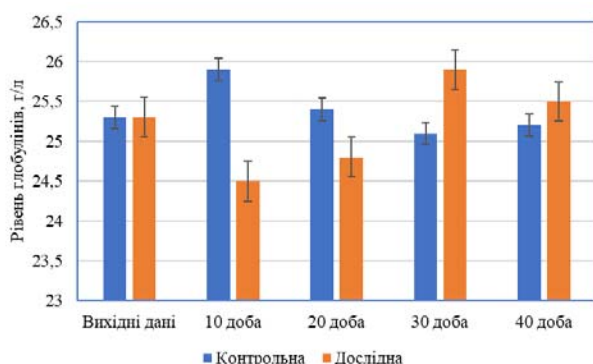


Рис. 7. Рівень глобулінів у крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження та дії кормової добавки “Метісевіт плюс”, г/л ($M \pm m$, $n = 6$)

На 40 добу дослідів рівень глобулінів у крові контрольної і дослідної групи відповідно коливався у межах величин $25,2 \pm 0,81$ і $25,5 \pm 0,95$ г/л відповідно.

Відомо, що маркерами порушення цілісності клітинних мембран (маркерами цитолізу гепатоцитів) є

органо- і органелоспецифічні ензими, що з’являються в крові у значній кількості. Серед них інформативними є амінотрансферази.

При навантаженні важкими металами встановлено порушення функціонального стану печінки, на що вказує підвищення активності амінотрансфераз у сироватці крові бугайців (рис. 8 і 9). Їх вміст у сироватці крові вказує на ступінь пошкодження плазматичних мембран клітини за дії на організм бугайців Кадмію та Свинцю.

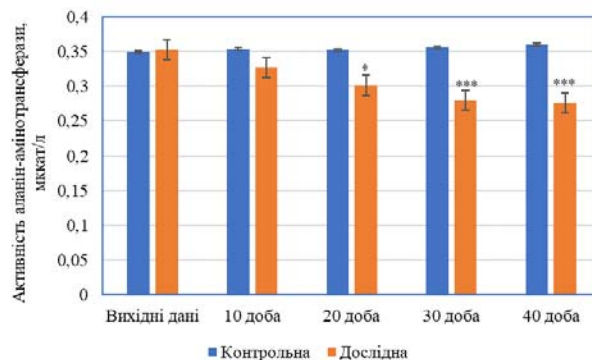


Рис. 8. Активність аланін-амінотрансферази у сироватці крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження та дії кормової добавки “Метісевіт плюс”, мккат/л ($M \pm m$, $n = 6$)

Встановлено, що активність аланін- та аспартат-амінотрансфераз у сироватці крові бугайців дослідної групи на 10 добу дослідів знизилася на 7,6 і 5,4 %. На 20 добу згодовування тваринам кормової добавки “Метісевіт плюс” у сироватці крові дослідної групи бугайців спостерігали зниження активності вказаних ензимів на 14,2 і 13,1 % щодо показників контрольної групи тварин.

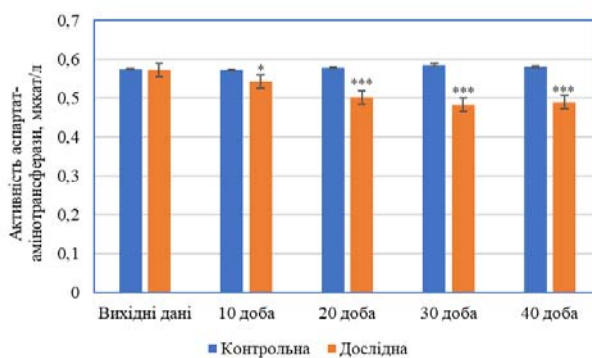


Рис. 9. Активність аспартат-амінотрансферази у сироватці крові бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження та дії кормової добавки “Метісевіт плюс”, мккат/л ($M \pm m$, $n = 6$)

На 30 добу дослідів активність аланін-амінотрансферази у сироватці крові бугайців дослідної групи коливалася у межах величин $0,280 \pm 0,007$ мккат/л, тимчасом як у контрольної групи даний показник був значно вищим і коливався відповідно у межах $0,356 \pm 0,010$ мккат/л.

При дослідженні активності аспартат-амінотрансферази у сироватці крові бугайців дослідної групи встановлено її зниження на 17,4 % порівняно з показниками контрольної групи.

На 40 добу досліду встановлено, що активність аланін- та аспартат-амінотрансферази у сироватці крові бугайців дослідної групи коливалася в межах фізіологічних величин.

Таким чином, кормова добавка “Метісевіт плюс” сприяла посиленню функціонального стану та протеїнсинтезувальної функції печінки бугайців за умов техногенного навантаження.

Ефективність кормової добавки можна пояснити впливом її складників на основні патогенетичні ланки патологічного процесу, спричиненим Кадмієм і Свинцем (Slobodian et al., 2020).

Використання Селену у складі кормової добавки сприяло недопущенню всмоктуванню Кадмію і Свинцю в травному каналі. Варто зазначити, що в організмі тварин Селен стимулює процеси обміну речовин, його основною біохімічною функцією є участь в побудові і функціонуванні ензиму глутатіонової системи – глутатіонпероксидази, а також гліцинередуктази і цитохрому 3 (Martyschuk et al., 2020). Селен є антагоністом ртуті та миш'яку і здатний захищати організм тварин від Кадмію, Свинцю, Талію (Sobolev et al., 2018).

Цинк сприяє всмоктуванню вітаміну Е та підтримує нормальну концентрацію даного вітаміну в крові. Він посилює імунну систему організму і має детоксикуючу дію – сприяє видаленню з організму двоокису вуглецю. Цинк бере участь у формуванні Т-клітинного імунітету, функціонуванні десятків ензимів, а також антиоксидантного ензиму супероксиддисмутази (Muhammed & Vadstrup, 2014; Kogan et al., 2017).

З даних літератури відомо, що найбільш високу антиоксидантну властивість серед сполук фенольного ряду в організмі тварин проявляє група токоферолів. Його антиоксидантна роль зумовлена локалізацією у фосфоліпідних шарах клітинних мембран та безпосереднім контактом з ненасиченими жирними кислотами, які токоферол захищає від руйнівного впливу вільних радикалів (Di Vincenzo et al., 2019; Yang et al., 2020).

Метіонін є життєво необхідною амінокислотою, яка бере участь у синтезі білків, а також є універсальним джерелом метильних груп, синтез яких в організмі обмежений. Метіонін є важливим джерелом сірки в організмі. Він бере участь у синтезі сірчаної кислоти, яка має важливе значення для знешкодження у печінці тварин деяких продуктів обміну (Albrecht et al., 2017; Tombarkiewicz et al., 2020).

Антиоксидант фенарон, який входить до складу кормової добавки запобігає окисненню жирів та знижує вміст вільних радикалів і продуктів перекисного окиснення ліпідів. Крім цього, встановлено активізуючу дію фенарону на ензими глутатіонової ланки антиоксидантної системи: глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу (Nazaruk et al., 2015).

Як було показано в дослідженнях, ліквідація синдрому ендогенної інтоксикації сприяє відновленню функціонального стану клітинних мембран печінки, протеїнсинтезувальної функції печінки, підвищенню антиоксидантного статусу організму бугайців.

Висновки

За результатами експериментальних досліджень встановлено, що досліджувана кормова добавка “Метісевіт плюс” є ефективною за свинцево-кадмієвого навантаження у бугайців. Уведення піддослідним тваринам цієї кормової добавки сприяє відновленню в них пригніченої гемопоетичної (число еритроцитів і вміст гемоглобіну в крові зростає на 25,3 і 19,4 % ($P < 0,001$), кількість лейкоцитів знижується на 12,4 % ($P < 0,01$), гепатопротекторної (у сироватці крові збільшується концентрація загального протеїну на 10,3 % ($P < 0,01$), альбумінів на 15,4 % ($P < 0,01$), пригнічується активність АлАТ і АсАТ на відповідно 21,3 ($P < 0,001$) і 17,4 % ($P < 0,001$) функцій.

Відомості про конфлікт інтересів

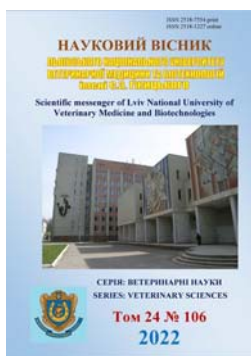
Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Al-Azemi, M., Omu, F. E., Kehinde, E.O., Anim, J. T., Oriowo, M. A., & Omu, A. E. (2010). Lithium protects against toxic effects of cadmium in the rat testes. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 27 (8), 469–476. DOI: 10.1007/s10815-010-9426-3.
- Albrecht, A., Herbert, U., Miskel, D., Heinemann, C., Braun, C., Dohlen, S., Zeitz, J. O., Eder, K., Saremi, B., & Kreyenschmidt, J. (2017). Effect of methionine supplementation in chicken feed on the quality and shelf life of fresh poultry meat. *Poultry Science*, 96(8), 2853–2861. DOI: 10.3382/ps/pex071.
- Ali, M. M., Murthy, R. C., & Chandra, S. V. (1986). Developmental and longterm neurobehavioral toxicity of low-level in utero Cd exposure in rats. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 8(5), 463–468. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3785508>.
- Di Vincenzo, A., Tana, C., El Hadi, H., Pagano, C., Vettor, R., & Rossato, M. (2019). Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Metabolic Properties of Tocopherols and Tocotrienols: Clinical Implications for Vitamin E Supplementation in Diabetic Kidney Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 5101. DOI: 10.3390/ijms20205101.
- El-Shahat, A. E., Gabr, A., Meki, A. R., & Mehana, E. S. (2009). Altered testicular morphology and oxidative stress induced by cadmium in experimental rats and protective effect of simultaneous green tea extract. *International Journal of Morphology*, 27(3), 757–764. DOI: 10.4067/S0717-95022009000300020.
- Ercal, N., Gurer-Orhan, H., & Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1(6), 529–539. DOI: 10.2174/1568026013394831.

- Fan, W., Wang, J., Wu, H., Lian, L., Du, S., & Chen, L. (2015). Analysis of heavy metals monitoring results in food in Shaoxing in 2014. *Wei Sheng Yan Jiu*, 44(6), 922–927. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26738384>.
- Fregoneze, J. B., Marinho, C. A., Soares, T., Castro, L., Sarmiento, C., Cunha, M., Gonzalez, V., Oliveira, P., Nascimento, T., Luz, C.P., Santana, Jr. P., De-Oliveira, I.R., & e-Castro-e-Silva, E. (1997). Lead (Pb²⁺) and cadmium (Cd²⁺) inhibit the dipsogenic action of central beta-adrenergic stimulation by isoproterenol. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30(3), 419–423. DOI: 10.1590/S0100-879X1997000300018.
- Fryzova, R., Pohanka, M., Martinkova, P., Cihlarova, H., Brtnicky, M., Hladky, J., & Kynicky, J. (2018). Oxidative Stress and Heavy Metals in Plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 245, 129–156. DOI: 10.1007/398_2017_7.
- Fu, Z., & Xi, S. (2020). The effects of heavy metals on human metabolism. *Toxicol Mech Methods*, 30(3), 167–176. DOI: 10.1080/15376516.2019.1701594.
- Grymak, Y., Skoromna, O., Stadnytska, O., Sobolev, O., Gutyj, B., Shalovylo, S., Hachak, Y., Grabovska, O., Bushueva, I., Denys, G., Hudyma, V., Pakholkiv, N., Jarochoovich, I., Nahirniak, T., Pavliv, O., Farionik, T., & Bratyuk, V. (2020). Influence of “Thiromagnile” and “Thyrioton” preparations on the antioxidant status of pregnant cows. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(1), 122–126. DOI: 10.15421/2020_19.
- Gutyi, B., Ostapiuk, A., Kachmar, N., Stadnytska, O., Sobolev, O., Binkevych, V., Petryshak, R., Petryshak, O., Kulyaba, O., Naumyuk, A., Nedashkivsky, V., Nedashkivska, N., Magrelo, N., Golodyuk, I., Nazaruk, N., & Binkevych, O. (2019). The effect of cadmium loading on protein synthesis function and functional state of laying hens' liver. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(3), 222–226. URL: <https://www.ujecology.com/articles/the-effect-of-cadmium-loading-on-protein-synthesis-function-and-functional-state-of-laying-hens-liver.pdf>.
- Gutyj, B. V., Murs'ka, S. D., Gufrij, D. F., Hariv, I. I., Levkiv'ska, N. D., Nazaruk, N. V., Gajdjuk, M. B., Pryjma, O. B., Bilyk, O. Ja., & Guta, Z. A. (2016). Influence of cadmium loading on the state of the antioxidant system in the organism of bulls. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology*, 24(1), 96–102. DOI: 10.15421/011611.
- Gutyj, B. V., Ostapyuk, A. Y., Sobolev, O. I., Vishchur, V. J., Gubash, O. P., Kurtyak, B. M., Kovalskyi, Y. V., Darmohray, L. M., Hunchak, A. V., Tsisaryk, O. Y., Shcherbatyy, A. R., Farionik, T. V., Savchuk, L. B., Palyadichuk, O. R., & Hrymak, K. (2019). Cadmium burden impact on morphological and biochemical blood indicators of poultry. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(1), 236–239. URL: <https://www.ujecology.com/articles/cadmium-burden-impact-on-morphological-and-biochemical-blood-indicators-of-poultry.pdf>.
- Gutyj, B., Stybel, V., Darmohray, L., Lavryshyn, Y., Turko, I., Hachak, Y., Shcherbatyy, A., Bushueva, I., Parchenko, V., Kaplaushenko, A., & Krushelnyska, O. (2017). Prooxidant-antioxidant balance in the organism of bulls (young cattle) after using cadmium load. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(4), 589–596. URL: <https://www.ujecology.com/articles/prooxidantantioxidant-balance-in-the-organism-of-bulls-young-cattle-after-using-cadmium-load.pdf>.
- Ivankiv, M., Kachmar, N., Mazurak, O., Martyshuk, T. (2019). Hepatic protein synthesis and morphological parameters in blood of rats under oxidative stress and action of feed additive “Butaselmavit-plus”. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(4), 628–633. URL: <https://www.ujecology.com/articles/hepatic-protein-synthesis-and-morphological-parameters-in-blood-of-rats-under-oxidative-stress-and-action-of-feed-additi.pdf>.
- Järup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68, 167–82. DOI: 10.1093/bmb/ldg032.
- Kalyn, B. M., Khromova, M. V., Vishchur, V. Ia., Butsiak, H. A., Kropyvka, S. I., & Gutyj, B. V. (2020). Estimation of quality of surface water of Dniester river basin within Lviv and Khmelnytsk regions. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(6), 127–132. DOI: 10.15421/2020_271.
- Kogan, S., Sood, A., & Garnick, M. S. (2017). Zinc and Wound Healing: A Review of Zinc Physiology and Clinical Applications. *Wounds*, 29(4), 102–106.
- Martyshuk, T. V., Gutyj, B. V., Zhelavskiy, M. M., Midyk, S. V., Fedorchenko, A. M., Todoruk, V. B., Nahirniak, T. B., Kisera, Ya. V., Sus, H. V., Chemerys, V. A., Levkivska, N. D., & Iglitskej, I. I. (2020). Effect of Butaselmavit-Plus on the immune system of piglets during and after weaning. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(2), 347–352. DOI: 10.15421/2020_106.
- Muhamed, P.K., & Vadstrup, S. (2014). Zinc is the most important trace element. *Ugeskr Laeger*, 176(5), V11120654. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25096007>.
- Nazaruk, N., Gutyj, B. V., & Hufriy, D. (2015). Influence of metifen and vitamix se on the activity of aminotransferases of bulls blood serum at cadmium nitrate loading. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 17(1), 121–126. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/231>.
- Piven, O. T., Khimych, M. S., Salata, V. Z., Gutyj, B. V., Naidich, O. V., Skrypka, H. A., Koreneva, Z. B., Dvilyuk, 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. URL: <https://www.ujecology.com/articles/contmination-of-heavy-metals-and-radionuclides-in-the-honey-with-different-production-origin.pdf>.
- Pratish, A., Kumar, A., & Hu, Z. (2018). Adverse effect of heavy metals (As, Pb, Hg, and Cr) on health and their bioremediation strategies: a review. *International Microbiology*, 21(3), 97–106. DOI: 10.1007/s10123-018-0012-3.
- Rahman, Z., & Singh, V. P. (2019). The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(7), 419. DOI: 10.1007/s10661-019-7528-7.

- Rahman, Z., & Singh, V. P. (2020). Bioremediation of toxic heavy metals (THMs) contaminated sites: concepts, applications and challenges. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(22), 27563–27581. DOI: 10.1007/s11356-020-08903-0.
- Rehman, K., Fatima, F., Waheed, I., & Akash, M. S. H. (2018). Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(1), 157–184. DOI: 10.1002/jcb.26234
- Renu, K., Chakraborty, R., Myakala, H., Koti, R., Famurewa, A. C., Madhyastha, H., Vellingiri, B., George, A., & Valsala Gopalakrishnan, A. (2021). Molecular mechanism of heavy metals (Lead, Chromium, Arsenic, Mercury, Nickel and Cadmium) - induced hepatotoxicity – A review. *Chemosphere*, 271, 129735. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.129735
- Sall, M. L., Diaw, A. K. D., Gningue-Sall, D., Aaron, S. E., & Aaron, J.-J. (2020). Toxic heavy metals: impact on the environment and human health, and treatment with conducting organic polymers, a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(24), 29927–29942. DOI: 10.1007/s11356-020-09354-3.
- Slivinska, L. G., Shcherbatyy, A. R., Lukashchuk, B. O., Zinko, H. O., Gutyj, B. V., Lychuk, M. G., Chernushkin, B. O., Leno, M. I., Prystupa, O. I., Leskiv, K. Y., Slepokura, O. I., Sobolev, O. I., Shkromada, O. I., Kysterna, O. S., & Musiienko, O. V. (2019). Correction of indicators of erythropoiesis and microelement blood levels in cows under conditions of technogenic pollution. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(2), 127–135. URL: <https://www.ujecology.com/articles/correction-of-indicators-of-erythropoiesis-and-microelement-blood-levels-in-cows-under-conditions-of-technogenic-poll.pdf>.
- Slobodian, S. O., Gutyj, B. V., & Leskiv, K. Y. (2019). The level of lipid peroxidation products in the rats blood under prolonged cadmium and lead loading. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 2(3), 15–18. DOI: 10.32718/ujvas2-3.04.
- Slobodian, S., Gutyj, B., Gufriy, D., Hnativ, P., & Murska, S. (2020). The effect of sodium selenite and feed additive “Metisevit plus” on the protein-synthesizing function and functional state of the liver of rats under prolonged cadmium and lead loading. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(100), 54–59. DOI: 10.32718/nvlvet10010.
- Sobolev, O., Gutyj, B., Petryshak, R., Pivtorak, J., Kovalskyi, Y., Naumyuk, A., Petryshak, O., Semchuk, I., Mateusz, V., Shcherbatyy, A., & Semeniv, B. (2018). Biological role of selenium in the organism of animals and humans. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 654–665. DOI: 10.15421/2017_263.
- Stoyanovskyy, V., Usenko, S., Shostya, A., Kuzmenko, L., Slynko, V., & Tenditnyk, V. (2020). Hormonal regulation of prooxidant-antioxidant homeostasis in gilts. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 3(3), 39–43. DOI: 10.32718/ujvas3-3.08.
- Tombarkiewicz, B., Trzeciak, K., Bojarski, B., & Lis, M. W. (2020). The effect of methionine and folic acid administered in ovo on the hematological parameters of chickens (*Gallus gallus domesticus*). *Poultry Science*, 99(9), 4578–4585. DOI: 10.1016/j.psj.2020.05.014.
- Vasylyev, D., Priimenko, B., Aleksandrova, K., Mykhalchenko, Y., Gutyj, B., Mazur, I., Magrelo, N., Sus, H., Dashkovskyy, O., Vus, U., & Kamratska, O. (2021). Investigation of the acute toxicity of new xanthine xenobiotics with noticeable antioxidant activity. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(1), 315–318. DOI: 10.15421/2021_47.
- Vishchur, V. Y., Gutyj, B. V., Nischemenko, N. P., Kushnir, I. M., Salata, V. Z., Tarasenko, L. O., Khimych, M. S., Kushnir, V. I., Kalyn, B. M., Magrelo, N. V., Boiko, P. K., Kolotnytskyy, V. A., Velesyk, T., Pundyak, T. O., Gubash, O. P. (2019). Effect of industry on the content of fatty acids in the tissues of the honey-bee head. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(3), 174–179. URL: <https://www.ujecology.com/articles/effect-of-industry-on-the-content-of-fatty-acids-in-the-tissues-of-the-honeybee-head.pdf>.
- 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).
- Yang, C. S., Luo, P., Zeng, Z., Wang, H., Malafa, M., & Suh, N. (2020). Vitamin E and cancer prevention: Studies with different forms of tocopherols and tocotrienols. *Molecular Carcinogenesis*, 59(4), 365–389. DOI: 10.1002/mc.23160.
- Yaroshevych, N. B., Gutyj, B. V., Hrymak, O. Ya., Kushnir, L. P., Kalaitan, T. V., Kondrat, I. Y., & Shevchuk, O. O. (2021). The state of environmental taxation in Ukraine and the main directions of reform. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(1), 350–359. DOI: 10.15421/2021_52.



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/nvlvet10610

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

UDC 619:616.33:616.33-002:615.322:636

Therapeutic efficacy of “Omeprazole” in horses with equine gastric ulcer syndrome

O. Stefanyk✉, L. Slivinska

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

Article info

Received 31.03.2022

Received in revised form

02.05.2022

Accepted 03.05.2022

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-063-197-29-03
E-mail: ostapstefanyk@gmail.com

Stefanyk, O., & Slivinska, L. (2022). Therapeutic efficacy of “Omeprazole” in horses with equine gastric ulcer syndrome. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 62–67. doi: 10.32718/nvlvet10610

Gastric ulcer syndrome most often appears in horses as erosions and ulcers of the squamous gastric mucosa. It is believed that gastric ulcers of various etiologies are determined by the amount of gastric acidity regulated by the secretion of hydrochloric acid (HCL). At the same time, the squamous portion of the stomach is the most sensitive to HCL. When ulcers appear, medical treatment is effective. This medicine includes gastric acid suppressor drugs like “Omeprazole”. The mechanism of action whose final stage is to inhibit HCL secretion at the cellular level. Today the importance of antisecretory therapy is well known in treating gastroesophageal reflux and peptic ulcer diseases in humans. However, the acid-suppressive effect of “Omeprazole” in horses with gastric ulcers requires further research. This study aimed to determine the therapeutic efficacy and acid-suppressive effect of the proton pump inhibitor “Omeprazole” in doses of 2 mg/kg and 4 mg/kg. For this purpose, $n = 14$ horses were selected for the research with the equine gastric squamous disease of various degrees. Gastric squamous portion were observed by gastroscopy procedure and presented with mild lesions in selected horses. Diagnosis of lesions and determination of therapeutic efficacy of the drug was carried out based on gastroscopy results. The drug was administered per os for 21 days. The intragastric pH value determined the acid-suppressive effect of the drug. Collection of the samples was conducted on the 1st, 5th, 10th and 21st day of the medical therapy. Before “Omeprazole” was administered, the basal pH level was 3.45 ± 0.23 . After the first dose of the “Omeprazole” was administered at 4 mg/kg the average pH value was 5.25 ± 0.34 . At the same time, the “Omeprazole” at a dose of 2 mg/kg provides intragastric pH 4.41 ± 0.33 . The therapeutic efficacy of “Omeprazole” is closely related to the intragastric pH of the horses. The “Omeprazole” at a dose of 4mg/kg is highly effective in treating squamous lesions grade 2, 3. However, the duration of therapy for 21 days may not be sufficient to achieve complete healing of the affected tissues. Administration of the “Omeprazole” at a dose of 2 mg/kg is effective in treating small or multifocal lesions and hyperemia of the squamous mucosa.

Key words: horse, gastric, ulcer, squamous, proton-pump inhibitor.

Терапевтична ефективність препарату “Омепразол” за синдрому виразки шлунка у коней

О. В. Стефаник✉, Л. Г. Слівінська

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

Синдром виразки шлунка в коней найчастіше проявляється у вигляді дефектів та уражень слизової оболонки різного ступеня. Вважається, що при ураженнях стінок шлунка різної етіології основним детермінуючим фактором є зміна його кислотності, що регулюється кількістю секрету хлоридної кислоти (HCL). Водночас найбільш чутливими до HCL є клітини незалозистого відділу шлунка. За таких умов ефективними у лікуванні коней за синдрому виразки шлунка є препарати, механізм дії яких полягає в гальмуванні секреції HCL на клітинному рівні. На сьогодні важливість антисекреторної терапії є загальновідомою при лікуванні людей за гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби та пептичної виразки. Проте кислотосупресивна дія препарату “Омепразол” за

уражень слизової оболонки шлунка у коней недостатньо вивчена і потребує подальших досліджень. Метою роботи було визначити лікувальну ефективність та кислотосупресивну дію препарату групи, інгібіторів протонної помпи “Омепразол” у дозах 2 мг/кг та 4 мг/кг маси тіла. Для цього відібрано $n = 14$ коней з ураженням стінки незалозистого відділу шлунка різного ступеня. Діагностику уражень та визначення лікувальної ефективності препарату здійснювали на основі отриманих результатів гастроскопії шлунка. Препарат задавався перорально дослідним коням упродовж 21 доби. Кислотосупресивну дію препарату визначали за показником внутрішньошлункового рН на 5, 10 та 21 доби. На початку досліджень базальний рівень рН дорівнював значенням $3,45 \pm 0,23$ одиниці, що вказує на нормоацидність вмісту шлунка. За умови задоволення препарату тваринам в дозі 4 мг/кг маси тіла упродовж дослідження, зафіксовано середні значення рН в межах $5,25 \pm 0,34$ та $6,4 \pm 0,34$ од. на 1, 21 доби. Водночас препарат у дозі 2 мг/кг маси тіла забезпечує внутрішньошлункове рН в межах $4,41 \pm 0,33$ та $5,01 \pm 0,28$ од. на 1, 21 доби. Лікувальна ефективність препарату “Омепразол” тісно взаємопов’язана з даним рН – метрією шлунка коней. Встановлено ефективну дію препарату в дозі 4 мг/кг за уражень слизової оболонки незалозистого відділу ступеня 2, 3.

Ключові слова: кінь, шлунок, виразки, ерозії, лікування інгібітори-протонної помпи.

Вступ

Донедавна захворювання шлунка у коней з ураженнями слизової оболонки належали до маловивченої проблеми без явної клінічної картини. За даними (Begg & O’Sullivan, 2003) найчастіше захворювання шлунка в коней проявляються у вигляді уражень та дефектів СОШ різного ступеня. Клінічні і лабораторні методи діагностики малоефективні, у зв’язку з цим у ветеринарну практику було запроваджено додаткові методи візуальної діагностики, зокрема гастроскопії.

У зв’язку з високою поширеністю, а також поліетіологічною природою даного захворювання у ветеринарну практику впроваджено новий термін: Синдром виразки шлунка коней — *Equine gastric ulcer syndrome* (EGUS) (Merritt, 2009). Водночас даний синдром класифікується на *Equine gastric squamous disease* (EGSD) при дефектах різної тяжкості в ділянці незалозистого відділу шлунка. До причин даного захворювання належить широкий спектр факторів ризику, таких як: незбалансована годівля (з великим вмістом високовуглеводних кормів), стійлове утримання, стрес та фізичні навантаження у період тренінгу за збільшення фізичних навантажень (Murray et al., 1996; Luthersson et al., 2009). На це вказують результати досліджень авторів (Murray et al., 1996; Vatistas et al., 1999), де частота ураження стінок слизової оболонки шлунка (СОШ) діагностується в 40–80 % коней та може, сягати 90 % у чистокровної породи в періоди посиленого тренінгу.

Клінічні ознаки за синдрому виразки шлунка не завжди виражені, їхній прояв залежить від активності, ступеня та ділянки ульceraції (Fellenius et al., 1981). Водночас такі клінічні прояви, як поганий апетит, гіперсалівація, хронічна діарея тощо, асоціюються з даним захворюванням. Ураження СОШ також можуть бути причиною абдомінального дискомфорту, зниження маси тіла, працездатності та загальної продуктивності коней (Niedzwiedz et al., 2013).

Гастроскопічне дослідження є основним діагностичним методом захворювань шлунка в коней (Sykes & Jokisalo, 2014). Цей метод візуальної діагностики дає змогу локалізувати та визначити ступінь дефектів на стінках шлунка, а також проводити динаміку регенеративних процесів СОШ впродовж лікування.

Гастроскопія шлунка часто застосовується в гуманній медицині для діагностики гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби, пептичної виразки та інших патологій шлунка (Fadieienko & Prosolenko, 2011). Разом із цим є різні види лікувальної терапії, що да-

ють змогу досягти високого терапевтичного ефекту. Незважаючи на всі успіхи при розробці нових схем і препаратів для лікування, дане питання залишається актуальним та потребує подальшого дослідження.

На сьогодні важливість антисекреторної терапії є загальновідомою в гуманній та ветеринарній медицині. Виділяють дві групи препаратів: інгібітори протонної помпи (ІПП) та блокатори H₂-гістамінових рецепторів, механізм дії яких на кінцевому етапі полягає в гальмуванні секреції хлоридної кислоти (HCL). У ветеринарній медицині препаратом вибору за ураження СОШ у коней є “Омепразол”, що належить до фармакотерапевтичної групи препаратів ІПП та випускається в різних формах і дозуваннях. Механізм дії препарату полягає в інгібуванні ферменту парієтальних клітин шлунка H⁺/K⁺ АТФази (який також називають протонною помпою). Це призводить до блокування перенесення іонів водню із парієтальних клітин у порожнину шлунку та гальмування секреції HCL (Fellenius et al., 1981). “Омепразол” у формі кристалізованого порошку швидко руйнується в кислому середовищі шлунка (Sykes et al., 2014). Тому для забезпечення ефективної фармакологічної дії до складу препарату входять активні інгредієнти із кишковорозчинним покриттям для захисту в кислому середовищі шлунка.

За функціональними ознаками продукування HCL парієтальними залозами дна шлунка в коней відбувається постійно. Водночас дані, отримані зарубіжними авторами, дослідження яких проводилися в умовах *in vitro*, вказують на високу чутливість клітин незалозистого відділу до впливу HCL та летких жирних кислот (ЛЖК) (Andrews et al., 2006). За таких умов важливим є функціональне дослідження шлунка, що ґрунтується на вимірюванні кислотності вмісту. У ветеринарній та гуманній медицині для визначення кислотності шлунка впроваджений метод внутрішньошлункової рН-метрії. Цей метод дає можливість визначати функціональний стан шлунка, ступінь кислотопродукції та кислотонейтралізуючої дії за умови застосування антацидних та кислотосупресивних препаратів.

Метою роботи було визначити лікувальну ефективність та кислотосупресивну дію препарату групи ІПП “Омепразол” у дозах 2 мг/кг та 4 мг/кг маси тіла у коней за синдрому виразки шлунка.

Матеріал і методи досліджень

Для гастроскопічного дослідження використовували портативну ендоскопічну систему Surevision

VLS — 150 D Digital Video System з діаметром робочого каналу 3,7 мм. Ураження стінок СОШ підтверджували на підставі отриманих результатів візуальної оцінки слизової оболонки шлунка через екран гастроскопу. Гастроскопію проводили в умовах конюшні з використанням седативних препаратів “Детомідин” (Detomidine hydrochloride) та “Бутомідор” (Butorfanol) у дозі 0,04 мг/кг, в/в.

Дефекти стінки слизової оболонки оцінювали відповідно до системи класифікації (Equine Gastric Ulcer Council 0–4) (Andrews et al., 1999). Ступінь 0: епітелій незмінений, слизова без гіперемії та гіперкератозу; Ступінь 1: епітелій незмінений, наявні ділянки гіперемії або гіперкератозу; Ступінь 2: наявні дрібні маленькі або мультифокальні ураження; Ступінь 3: наявні великі, поодинокі чи мультифокальні ураження або великі ділянки поверхневих уражень; Ступінь 4: наявні великі глибокі виразки. Аспірацію вмісту шлунка проводили з допомогою робочого каналу ендоскопа.

Дослідні коні були віком понад 3 роки (8.11 ± 0.84) та не піддавались антисекреторній терапії 28 днів перед дослідженням. За результатами проведеної гастроскопії (Stefanyk & Slivinska, 2019) відібрано $n = 14$ коней із дефектами незалозистого відділу шлунка ступенів 1–3, англійської чистокровної $n = 8$ та української верхової $n = 6$. У 35,5 % на початку дослідження спостерігали характерні клінічні ознаки для синдрому виразки шлунка. У 4/14 дослідних тварин виявлено порушення апетиту та у 2/14 ознаки зниження маси тіла.

Для визначення лікувальної ефективності та антисекреторної дії препарату “Омепразол” проводився моніторинг стану слизової оболонки та кислотності вмісту шлунка, шляхом повторної гастроскопії та рН метрії на 1, 5, 10 та 21 добу.

Препарат “Омепразол” задавали один раз на добу (18:00 “Омепразол” 20:00) протягом 21 доби. Прийом препарату у дослідних тварин проводився в дозах: 2 мг/кг – перша дослідна група та 4 мг/кг маси тіла – друга група перорально. Для цього сформовано дві групи коней з ураженнями СОШ незалозистого відділу шлунка ступенів: 1 – $n = 2$, 2 – $n = 4$, 3 – $n = 2$ першої дослідної та 2 – $n = 4$, 3 – $n = 2$ другої дослідної груп.

На 0 добу (показник контрольного значення рН перед задаванням першої дози препарату) та 1, 5, 10, 21 добу дослідження о 8:00 – 10:00 проводився відбір вмісту та моніторинг стану слизової оболонки шлунка. Для цього проводився відбір шлункового соку методом аспірації 20–40 мл вмісту через робочий канал ендоскопа. Робочий канал ендоскопа промивали дистильованою водою та продували повітрям з метою видалення залишків рідини між відбором зразків.

Моніторинг кислотності здійснювали методом експрес рН-метрії з допомогою цифрового вимірювального приладу (AZ-8685). Числові дані внутрішньошлункового рН отримували на місці відразу після відбору вмісту. Калібрування проводили в буферних розчинах рН 2–7, $t\ 20\ ^\circ\text{C}$. Базальне значення рН отримували перед задаванням препарату у процесі відбору перших зразків вмісту шлунка.

Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Official Journal of the European Union L276/33, 2010).

Результати досліджень

У процесі гастроскопії виявлені дефекти СОШ незалозистого відділу візуалізувались у вигляді гіперемії та поверхневих уражень різної величини ерозивного та виразкового характеру. Менш виражені зміни СОШ у вигляді жовтих нашарувань оцінювались як гіперкератоз стінки шлунка (Stefanyk & Slivinska, 2019).

За результатами першої гастроскопії шлунка, базальне значення рН шлункового соку в дослідних коней становило $3,45 \pm 0,23$ од. У коней першої дослідної групи перед задаванням препарату рН шлункового соку становило $3,59 \pm 0,29$ од. Після задавання першої дози 2 мг/кг препарату “Омепразол” внутрішньошлункове рН становило $4,41 \pm 0,33$ од. (рис. 1).

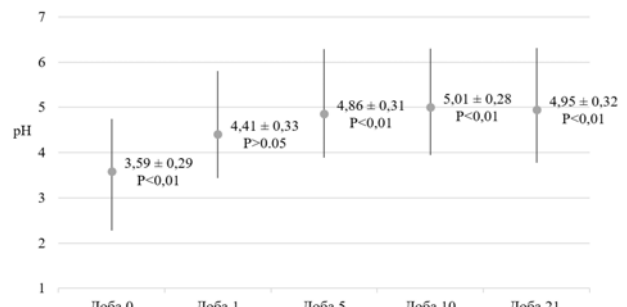


Рис. 1. Динаміка показників внутрішньошлункового рН на 0, 1, 5, 10, 21 добу, при задаванні препарату “Омепразол” у дозі 2 мг/кг

У коней другої дослідної групи встановлено зростання внутрішньошлункового рН до $5,25 \pm 0,34$ од. після одноразового задавання препарату проти $3,26 \pm 0,40$ од. до задавання (рис. 2).

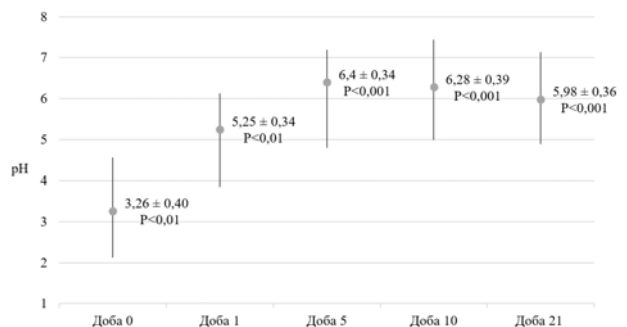


Рис. 2. Динаміка показників внутрішньошлункового рН до і на 0, 1, 5, 10, 21 добу, при задаванні препарату “Омепразол” у дозі 4 мг/кг

Водночас значення рН >4 виявлено у 3/8 тварин першої та 2/6 другої дослідної групи на початку дослідження. Після одноразового задавання препарату рН >4 виявлено у 5/8 тварин першої та 5/6 тварин другої дослідної групи препаратом (табл. 1).

Аналіз отриманих результатів на 5 добу вказує на більш виражену гіпоацидність внутрішньошлункового рН після задавання 5 доз препарату. Показник рН становив $4,86 \pm 0,31$ од. у коней першої та $6,4 \pm 0,34$ од. другої дослідних групи (рис. 1, 2). За таких умов рН >4 зафіксовано у 7/8 коней першої та 6/6 другої дослідної групи (табл. 1).

Інгібування кислотоутворювальної функції шлунка було виявлено на 10 та 21 добу. За таких умов показник рН >4 зафіксовано у 7/8 тварин першої дослідної групи на 10 та 21 добу. У 5/6 тварин другої дослідної групи виявлено рН >4 на 10 та 21 добу (табл. 1). Водночас рН шлункового соку становило $5,01 \pm 0,28$ на 10 та $4,95 \pm 0,32$ од. на 21 добу досліджень у коней першої дослідної групи, $5,01 \pm 0,40$ од. та $4,59 \pm 0,25$ од. другої дослідної групи відповідно (рис. 1, 2).

Таблиця 1

Результати динаміки показників рН >4 внутрішньошлункового середовища за лікування коней

Доба	Дози		Ступінь				
	2мг/кг	4 мг/кг	2мг/кг		4 мг/кг		
	рН >4	рН >4	1	2	3	2	3
0	3/8	2/6					
1	5/8	5/6	2/2	4/4	2/2	4/4	2/2
5	7/8	6/6					
10	7/8	6/6					
21	6/8	6/6	0/2	1/4	1/2	0/4	0/2

Обговорення

Клінічне значення рН-метрії шлунка полягає в ефективній діагностиці функціональних порушень при кислотозалежних захворюваннях шлунково-кишкового тракту. Даний метод дозволяє виробити адекватну тактику при лікуванні уражень слизової оболонки різного ступеня. Метою нашого дослідження було визначити ефективність кислотосупресивної дії ІПП та індивідуальну чутливість до лікарського препарату у дозах 2 мг/кг та 4 мг/кг у формі кишково-розчинних гранул.

Для дослідження відібрано 14 коней віком $8,11 \pm 0,84$. Попередніми дослідженнями (Stefanyk & Slivinska, 2021) вивчена поширеність та класифікація EGUS у верхових порід коней а також аналіз раціону, умови утримання та навантаження тварин в тренінгу.

У дослідженні сформовано дві групи коней, з ураженнями СОШ для вивчення лікувальної та кислотосупресивної дії препарату “Омепразол” в дозах 2 мг/кг та 4 мг/кг маси тіла. Здебільшого уражені ділянки візуалізувалися в межах малої кривизни незалозистого відділу шлунка поряд із межею *margo plicatus* (Stefanyk & Slivinska, 2021). Упродовж дослідження не було виявлено негативної реакції з боку організму на введення препарату.

Синдром виразки шлунка у коней деякою мірою є кислотозалежним захворюванням, тобто зниження шлункової секреції під дією кислотосупресивних препаратів сприяє об'єктивному поліпшенню стану уражених ділянок СОШ. Це пов'язано з багатьма чинниками, серед яких варто підкреслити загальне збільшення парієтальних клітин та високу активність

Аналіз результатів гастроскопії в коней обох груп вказує на позитивну динаміку загоєння дефектів і уражень СОШ 1–3 ступенів на 10 та 21 добу досліджень (табл. 1). На 21 добу у тварин першої дослідної групи з ураженням СОШ ступеня 1 слизова оболонка візуалізується без видимих патологічних змін у 2/2 тварин. Виявлено процеси рубцювання на ділянках уражень ступеня 2 у 4/4 тварин першої дослідної групи (табл. 1). Виявлено регенеративні процеси на ділянках СОШ з ознаками ураження ступеня 3 у коней першої дослідної групи. Більш виражений лікувальний ефект виявлено у тварин другої дослідної групи з повним загоєнням дефектів СОШ незалозистого відділу ступеня 2 у 4/4 та ступеня 3 у 2/2.

у них ферменту H^+/K^+-ATP ази — основної мішені для дії цих препаратів (Fadiejenko & Prosolenko, 2011). За таких умов під дією препарату “Омепразол” виявлено процеси пригнічення секреції HCL у коней із гіперкератозом стінок шлунка та ураженнями ерозивного характеру. При задаванні препарату в дозі 2 мг/кг спостерігали відсутність жовтих нашарувань слизової оболонки на 21 добу. Водночас результати повторної гастроскопії на 21 добу у коней другої дослідної групи свідчать про відсутність процесів рубцювання на ділянках із більш тяжкими ураженнями ступеня 3 на 10 та 21 добу. Отже, лікування коней у дозі 2 мг/кг протягом 21 доби є недостатнім для повного загоєння таких уражень.

Встановлено високу лікувальну ефективність препарату “Омепразол” у дозі 4 мг/кг при ураженнях стінки шлунка 2–3 ступенів (табл. 1). На 21 добу спостерігали загоєння дефектів СОШ у 6/6 тварин із дрібними та великими ділянками ураження. Ефективну лікувальну дію препарату “Омепразол” виявлено при задаванні у дозі 4 мг/кг, що корелюється з отриманими показниками внутрішньошлункового рН (рис. 1, 2) та внутрішньошлункового рН >4 упродовж дослідження (табл. 1).

Варто зазначити, що тривалість прийому та дозування препарату може змінюватися, враховуючи ступінь ураження та інгібування кислотоутворювальної функції шлунка за різних доз. Водночас лікувальна терапія впродовж 21 доби може бути недостатньою при більш тяжких ураженнях 3 ступеня. За таких умов тривалість терапії варто продовжити до 28–31 доби, на що також вказують дані зарубіжних авторів (Sykes et al., 2014). Отже, визначення кислотності та ступеня

ураження СОШ з допомогою гастроскопії є інформативними маркерами для визначення подальшої лікувальної терапії за даної патології.

Відповідно до результатів (табл. 1), на початку досліджень базальний рівень рН дорівнював значенням $3,45 \pm 0,23$ од., що вказує на нормоацидність вмісту. Після задавання препарату в дозі 2 мг/кг та 4 мг/кг нами виявлено зміни внутрішньошлункового рН з помірною та вираженою гіпоацидністю (рис. 1, 2). Варто зазначити, що антисекреторна дія ІПП при рН > 4 тривалістю 18 год забезпечує регенерацію слизової оболонки шлунка в людей (Fadieienko & Prosolenko, 2011). За результатами зарубіжних досліджень (Sykes et al., 2014; Sykes et al., 2015) встановлено, що антисекреторна дія ІПП упродовж 12 год. є достатньою для загоєння виразок незалозистого відділу шлунка в коней. Результати нашого дослідження вказують на те, що кислотосупресивна дія препарату “Омепразол” у дозі 2 мг/кг та 4 мг/кг забезпечувала рН >4 у 5/8 та 5/6 коней після задавання першої дози препарату (табл. 1). При цьому спостерігається внутрішньошлункове рН >4 при дозі 4 мг/кг у 100 % тварин на 5, 10, 21 добу. Водночас рН >4 виявлено у 7/8 тварин на 5, 10 добу та у 6/8 на 21 добу дослідження (табл. 1).

За даними зарубіжних авторів (Ricardo & Andrews 2009), у коней зі скаргами власників на клінічні прояви, що асоціюються з синдромом виразки шлунка, ураження СОШ було виявлено у 88–92 % тварин, проте у 37–52 % тварин клінічні прояви були відсутні. У даній роботі в 35,7 % дослідних коней спостерігали характерні клінічні ознаки, зокрема у 3/14 виявлено порушення апетиту та в 2/14 ознаки зниження маси тіла.

Результати авторів (Ricardo & Andrews 2009) також вказують на значне поліпшення апетиту та відновлення маси тіла під час лікувальної терапії, спрямованої на загоєння ділянок з ураженнями СОШ. Ми виявили схожу тенденцію у тварин з клінічною симптоматикою даного захворювання. За таких обставин спостерігали відновлення апетиту у коней на 5–7 добу, на 15–20 добу – поліпшення загального стану та збільшення маси тіла при лікуванні коней з ураженнями СОШ.

Методи повторної гастроскопії та рН-метрії шлунка є ефективним діагностичним інструментом для визначення тривалості терапії та терапевтичної дози препарату “Омепразол” для досягнення максимального терапевтичного ефекту у коней за синдрому виразки шлунка.

Висновки

Отже, препарат “Омепразол” у дозі 2 мг/кг та 4 мг/кг для перорального застосування забезпечує кислотосупресивну та лікувальну дію за синдрому виразки шлунка коней. Результати повторної гастроскопії на 10, 21 доби вказують на високу лікувальну дію препарату “Омепразол” у дозі 4 мг/кг маси тіла на ураження СОШ 2–3 ступенів. Лікувальна дія препарату “Омепразол” у дозі 2 мг/кг маси тіла є ефективною при ураженні СОШ 1–2 ступенів. Результати рН-метрії вмісту шлунка підтверджують високий рівень інгібування

кислотоутворювальної функції шлунка при задаванні препарату “Омепразол” у дозі 4 мг/кг маси тіла.

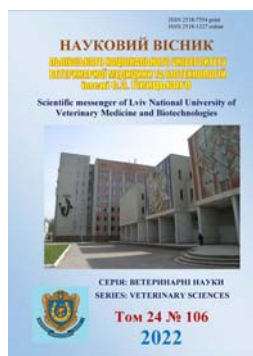
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Andrews, F. M., Buchanan, B. R., & Smith, S. H. (2006). In vitro effects of hydrochloric acid and various concentrations of acetic, propionic, butyric, or valeric acids on bioelectric properties of equine gastric squamous mucosa. *American Journal of Veterinary Research*, 67(11), 1873–1882. DOI: 10.2460/ajvr.67.11.1873.
- Andrews, F., Bernard, W., Byars, D., Cohen, N., & Divers, T. (1999). Anon. Recommendations for the diagnosis and treatment of equine gastric ulcer syndrome (EGUS). *Equine Veterinary Education*, 11(55), 262–272. DOI: 10.1111/j.2042-3292.1999.tb00961.x.
- Begg, L., & O'Sullivan, C. (2003). The prevalence and distribution of gastric ulceration in 345 racehorses. *Australian Veterinary Journal*, 81(4), 199–201. DOI: 10.1111/j.1751-0813.2003.tb11469.x.
- Fadieienko, H. D., & Prosolenko, K. O. (2011). Otsinka efektyvnosti ta bezpechnosti vykorystannia preparatu “Opra-zol” u patsiientiv iz hastroezofahealnoi refluksnoi khvoroboi. *Suchasna gastroenterologhiia*, 2(58), 56–59. URL: http://www.vitapol.com.ua/user_files/pdfs/gastro/250345775886826_08052011132146.pdf (in Ukrainian).
- Fellenius, E., Berglindh, T., Sachs, G. et al. (1981). Substituted benzimidazoles inhibit gastric acid secretion by blocking (H⁺ + K⁺) ATPase. *Nature*, 290(5802), 159–161. DOI: 10.1038/290159a0.
- Luthersson, N., Nielsen, K., Harris, P., & Parkin, T. (2009). Risk factors associated with equine gastric ulceration syndrome (EGUS) in 201 horses in Denmark. *Equine Veterinary Journal*, 41, 625–630. DOI: 10.2746/042516409X441929.
- Merritt, A. (2009). Appeal for proper usage of the term “EGUS”: Equine gastric ulcer syndrome. *Equine Veterinary Journal*, 41(7), 616. DOI: 10.2746/042516409x454574.
- Murray, M. J., Schusser, G. F., Pipers, F. S., & Gross, S. J. (1996). Factors associated with gastric lesions in Thoroughbred racehorses. *Equine Veterinary Journal*, 28(5), 368–374. DOI: 10.1111/j.2042-3306.1996.tb03107.x.26, 731.
- Niedźwiedz, A., Krzysztof, K., & Józef, N. (2013). Endoscopic findings of the stomach in pleasure horses in Poland. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55(1), 45. DOI: 10.1186%2F1751-0147-55-45.
- Ricardo, V., & Andrews F. M. (2009). New Perspectives in Equine Gastric Ulcer Syndrome. *Vet Clin Equine*, 25, 283–301. DOI: 10.1016/j.cveq.2009.04.013.
- Stefanyk, O., & Slivinska, L. (2019). Pathomorphological study on gastric ulceration in horses. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 21(96), 192–197. DOI: 10.32718/nvlvet9633.

- Stefanyk, O., & Slivinska, L. (2021). Prevalence of gastric ulcer syndrome in horses with different exercise intensity. *Veterinary Sciences*, 23(102), 72–77. DOI: 10.32718/nvlvet10211.
- Sykes, B. W., & Jokisalo, J. M. (2014). Rethinking equine gastric ulcer syndrome: Part 1 — Terminology, clinical signs, and diagnosis. *Equine Veterinary Journal*, 26(10), 543–547. DOI: 10.1111/eve.12236.
- Sykes, B. W., Sykes, K. M., & Hallowell, G. D. (2014). A comparison of two doses of omeprazole in the treatment of EGUS: A blinded, randomized, clinical trial. *Equine Veterinary Journal*, 46(4), 416–421. DOI: 10.1111/evj.12191.
- Sykes, B. W., Sykes, K. M., & Hallowell, G. D. (2014). A comparison between pre-and post-exercise administration of omeprazole in the treatment of EGUS: A randomized, blinded clinical trial. *Equine Veterinary Journal*, 46(4), 422–426. DOI: 10.1111/evj.12083.
- Sykes, B. W., Sykes, K. M., & Hallowell, G. D. (2015). A comparison of three doses of omeprazole in the treatment of gastric ulceration in the horse: A randomized, blinded clinical trial. *Equine Veterinary Journal*, 47, 285–290. DOI: 10.1111/evj.12287.
- Vatistas, N. J., Snyder, J. R., & Carlson, G. (1999). A cross-sectional study of gastric ulcers of the squamous mucosa in Thoroughbred racehorses. *Equine Veterinary Journal*, 31(29), 34–39. DOI: 10.1111/j.2042–3306.1999.tb05166.x.



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/nvlvet10611

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

UDC 639.09:616.9

Epizootological analysis of the prevalence of salmonellosis in poultry in Ukraine in 2012–2021

O. M. Chechet¹, M. S. Karpulenko^{1✉}, L. Ye. Korniienko¹, V. V. Ukhovskiy¹, O. A. Moroz¹, O. S. Haidei¹,
B. V. Gutij², O. V. Krushelnyska²

¹State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

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

Article info

Received 01.04.2022

Received in revised form

02.05.2022

Accepted 03.05.2022

State Scientific and Research
Institute of Laboratory Diagnostics
and Veterinary and Sanitary
Expertise, Donetsk Str., 30,
Kyiv, 03151, Ukraine.
Tel.: +38-097-475-03-08
E-mail: Maximus_Ka@ukr.net

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

Chechet, O. M., Karpulenko, M. S., Korniienko, L. Ye., Ukhovskiy, V. V., Moroz, O. A., Haidei, O. S., Gutij, B. V., & Krushelnyska, O. V. (2022). Epizootological analysis of the prevalence of salmonellosis in poultry in Ukraine in 2012–2021. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 68–73. doi: 10.32718/nvlvet10611

The main infectious agent that causes contamination of poultry products are bacteria of the genus *Salmonella*. The article presents the results of monitoring studies on salmonellosis among poultry of different technological direction of poultry farms of all forms of ownership in Ukraine. In the analysis of the results of the incidence of salmonellosis in poultry used Reports on the work of state laboratories of veterinary medicine of the State Food and Consumer Services of Ukraine for 2012–2021. Data from the State Statistics Service of Ukraine were also used during the work on the article. It was found that for the period 2012–2021, the total number of samples tested for salmonellosis was 306466, of which 932 were positive, which was 0.3 %. It is established that the number of studies in certain years differs greatly in number. After all, the peak number of studies fell on 2012 (51985 samples), but in 2020 it was only 25.796 samples or 49.6 % to the peak level of studies. The highest percentage of pathogen isolation was observed in the period from 2013 to 2015, respectively 0.39, 0.48 % and 0.38 %. In 2016–2018, there was a decrease in the number of positive samples, respectively, the number of positive samples was 0.24–0.33 %, the lowest percentage in 2019–2021, the number of positive samples was minimal and amounted to 0.05 %, 0.22 % and 0.13 %. Thus, there is a clear trend of decreasing the amount of pathogen. The largest number of positive samples of biological material for salmonellosis in the period 2012–2021 was found in Sumy and Luhansk regions, 156 and 186 samples, respectively. Slightly fewer positive samples were found in Kharkiv (117), Kirovohrad (79), Cherkasy (71), Zaporizhia (51), Donetsk (45), Kyiv (30) and Zhytomyr (30) regions. The pathogen *Salmonella* spp. in Zakarpattia, Rivne and Chernivtsi regions.

Key words: infection, *Salmonella* spp., retrospective epizootiological analysis, bird.

Епізоотологічний аналіз розповсюдження сальмонельозу птиці на території України за 2012–2021 роки

О. М. Чечет¹, М. С. Карпуленко^{1✉}, Л. Є. Корнієнко¹, В. В. Уховський¹, О. А. Мороз¹, О. С. Гайдей¹,
Б. В. Гутій², О. В. Крушельницька²

¹Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветсанекспертизи, м. Київ, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Основним інфекційним агентом, що спричинює контамінацію продукції птахівництва, є бактерії роду *Salmonella*. В статті викладено результати моніторингових досліджень на сальмонельоз серед птиці різного технологічного напрямку птахівничих господарств усіх форм власності в Україні. При аналізі результатів захворюваності на сальмонельоз птиці використані звіти про

роботу державних лабораторій ветеринарної медицини Держпродспоживслужби України за 2012–2021 роки. Під час роботи над статтею використані також дані Державної служби статистики України. Встановлено, що за період 2012–2021 років загальна кількість досліджених на сальмонельоз зразків становила 306466, із них виявились позитивними 932, що склало 0,3 %. Пікова кількість досліджень припала на 2012 рік (51985 проб), проте в 2020 році вона становила лише 25796 проби (49,6 % до рівня піку досліджень). Найбільший відсоток виділення збудника фіксували в період 2013–2015 рр., відповідно 0,39, 0,48 % та 0,38 %. У 2016–2018 рр. спостерігалася тенденція до зменшення виявлених позитивних зразків, відповідно кількість позитивних зразків становила 0,24–0,33 %, найменший відсоток був у 2019–2021 рр. кількість позитивних зразків була мінімальною й становила відповідно 0,05 %, 0,22% та 0,13 %. Таким чином, спостерігається чіткий тренд зниження кількості виділення збудника. Найбільша кількість позитивних щодо сальмонельозу проб біологічного матеріалу в період 2012–2021 рр. була виявлена на території Сумської та Луганської областей, відповідно 156 та 186 проб. Деяко меншу кількість позитивних зразків виявили в Харківській (117), Кіровоградській (79), Черкаській (71), Запорізькій (51), Донецькій (45), Київській (30) та Житомирській (30) областях. Зовсім не виявлено збудника *Salmonella* spp. у Закарпатській, Рівненській та Чернівецькій областях.

Ключові слова: інфекція, *Salmonella* spp., ретроспективний епізоотологічний аналіз, птиця.

Вступ

За повідомленнями Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), сальмонельоз є зоонозом й не має собі рівних за складністю боротьби з ним, проявом епізоотологічних та епідеміологічних особливостей, складністю профілактики. Захворюваність на сальмонельоз серед людей становить 14,53–17,55 випадків на 100 тис. населення в США (Johnson et al., 2014) і 95,55 випадків на 100 тис. населення в Європейському Союзі (EFSA, 2013). Нині у світі провідним джерелом зараження людей є м'ясопродукти, особливо в цьому плані пильної уваги потребує заражене м'ясо птиці, незважаючи на доволі жорсткі заходи боротьби з сальмонеллою, запроваджені в птахівництві промислово розвинених країн (Antunes et al., 2016). Дослідники вказують, що загальна поширеність *Salmonella* spp. у зразках м'яса птиці з птахопідприємств може становити 10 %. За споживання такого м'яса у 4 % пацієнтів з діареєю можна виділити цього збудника (Gharieb et al., 2015). У дорослої птиці окремі серовари збудника сальмонельозу можуть бути в репродуктивному тракті (вертикальна передача через яйце) й таким чином становити значну небезпеку для людей після споживання столових яєць (Barrow, 2000).

Спалахи сальмонельозу у людей часто зумовлені не лише споживанням контамінованих збудником *Salmonella* spp. курячих яєць та м'яса бройлерів, а також яловичини, свинини, морепродуктів тощо (Pires et al., 2014). Найбільш вагома частка спалахів сальмонельозу серед людей спостерігається через вживання заражених курячих яєць та м'яса (Hoop, 1997; Fernandez et al., 2003; Fica et al., 2012; Jackson et al., 2013; Middleton et al., 2014; Retamal et al., 2015; Xiong et al., 2020).

Джерелом інфекції за сальмонельозу є птиця хвора й та, яка перехворіла, що виділяє значну кількість збудника з послідом у навколишнє середовище, часто збудник може контамінувати шкаралупу яєць й навіть проникати в них (продукція птахівництва). Птиця, що перехворіла, виділяє збудник, інфікує обладнання, воду, корми. Контаміновані корми, вода, обладнання та предмети догляду за птахами, ґрунт є основними факторами передачі збудника інфекції. Нині профілактика сальмонельозу птиці напряму пов'язується з профілактикою цієї інфекції у людей, адже в світі зростає попит на дешеві, калорійні й якісні білкові продукти, якими й є м'ясо птиці й яйця (Cox et al., 2011; Barbour et al., 2015; Andino & Hanning, 2015; Kumar et al., 2019; Obe et al., 2020; Kongsanan et al., 2021).

Завдяки значній кількості наукових досліджень сальмонельозу птиці, нині конкретизовані питання клінічних проявів, патолого-анатомічних ознак та патогенезу, детально вивчені особливості імунітету та відпрацьований комплекс профілактичних заходів. Водночас для ефективної профілактики й боротьби з сальмонельозом птиці потрібно постійно проводити моніторингові дослідження птиці птахогосподарств різних напрямів продуктивності незалежно від форми власності й відомчого підпорядкування.

Одним із основних напрямків епізоотологічного моніторингу сальмонельозу птиці є визначення ензоотичних територій циркуляції збудника *Salmonella* spp.

Мета роботи – провести ретроспективний епізоотологічний аналіз моніторингових досліджень птахогосподарств незалежно від форм власності та відомчого підпорядкування щодо поширеності сальмонельозу птиці на території України за період 2012–2021 роки.

Матеріал і методи досліджень

Під час аналізу результатів захворюваності на сальмонельоз птиці використані звіти про роботу державних лабораторій ветеринарної медицини Держпродспоживслужби України за 2012–2021 роки. Під час роботи над статтею використані також дані Державної служби статистики України.

Візуальне відображення та статистичну обробку даних проводили із використанням ГІС-технології із застосуванням програмного забезпечення “ESRI ArcGIS 10.1”.

Результати та їх обговорення

Враховуючи соціально-економічний стан населення України, птахівнича галузь відіграє важливу роль в забезпеченні доступного, повноцінного та раціонального харчування людей. Аналізуючи дані Державної служби статистики України щодо поголів'я свійської птиці в птахогосподарствах різних форм власності (рис. 1) бачимо, що найбільша кількість поголів'я припадає на комерційні сільськогосподарські підприємства. Птахівнича галузь має велике значення щодо соціально-економічної стабільності для держави, адже кількість поголів'я в господарствах населення є практично стабільною й незначно коливається в комерційних підприємствах.



Рис. 1. Кількість свійської птиці в птахогосподарствах різної форми власності на території України у 2012–2021 рр.

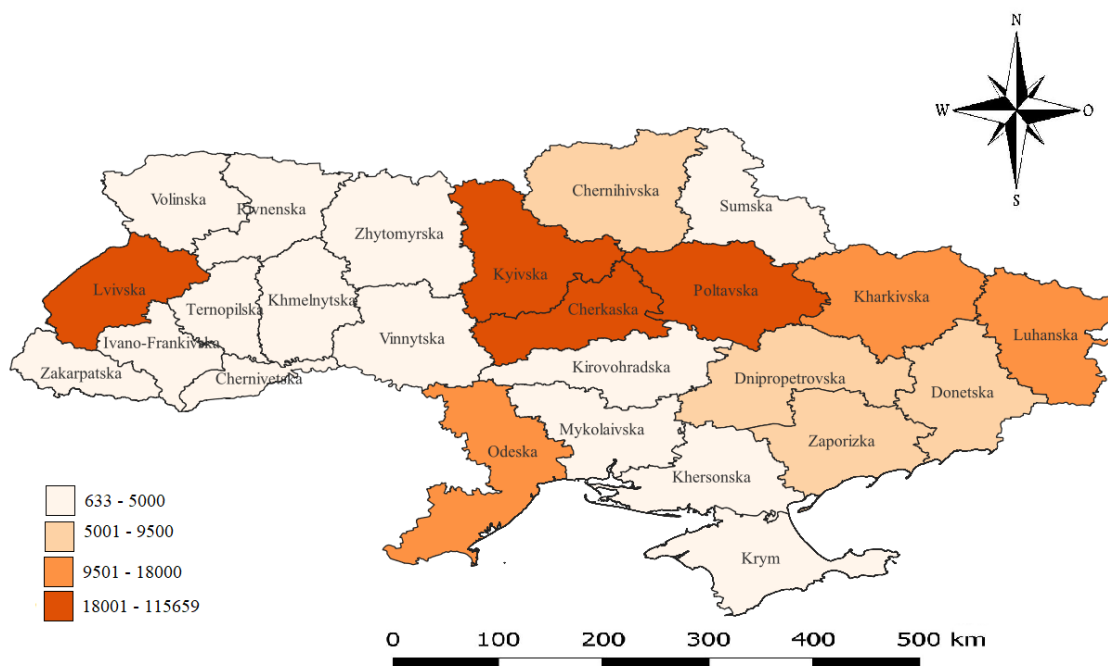


Рис. 2. Кількість досліджених проб біологічного матеріалу з птахогосподарств України за 2012–2021 рр.

Як видно з матеріалів рис. 2, моніторингові дослідження на сальмонельоз проводяться в усіх областях України. За період 2012–2021 рр. найбільша кількість зразків досліджена із чотирьох областей: Львівської – 115659 зразків, Черкаської – 55362, Київської – 42435, Полтавської – 18088 зразків. Найменша кількість досліджених зразків спостерігалась у Вінницькій області – 703 зразки, Тернопільській – 1396, Херсонській – 1500 та Волинській області – 1912 проб. Загалом аналізуючи об'єм досліджених проб на території України за період 2012–2021 рр., спостерігаємо зниження кількості з 51985 проб в 2012 р. до 25796 проб в 2020 р. (49,6 % до рівня 2012 р.) із незначним збільшенням до 30789 проб в 2021 р. (59,2 % до рівня 2012 р.).

За період 2012–2021 років державними лабораторіями ветеринарної медицини було досліджено на сальмонельоз 306466 зразків й отримано 932 позитив-

них результати, що становить 0,3 % від загальної кількості зразків (рис. 3).

На рис. 3 також показано динаміку виділення *Salmonella* spp. з біологічного та патологічного матеріалу, отриманого з птахогосподарств різної форми власності, найбільший відсоток виділення збудника спостерігається в період з 2013 р. по 2015 р. – 0,39 % та 0,38% з піком в 2014 р. – 0,48 %. У період з 2016 р. по 2018 р. спостерігається зменшення показника – 0,24 % з піком в 2017 р. – 0,33 %, найменший відсоток в 2019 р. та 2021 р. – відповідно 0,05 % та 0,13 %, з піком у 2020 р. – 0,22 %. Загалом за аналізований період (2012–2021 рр.) помітна стійка тенденція до зниження кількості виділення збудника. Варто зауважити, що в 2008 р. була розроблена та затверджена Наказом Головного державного інспектора ветеринарної медицини України № 147 від 30 листопада 2009 року “Програма контролю сальмонельозу птиці в

Україні на 2009–2013 роки” і відповідно перезатверджена Наказом Головного державного інспектора ветеринарної медицини України № 177 від 27 грудня 2013 року “Програма державного ветеринарно-санітарного контролю сальмонельозу птиці в Україні на 2014 – 2018 роки”, розроблені відповідно до Закону України “Про ветеринарну медицину” та Санітарного кодексу наземних тварин Міжнародного Епізоотичного Бюро з урахуванням вимог Директиви 2003/99/ЄС, регламентів (ЄС), № 2160/2003 та

№ 1177/2006, № 517/2011, № 200/2010, які регламентують заходи профілактики та контролю сальмонельозу. Основними завданнями Програм були: проведення оцінки епізоотичного стану; моніторингу захворюваності птиці на сальмонельоз під час вирощування племінної птиці, курей-бройлерів, курей-несучок, індиків та добового молодняку, які охоплювали виявлення *Salmonella* spp., особливо *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. virchow*, *S. hadar*, *S. infantis*, *S. arizonae*, *S. gallinarum*, *S. pullorum*.



Рис. 3. Динаміка виявлення збудника *Salmonella* spp. з біологічного матеріалу на території України за період 2012–2021 рр.

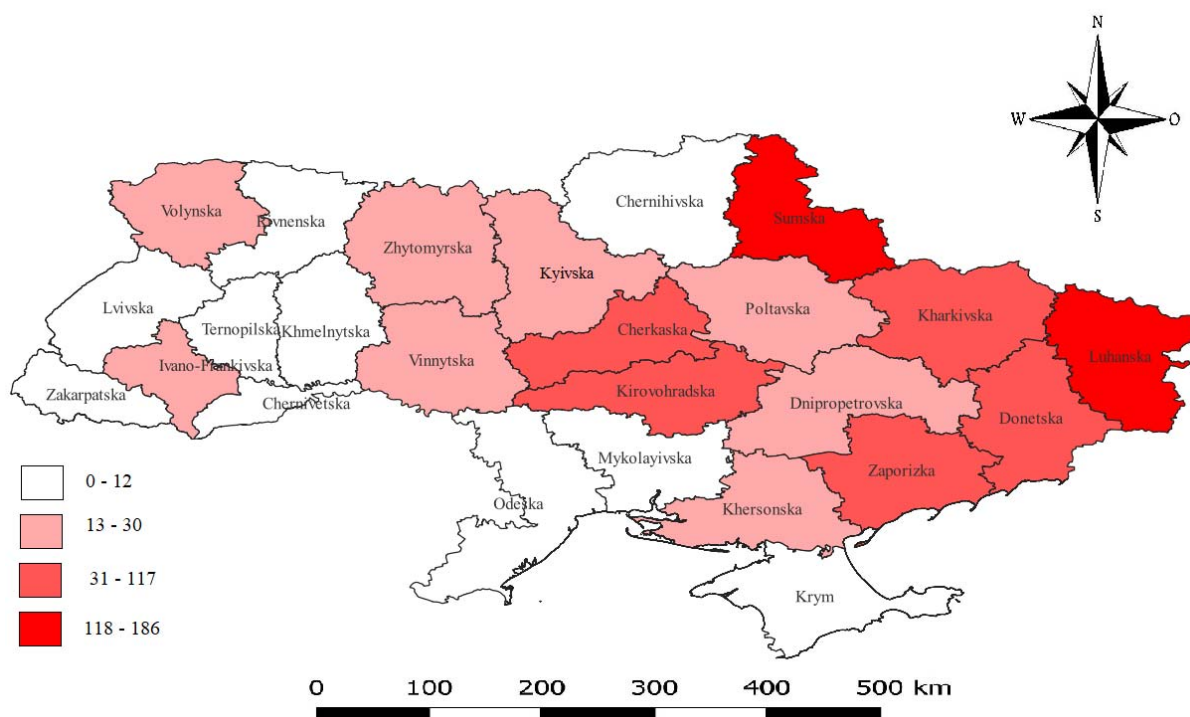


Рис. 4. Карта щільності позитивних проб щодо виявлення збудника *Salmonella* spp. на території України 2012–2021 рр.

На рис. 4 зображена карта щільності реєстрації позитивних щодо сальмонельозу птиці зразків. Як видно з рисунку, найбільша кількість позитивних проб біологічного матеріалу в період 2012–2021 рр. була виявлена на території Сумської – 156 проб та Луганської областей – 186 проб. Значну кількість позитивних

зразків виявлено в Харківській області – 117, Кіровоградській області – 79, Черкаській області – 71, Запорізькій області – 51, Донецькій області – 45, Київській області – 30, Житомирській області – 30. У таких областях, як Закарпатська, Рівненська та Чернівецька, взагалі не виявляли збудника *Salmonella* spp.

Висновки

1. Результати десятирічного епізоотологічного моніторингу птиці щодо виділення збудника *Salmonella* spp. з патологічного та біологічного матеріалу на території України показали, що кількість позитивних зразків становила 0,3 % від загальної кількості досліджених (306466 проб). Спостерігається значна нерівномірність у кількості досліджуваних на сальмонельоз зразків. Так, у 2012 році досліджено 51985 зразків, проте у 2020 році лише 25796 зразків, або 49,6 %, від пікового показника.

2. Епізоотична ситуація щодо сальмонельозу птиці в птахогосподарствах різної форми власності різних областей України неодноманітна і має свої особливості. Найбільша кількість позитивних зразків під час досліджень біологічного й патологічного матеріалу щодо сальмонельозу птиці була виявлена у Сумській (156) та Луганській (186) областях.

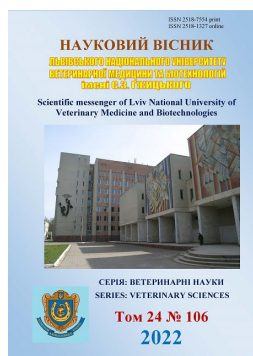
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Andino, A., & Hanning, I. (2015). *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *The Scientific World Journal*, 2015, 520179. DOI: 10.1155/2015/520179.
- Antunes, P., Mourão, J., Campos, J., & Peixe, L. (2016). *Salmonellosis: the role of poultry meat. Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 22(2), 110–121. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.12.004.
- Barbour, E. K., Ayyash, D. B., Alturkistni, W., Alyahiby, A., Yaghmoor, S., Iyer, A., Yousef, J., Kumosani, T., & Harakeh, S. (2015). Impact of sporadic reporting of poultry *Salmonella* serovars from selected developing countries. *Journal of infection in developing countries*, 9(1), 1–7. DOI: 10.3855/jidc.5065.
- Barrow, P. A. (2000). The paratyphoid salmonellae. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 19(2), 351–375. DOI: 10.20506/rst.19.2.1225.
- Cox, N. A., Cason, J. A., & Richardson, L. J. (2011). Minimization of *Salmonella* contamination on raw poultry. *Annual review of food science and technology*, 2, 75–95. DOI: 10.1146/annurev-food-022510-133715.
- European Food Safety Authority (EFSA), European Center for Disease Prevention and Control (ECDC). 2013. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. *EFSA J.*, 11(2013), e3129.
- Fernandez, J., Fica, A., Ebensperger, G., Calfullan, H., Prat, S., Fernandez, A., Alexandre, M., & Heitmann, I. (2003). Analysis of molecular epidemiology of Chilean *Salmonella enterica* serotype enteritidis isolates by pulsed-field gel electrophoresis and bacteriophage typing. *Journal of clinical microbiology*, 41(4), 1617–1622. DOI: 10.1128/JCM.41.4.1617-1622.2003.
- Fica, A., Acosta, G., Dabanch, J., Perret, C., Torres, M., López, J., Jofré, L., Weitzel, T., & Comité de Infecciones Emergentes de la Sociedad Chilena de Infectología (2012). Brotes de salmonelosis y el tamaño y rol del Estado en Chile [*Salmonellosis outbreaks and the size and role of the Chilean State*]. *Revista chilena de infectología : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*, 29(2), 207–214. DOI: 10.4067/S0716-10182012000200014.
- Gharieb, R. M., Tartor, Y. H., & Khedr, M. H. (2015). Non-Typhoidal *Salmonella* in poultry meat and diarrhoeic patients: prevalence, antibiogram, virulotyping, molecular detection and sequencing of class I integrons in multidrug resistant strains. *Gut pathogens*, 7, 34. DOI: 10.1186/s13099-015-0081-1.
- Hoop, R. K. (1997). The Swiss control programme for *Salmonella enteritidis* in laying hens: experiences and problems. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 16(3), 885–890. DOI: 10.20506/rst.16.3.1063.
- Jackson, B. R., Griffin, P. M., Cole, D., Walsh, K. A., & Chai, S. J. (2013). Outbreak-associated *Salmonella enterica* serotypes and food Commodities, United States, 1998–2008. *Emerging infectious diseases*, 19(8), 1239–1244. DOI: 10.3201/eid1908.121511.
- Johnson, N. B., Hayes, L. D., Brown, K., Hoo, E. C., & Ethier K. A. (2014). CDC National Health Report: leading causes of morbidity and mortality and associated behavioral risk and protective factors–United States, 2005–2013. *MMWR supplements*, 63(4), 3–27. URL: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/su6304a2.htm>.
- Kongsanan, P., Angkititrakul, S., Kiddee, A., & Tribuddharat, C. (2021). Spread of Antimicrobial-Resistant *Salmonella* from Poultry to Humans in Thailand. *Japanese journal of infectious diseases*, 74(3), 220–227. DOI: 10.7883/yoken.JJID.2020.548.
- Kumar, Y., Singh, V., Kumar, G., Gupta, N. K., & Tahlan, A. K. (2019). Serovar diversity of *Salmonella* among poultry. *The Indian journal of medical research*, 150(1), 92–95. DOI: 10.4103/ijmr.IJMR_1798_17.
- Middleton, D., Savage, R., Tighe, M. K., Vrbova, L., Walton, R., Whitfield, Y., Varga, C., Lee, B., Rosella, L., Dhar, B., Johnson, C., Ahmed, R., Allen, V. G., & Crowcroft, N. S. (2014). Risk factors for sporadic domestically acquired *Salmonella* serovar Enteritidis infections: a case-control study in Ontario, Canada, 2011. *Epidemiology and infection*, 142(7), 1411–1421. DOI: 10.1017/S0950268813001945.
- Obe, T., Nannapaneni, R., Schilling, W., Zhang, L., McDaniel, C., & Kiess, A. (2020). Prevalence of *Salmonella enterica* on poultry processing equipment after completion of sanitization procedures. *Poultry science*, 99(9), 4539–4548. DOI: 10.1016/j.psj.2020.05.043.
- Omwantho, C. O. A., & Kubota, T. (2010). *Salmonella enterica* serovar Enteritidis: a Mini-review of Contamination Routes and Limitations to Effective Control. *JARQ*, 44 (1), 7–16. URL: <http://www.jircas.affrc.go.jp>.
- Pires, S. M., Vieira, A. R., Hald, T., & Cole, D. (2014). Source attribution of human salmonellosis: an overview

- of methods and estimates. Foodborne pathogens and disease, 11(9), 667–676. DOI: 10.1089/fpd.2014.1744.
- Retamal, P., Fresno, M., Dougnac, C., Gutierrez, S., Gornall, V., Vidal, R., Vernal, R., Pujol, M., Barreto, M., González-Acuña, D., & Abalos, P. (2015). Genetic and phenotypic evidence of the *Salmonella enterica* serotype Enteritidis human-animal interface in Chile. *Frontiers in microbiology*, 6, 464. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00464.
- Xiong, Z., Wang, S., Huang, Y., Gao, Y., Shen, H., Chen, Z., Bai, J., Zhan, Z., Wen, J., Liao, M., & Zhang, J. (2020). Ciprofloxacin-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Kentucky ST198 in Broiler Chicken Supply Chain and Patients, China, 2010-2016. *Microorganisms*, 8(1), 140. DOI: 10.3390/microorganisms8010140.



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/nvlvet10612

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

UDC 619:591.463.1:636.03:577.18

Modern technologies for storing semen of domestic animals without the addition of antibiotics

O. Tul[✉], B. Kyrychko, T. Panasova

Poltava State Agrarian University, Poltava, Ukraine

Article info

Received 04.04.2022

Received in revised form

05.05.2022

Accepted 06.05.2022

Poltava State Agrarian University,

1/3, Skovorody Str., Poltava,

36003, Ukraine.

Tel.: +38-096-656-65-86

E-mail: oleksandratal@ukr.net

Tul, O., Kyrychko, B., & Panasova, T. (2022). Modern technologies for storing semen of domestic animals without the addition of antibiotics. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 74–80. doi: 10.32718/nvlvet10612

Currently, there is a trend of breeding domestic animals through artificial insemination. As a result, very large amounts of sperm diluents containing antibiotics are used in animal husbandry. Antimicrobials are added to the semen diluent to control the growth of bacteria that contaminate the semen during selection. The proportion of antibiotic-resistant bacteria is steadily rising, threatening the entire health care system. That is why all fields of antibiotics application face the task of finding alternatives to this approach. The purpose of our study was to systematize modern technologies and methods of storing domestic animals' semen which could reduce or eliminate the use of antibiotics, and would be an important step in the fight against multidrug-resistant bacteria. Due to the negative impact of antibiotics on sperm quality and their fertilizing ability, new alternative methods for sperm storage are constantly being improved and developed. The most common are low-temperature storage, physical methods to reduce bacterial stress, the use of antimicrobial peptides, nanoparticles and the use of various substances of animal, plant or other origin. The possibility of boar sperm low-temperature storage may open up completely new approaches in the future by optimizing the cooling rate. Colloidal centrifugation as one of the physical methods is a practical means of reducing the bacterial load in sperm samples and it can be effectively used applying equipment that is available at many breeding plants. Antimicrobial peptides or nanoparticles of iron oxide may be a useful alternative to the addition of antibiotics during sperm storage. Antimicrobial peptides have been shown to control the growth of aerobic and anaerobic bacteria in relatively low concentrations without adversely affecting sperm quality and fertility. However, it is substantiated that nanoparticles with the size of 40 – 60 nm have significant antimicrobial ability against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. At the same time, further studies are needed on the use of various substances of animal or plant origin (royal jelly, aloe vera, algae extracts), as well as determining adequate concentrations of these new compounds that should be effective in fighting bacteria and not affect quality characteristics of sperm.

Key words: alternative methods, antibiotics, bacteria, resistance, sperm storage, artificial insemination.

Сучасні технології зберігання сперми свійських тварин без додавання антибіотиків

О. І. Туль[✉], Б. П. Киричко, Т. Г. Панасова

Полтавський державний аграрний університет, м. Полтава, Україна

Нині спостерігається тенденція розведення свійських тварин за допомогою штучного запліднення. У зв'язку з цим у тваринництві використовуються дуже великі обсяги розріджувачів сперми, що містять антибіотики. Протимікробні препарати додаються в розріджувачі сперми для контролю за ростом бактерій, що забруднюють сперму під час відбору. Частка резистентних бактерій до антибіотиків неухильно зростає, і це є загрозою для всієї системи охорони здоров'я. Саме тому перед усіма сферами застосування антибіотиків стоїть завдання пошуку альтернатив цьому підходу. Метою наших досліджень було систематизація сучасних технологій та методів зберігання сперми свійських тварин, які могли б зменшити або виключити використання антибі-

отиків і стали б важливим кроком у боротьбі з полірезистентними бактеріями. Зважаючи на негативний вплив антибіотиків на якість спермів та їх запліднюючу здатність, постійно удосконалюються та створюються нові альтернативні методи для зберігання сперми. До найбільш поширених належать низькотемпературне зберігання, фізичні методи зниження бактеріального навантаження, застосування антимікробних пептидів, наночастинок та використання різних речовин тваринного, рослинного або іншого походження. Можливість низькотемпературного зберігання сперми кнурів може відкрити абсолютно нові підходи у майбутньому за допомогою оптимізації швидкості охолодження. Колоїдне центрифугування як один з фізичних методів є практичним засобом зниження бактеріального навантаження у зразках сперми і його можна ефективно застосовувати з використанням обладнання, яке наявне у багатьох племзаводах. Антимікробні пептиди або наночастинок оксиду заліза можуть стати корисною альтернативою додаванню антибіотиків при зберіганні сперми. Доведено, що антимікробні пептиди контролюють ріст аеробних та анаеробних бактерій у порівняно низьких концентраціях без шкідливого впливу на якість сперми та фертильність. Разом з тим обґрунтовано, що наночастинок розміром 40–60 нм мають значну антимікробну здатність щодо *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*. Водночас необхідні подальші дослідження щодо застосування різних речовин тваринного або рослинного походження (маточне молочко, алое вера, екстракти водоростей), а також визначення адекватних концентрацій цих нових сполук, які мають бути ефективними при боротьбі з бактеріями та не впливати на якісні характеристики сперми.

Ключові слова: альтернативні методи, антибіотики, бактерії, резистентність, зберігання сперми, штучне осіменіння.

Вступ

Резистентність до протимікробних препаратів є основною глобальною проблемою як у гуманній, так і у ветеринарній медицині. За експертними оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) – це є найбільшою загрозою для населення сучасного світу (Van Boeckel et al., 2019). Гени стійкості до протимікробних препаратів легко передаються між різними бактеріями (Duijkeren et al., 2005), тому навіть обмежене використання антибіотиків може призвести до розвитку значної резистентності (Catry et al., 2010). З цієї причини рекомендується обережне використання антибіотиків, тобто їх слід застосовувати лише у разі крайньої необхідності, з терапевтичними цілями та після перевірки бактерій на чутливість до запропонованого терапевтичного засобу.

Загалом нині існує тенденція до використання сильнодіючих антибіотиків широкого спектра дії у різних комбінаціях для зниження токсичності сперми свійських тварин. Однак ці протимікробні препарати можуть сприяти розвитку резистентності у людей, що працюють з розріджувачами сперми, а також впливати на живі організми під час утилізації невикористаних розріджувачів або доз сперми. Масштаби проблеми є очевидними, оскільки лише в Європі щорічно використовуються близько чотирьох мільйонів літрів розріджувача сперми кнура, що містить антибіотики (Morrell, 2011).

Однією з переваг штучного осіменіння є скорочення поширення інфекційних хвороб за рахунок запобігання контакту або транспортування тварин для розведення. Але водночас штучне осіменіння є одним із шляхів легкого поширення патогенних мікроорганізмів (Foote, 2002), тому самців перевіряють перед включенням в програму розведення і кілька разів протягом періоду одержання сперми. Заражена сперма або сперма інфікованих самців є джерелом потенційної передачі захворювань, сприйнятливих для самок.

Більшість еякулятів, одержаних від здорових сільськогосподарських тварин, певною мірою забруднені бактеріями (Wallgren, 1996; Malmgren et al., 1998; Smole et al., 2010). Подальше забруднення може виникати під час обробки сперми (Althouse, 2008), яка зазвичай відбувається без доступу до витяжки з ламінарним потоком повітря. Саме тому додавання антибіотиків у розріджувачі сперми регулюється урядови-

ми директивами як на національному, так і на міжнародному рівні, в яких зазначені типи антибіотиків, що використовуються, а також їхня концентрація. Оскільки антибіотики можуть бути токсичними для спермів, в розріджувачах сперми використовується суміш агентів, щоб зменшити дію кожного окремого компонента. Дослідження науковців вказують, що гентаміцин, який широко застосовується в комерційних розріджувачах сперми, має негативний вплив на рухливість і життєздатність спермів (Aurich & Spengler, 2007). Однак є неофіційні відомості про те, що бактерії в деяких європейських країнах стійкі до передбачених антибіотиків, отже для боротьби з резистентними бактеріями використовуються додаткові антибіотики. Хоча багато країн намагаються скоротити загальне використання антибіотиків, щоб зменшити розвиток резистентності, все одно у більшості випадків спостерігається додавання антибіотиків до розріджувачів сперми, якого можна було б уникнути, поширюючи сучасні методики та технології зберігання сперми свійських тварин. Застосування антибіотиків в розріджувачах сперми викликають особливе занепокоєння у свинарстві та конярстві, де в основному використовують рідку сперму, а не заморожену (Morrell & Wallgren, 2014). Тому було б розумно максимально скоротити використання антибіотиків. Пошук альтернатив протимікробним препаратам для боротьби з мікроорганізмами в дозах сперми для штучного осіменіння є необхідним як для поліпшення якості та виживання сперми, так і для уповільнення розвитку стійкості до антибіотиків.

Результати та їх обговорення

Нині виокремлюють такі альтернативи використанню антибіотиків при зберіганні сперми: низькотемпературне зберігання, фізичні методи зниження бактеріального навантаження, антимікробні пептиди, наночастинок та використання різних речовин тваринного, рослинного або іншого походження.

Низькотемпературне зберігання сперми. Гіпотермічне зберігання (нижче ніж 10 °C) без антибіотиків може бути альтернативою для підтримки життєздатності спермів та контролю росту бактерій у розрідженій спермі кнура (Menezes et al., 2020; Schulze et al., 2022). Сперма кнура сприйнятливіша до холодового шоку порівняно зі сперміями інших видів тварин (Maxwell &

Johnson, 1997; Casas & Althouse, 2013) за рахунок складу ліпідної мембрани (Schulze et al., 2015). Фазовий перехід ліпідів, що відбувається при температурі від 5 до 15 °C (Goldberg et al., 2013), може призвести до структурних змін, які спричиняють до порушення взаємодії ліпідів та білків, впливаючи на проникність мембрани (Schulze et al., 2015). Холодовий шок може бути пов'язаний із втратою іонів та ферментів, зниженням рухливості, зміною функції акросом (Schulze et al., 2015) та передчасною капацитацією, що впливає на запліднюючий потенціал спермій (Maxwell & Johnson, 1997; Casas & Althouse, 2013).

Незважаючи на неоптимальні умови, що стосуються температурної чутливості сперми кнурів, з'явилися перші повідомлення про успішне зберігання при низьких температурах (5–6 °C) за допомогою оптимізації швидкості охолодження (Waberski et al., 2019; Menezes et al., 2020; Paschoal et al., 2020; Jäkel et al., 2021). Проведені дослідження науковців вказують на те, що помірні швидкості охолодження допомагають захистити сперму кнура від пошкодження холодом, зберігаючи ліпідну структуру плазматичної мембрани (Casas & Althouse, 2013; Paschoal et al., 2020). В останніх дослідженнях, присвячених низькотемпературному зберіганню сперми кнурів, використовуються нові, адаптовані до низьких температур розріджувачі, що містять стабілізатори мембран та інгібітори капацитації, для підтримки якості сперми протягом більш тривалого часу навіть при низьких температурах (Estienne et al., 2007; Wasilewska & Fraser, 2017; Hensel et al., 2020; 2021).

Фізичні методи. Також альтернативою додавання протимікробних препаратів у розріджувачі сперми може бути видалення бактерій із сперми за допомогою фізичних методів, таких як центрифугування та фільтрація. Центрифугування через один шар колоїду щільністю 1,104 г/мл відокремлює спермії від бактерій у спермі кнура відразу після збору сперми. Кількість бактерій знижувалась через кілька годин після відбору сперми (Morrell & Wallgren, 2011). Однак цей метод відділяє міцні спермії з решти еякуляту (Morrell et al., 2009), отже частина популяції спермій втрачається. Зважаючи на втрату сперми під час застосування цього методу, а також високу вартість колоїду, все це призводить до відмови свинарів використовувати цей метод як альтернативу антибіотикам. Нещодавно науковцями було застосовано колоїд низької щільності (1,052 г/мл), який дозволяє видобувати більшу частину спермій і успішно відокремлювати спермії від сім'яної плазми без відділення спермій високої якості. За цього методу сперма не втрачає своїх якісних характеристик протягом одного тижня зберігання (Morrell et al., 2019). Результати досліджень вчених (Martínez-Pastor et al., 2021) показали, що зараження сперми бактеріями можна контролювати шляхом центрифугування через колоїди 20 % і 30 % Porcicoll ще нижчої щільності (1,026 г/мл і 1,039 г/мл). Обидва колоїди призводили до значного зменшення або повного видалення деяких бактерій. Колоїдне центрифугування не вплинуло на якість сперми.

У жеребців для відокремлення спермій від бактерій в еякуляті також використовують колоїдне

центрифугування. Цей метод є порівняно простою процедурою і продовжує виживання спермій без додавання антибіотиків у розріджувач сперми (Morrell et al., 2014; Al-Kass et al., 2019). Показано, що якість сперми у жеребців після одношарового центрифугування поліпшується (Johannisson et al., 2009) та значно знижується кількість бактерій у зразку (Morrell & Nunes, 2018). Одношарове центрифугування було ефективне у видаленні від 81 % до > 90 % бактерій із сперми жеребця, залежно від бактеріального навантаження та виду (Morrell et al., 2014). Al-Kass et al. (2019) отримали аналогічні результати дослідження, проте вони виявили, що 25 % бактерій залишалися у зразках після одношарового центрифугування, якщо у розріджувачі були присутні антибіотики, тимчасом як у інших зразках, де антибіотики не додавалися, реєстрували тільки 18 % бактерій після одношарового центрифугування. В іншому експерименті зі спермою жеребця було виявлено, що одношарове центрифугування з використанням Androcoll-E перед заморожуванням знижує загальне бактеріальне навантаження після відтавання і позитивно впливає на рухливість (Guimarães et al., 2015).

Іншим фізичним методом, що застосовується для зниження мікробної активності, є мікрофільтрація сім'яної плазми. Крім зниження бактеріального забруднення сперми кнура, мікрофільтрація поліпшує деякі параметри спермій, такі як рухливість, цілісність плазматичної мембрани та акросоми, а також мітохондріальну активність (Barone et al., 2016).

Антимікробні пептиди. Останнім часом дослідження були зосереджені на використанні антимікробних пептидів, які можуть дестабілізувати клітинну стінку бактерій (Santos & Silva, 2020). Доведено, що антимікробні пептиди контролюють ріст аеробних та анаеробних бактерій у порівняно низьких концентраціях без шкідливого впливу на якість сперми та фертильність (Cordis, 2019).

Дослідники (Schulze et al., 2014) виявили, що низькі концентрації деяких циклічних гексапептидів (відомих як c-WFW і c-WWW) давали подібні результати з гентаміцином (широко використовуваним протимікробним засобом для розріджувачів сперми) з погляду відсутності впливу на якість сперми або частоту настання вагітності після штучного осіменіння. Зокрема, пептид c-WFW позитивно впливав на рухливість спермій. Однак не всі представники цього класу сполук підходили для використання в розріджувачах сперми, оскільки синтетичні амідні похідні магаїніну II, MK5E викликали зниження рухливості спермій та порушення цілісності мембрани, що супроводжувалося незворотною рухливістю фосфатидилхоліну в мембрані спермій (Morrell & Wallgren, 2014). Повідомлялося, що інший пептид, GL13K, активний проти біоплівки *Pseudomonas aeruginosa* (Hirt & Gorr, 2013).

Ряд науковців (Bussalleu et al., 2017) досліджували використання протимікробних пептидів, а саме: PR-39, який багатий на пролін та аргінін; 36 (PMAP-36) та 37 (PMAP-37), які належать до групи свинячих мієлоїдних протимікробних пептидів. Автори спостерігали, що PMAP-37 у концентраціях 0,5, 1 та 3 мкм знижував бактеріальне навантаження до 10 днів, а

також поліпшував життєздатність спермій. Крім того, PR-39 (20 мкм) сприяв інгібуванню бактерій, але було виявлено, що він цитотоксичний для сперми кнурів, тимчасом як РМАР-36 не виявляв жодної протимікробної дії.

Інші пептиди свинячого походження, такі як бета-дефенсин-1 (PBD-1) та бета-дефенсин-2 (PBD-2), можуть використовуватися як протимікробні агенти. Puig-Timonet et al. (2018) виявили, що обидва пептиди в концентрації 3 мкм не погіршували життєздатності й рухливості спермій і були здатні певною мірою контролювати мікробний ріст. Так само було показано, що ϵ -полілізін (від 40 до 128 мг/мл) ефективно інгібує зростання бактерій, поліпшує якість сперми та запліднення *in vitro*, здатний замінити 50 % гентаміцину, використовуваного в розріджувачах (Shaoyong et al., 2019).

Пептид LEAP2, ефективність якого не залежить ні від навколишнього середовища, ні від сезону, можна безпечно використовувати як заміник антибіотиків у розчинниках для консервування сперми кнурів при 17 °C. На підставі експерименту *in vitro* іспанські вчені спостерігали, що пептид LEAP2 у концентрації 2,5 мкм не знижував запліднювальної здатності спермій, а за результатами *in vivo* використання пептиду LEAP2 у концентрації 2,5 мкм в середовищі, що не містить антибіотиків, дозволяє контролювати зростання аеробних та анаеробних мікробів, не справляючи негативного впливу ні на якість сперми, ні на її здатність до запліднення (Cordis, 2019).

Бактеріоцини, антимікробні пептиди, що продукуються деякими бактеріями, можуть розглядатися як альтернатива традиційним антибіотикам. Ці молекули виявляють значну ефективність щодо інших бактерій (включаючи стійкі до антибіотиків штами), стабільні та можуть мати вузький або широкий спектр дії (Cotter et al., 2013). Вчені (Jakop et al., 2021) дослідили вплив трьох різних бактеріоцинів (з відомою бактеріолітичною активністю щодо *Escherichia coli*) на якість сперми і на ріст бактерій *E. coli* ILSH 02692 у розведеній спермі розріджувачами без антибіотиків. Нижчі концентрації (0,01 і 0,25 %) всіх бактеріоцинів не впливали на якість сперми, більш високі концентрації (0,5 і 1,0 %) двох бактеріоцинів призводили до значного зниження якісних характеристик деяких спермій. Бактеріоцин 860/1 не впливав на якість сперми в жодній з тестованих концентрацій та у всіх протестованих розріджувачах (BTS, MIII, Androstar Premium та Androher усі без антибіотиків) як при 16 °C, так і при 6 °C. Цей бактеріоцин знижував ріст *E. coli* ILSH 02692 у спермі, розведеної розріджувачем BTS, на 50 % порівняно з контролем без бактеріоцину. Крім того, вибраний бактеріоцин не впливав на фертильність.

Наночастинки. Для контролю за мікробним навантаженням сперми кнурів без негативного впливу на її якість запропоновано використання наночастинок як альтернативу антибіотикам (Tsakmakidis et al., 2020). Наночастинки розміром 40–60 нм мають значну антимікробну здатність щодо *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus* (Guzman et al., 2012). Науковці (Li et al., 2010), досліджуючи механізм дії наночастинок Ag, виявили, що

10 мкг наночастинок Ag/мл можуть повністю стримувати зростання 107 КУО/мл клітин *Escherichia coli*, пошкоджуючи структуру клітинної мембрани, обмежуючи активність ферментів та індукуючи загибель бактерій. Використання наночастинок оксиду заліза (Fe_3O_4) при обробці сперми кнура давало легкий антибіотичний ефект без будь-яких побічних дій на характеристики сперми (Tsakmakidis et al., 2020).

Інші альтернативні засоби. У недавніх дослідженнях науковцями запропоновано використання нових природних біологічно активних продуктів для заміни антибіотиків у технології зберігання сперми.

Hensel et al. (2020) опублікували протокол зберігання сперми кнурів при низькій температурі – 5 °C з використанням двох різних ліпопептидів у розріджувачі AndroStarPremium. Ліпопептиди мають багато переваг антимікробних пептидів, але водночас їх виготовлення потребує менше часу та грошей, що робить їх доступнішими для потенційного подальшого комерційного використання у розріджувачах сперми (Dawgul et al., 2017).

Інша альтернатива протимікробним препаратам включає речовини різного походження, такі як коєва кислота (5-гідрокси-2-гідроксиметил-1,4-пірон), вторинний слабокислотний метаболіт, що продукується аеробною ферментацією грибів *Aspergillus* і *Acetobacter* (Song et al., 2019). Було доведено, що вона інгібує зростання бактерій (у концентраціях від 20 до 100 мг/мл) у розведеній спермі кнурів та впливає (40 мг/мл) на якість сперми, капациацію спермій, кількість спермій, прикріплених до яйцеклітини та ембріональний розвиток (Shaoyong et al., 2019). Jakop et al. (2019) повідомили, що додавання жирних кислот, що трапляються в природі, підвищує рухливість спермій при низькотемпературному зберіганні і дозволяє зберегти більшу кількість мітохондріально активних спермій.

Крім того, було продемонстровано, що йод метіонін, новий тип хелатної сполуки амінокислоти, інгібує проліферацію бактерій типу Proteobacteria і роду *Staphylococcus* та *Pseudomonas*, а також поліпшує рухливість спермій, цілісність плазматичних мембран і акросом у спермі кнурів після 6 днів зберігання (Fang et al., 2017).

Закордонні лабораторії IMV повідомили про використання VastiBag, пакета для сперми з бактеріостатичними молекулами, який продемонстрував здатність контролювати ріст бактерій під час зберігання сперми кнурів протягом 3 днів (Camugli et al., 2019).

Вчений Abd-Allah S. M. (2010) виявив, що використання 0,4 % маточного молочка при кріоконсервації сперми бугаїв поліпшило характеристики життєздатності та фертильності спермій. Маточне молочко містить антимікробний компонент 10-гідрокси-2-деценуову кислоту (Blum et al., 1959), що також може використовуватися як протимікробний засіб, і потребує подальшого дослідження.

Іншою цікавою альтернативою може бути використання алое вера, яке володіє бактерицидними властивостями (Radha & Laxmipriya, 2014). Нещодавно повідомлялося про використання цієї рослини як ефективного кріопротектора для баранячої сперми (Brito et al., 2014) та сперми бугаїв (Farias et al., 2019), але

антимікробний потенціал алое вера для зберігання сперми ще не досліджувався.

Аналогічне дослідження було зосереджено на оцінці екстрактів водоростей та їх придатності для зберігання сперми кнурів. Результати показали, що екстракти не мали протимікробної активності широкого спектру дії і, отже, не були достатньо ефективні для повної заміни антибіотиків у розріджувачах. Проте комбінація екстрактів водоростей зі звичайними антибіотиками або іншими новими протимікробними сполуками може забезпечити корисні переваги для зберігання сперми. Їх селективний вплив на певні види бактерій дає можливість створювати середовища з більш специфічним спектром антимікробної активності, адаптовані до індивідуальних потреб різних центрів штучного осіменіння та бактеріальної флори, що виявляється там (Hensel et al., 2021).

Українські науковці Сідашова С. О. та ін. (Sidashova et al., 2020) запропонували для розрідження сперми кнурів використовувати молочний розріджувач без додавання антибіотиків (питне коров'яче молоко тривалого зберігання, стерилізоване за ультрависокими температурними технологіями). Результати досліджень показали, що при застосуванні даного середовища виживаність спермій при температурі зберігання +5–10 °C (при рухливості більше 6 балів) становила до 4 діб. Заплідненість свиноматок за штучного осіменіння сягала 72,5 %.

Висновки

З огляду на все вищевикладене, можна дійти висновку, що технології зберігання сперми свійських тварин протягом останніх років зазнали безліч змін. Додавання антибіотиків до розріджувачів сперми широко застосовується у всьому світі, хоча багато мікроорганізмів у спермі тварин можуть бути стійкими до них. Зважаючи на негативний вплив антибіотиків на якість спермій та їхню запліднюючу здатність, постійно удосконалюються та створюються нові альтернативні методи для зберігання сперми: низькотемпературне зберігання, фізичні методи зниження бактеріального навантаження, антимікробні пептиди, наночастинки та використання різних речовин тваринного, рослинного або іншого походження. Можливість низькотемпературного зберігання сперми кнурів може відкрити абсолютно нові підходи у майбутньому за допомогою оптимізації швидкості охолодження. Колоїдне центрифугування як один з фізичних методів є практичним засобом зниження бактеріального навантаження у зразках сперми і його можна ефективно застосовувати з використанням обладнання, яке наявне у багатьох племзаводах. Антимікробні пептиди або наночастинки оксиду заліза можуть стати корисною альтернативою додаванню антибіотиків при зберіганні сперми. Доведено, що антимікробні пептиди контролюють ріст аеробних та анаеробних бактерій у порівнянні низьких концентрацій без шкідливого впливу на якість сперми та фертильність. Разом з тим обґрунтовано, що наночастинки розміром 40–60 нм мають значну антимікробну здатність щодо *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*. Водночас необхідні подальші

дослідження щодо застосування різних речовин тваринного або рослинного походження (маточне молоко, алое вера, екстракти водоростей), а також визначення адекватних концентрацій цих нових сполук, які повинні бути ефективні проти бактерій без погіршення якості сперми.

Відомості про конфлікт інтересів

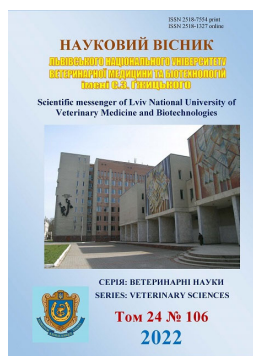
Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abd-Allah, S. M. (2010). Effect of royal jelly on bovine sperm characteristics during post – thaw incubation *in vitro*. *Revista Veterinaria*, 21(2), 81–85. DOI: 10.30972/vet.2121747.
- Al-Kass, Z., Spengler, J., Aurich, C., Kuhl, J., Schmidt, K., & Morrell, J. M. (2019). Effect of presence or absence of antibiotics and use of modified single layer centrifugation on bacteria in pony stallion semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 54(2), 342–349. DOI: 10.1111/rda.13366.
- Althouse, G. C. (2008). Sanitary procedures for the production of extended semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 43(2), 374–378. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01187.x.
- Aurich, C., & Spengler, J. (2007). Influence of bacteria and gentamicin on cooled-stored stallion spermatozoa. *Theriogenology*, 67(5), 912–918. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2006.11.004.
- Barone, F., Ventrella, D., Zannoni, A., Forni, M., & Bacci, M. L. (2016). Can microfiltered seminal plasma preserve the morphofunctional characteristics of porcine spermatozoa in the absence of antibiotics? A preliminary study. *Reproduction in Domestic Animals*, 51(4), 604–610. DOI: 10.1111/rda.12699.
- Blum, M. S., Novak, A. F., & Taber, S. (1959). 10-Hydroxy-delta²-decenoic acid, an antibiotic found in royal jell. *Science*, 130(3373), 452–453. DOI: 10.1126/science.130.3373.452.
- Brito, B. F., Antunes, L. P., Rodrigues, F. R. N., Salgueiro, C. C. M., Cavalcante, J. M. M., & Nunes, J. F. (2014). Effect of Aloe vera added in different concentrations to Powdered Coconut Water (ACP-102®) in ram semen diluted and incubated for two hours. *Acta Veterinaria Brasilica*, 8, 242–243. DOI: 10.21708/avb.2014.8.0.3963.
- Bussalleu, E., Sancho, S., Briz, M. D., Yeste, M., & Bonet, S. (2017). Do antimicrobial peptides PR-39, PMAP-36 and PMAP-37 have any effect on bacterial growth and quality of liquid-stored boar semen? *Theriogenology*, 89, 235–243. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.11.017.
- Camugli, S., Eterpi, M., Gavin-Plagne, L., Gonzalez, A., Gorges, J-C., Vanssay, A., & Schmitt, É. (2019). Bactibag®: An opportunity to reduce the use of antibiotics in boar semen processing. *Theriogenology*, 137, 128. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2019.05.052.
- Casas, I., & Althouse, G. C. (2013). The protective effect of a 17 °C holding time on boar sperm plasma membrane fluidity after exposure to 5 °C. *Cryobiology*, 66(1), 69–75. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2012.11.006.

- Catry, B., Van Duijkeren, E., Pomba, M. C., Greko, C., Moreno, M. A., Pyörälä, S., Ruzauskas, M., Sanders, P., Threlfall, E. J., Ungemach, F., Törneke, K., Munoz-Madero, C., & Torren-Edo, J. (2010). Reflection paper on MRSA in food-producing and companion animals: epidemiology and control options for human and animal health. *Epidemiology & Infection*, 138(5), 626–644. DOI: 10.1017/S0950268810000014.
- Cordis (2019). An alternative to antibiotics in porcine semen doses. URL: <https://cordis.europa.eu/project/id/867184/reporting>.
- Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2013). Bacteriocins – a viable alternative to antibiotics? *Nature Reviews Microbiology*, 11(2), 95–105. DOI: 10.1038/nrmicro2937.
- Dawgul, M. A., Greber, K. E., Bartoszewska, S., Baranska-Rybak, W., Sawicki, W., & Kamysz, W. (2017). In Vitro evaluation of cytotoxicity and permeation study on lysine- and arginine-based lipopeptides with proven antimicrobial activity. *Molecules*, 22(12), 2173. DOI: 10.3390/molecules22122173.
- Duijkeren, E. V., Box, A. T., Schellen, P., Houwers, D. J., & Fluit, A. C. (2005). Class 1 integrons in Enterobacteriaceae isolated from clinical infections of horses and dogs in The Netherlands. *Microbial Drug Resistance*, 11(4), 383–386. DOI: 10.1089/mdr.2005.11.383.
- Estienne, M. J., Harper, A. F., & Day, J. L. (2007). Characteristics of sperm motility in boar semen diluted in different extenders and stored for seven days at 18 °C. *Biology of Reproduction*, 7(3), 221–231. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18059974>.
- Fang, Q., Wang, J., Hao, Y. Y., Li, H., Hu, J. X., Yang, G. S., & Hu, J. H. (2017). Effects of iodine methionine on boar sperm quality during liquid storage at 17 °C. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(6), 1061–1066. DOI: 10.1111/rda.13024.
- Farias, C. F. A., Tork, A. L. P., Rique, A. S., Queirós, A. F., & Silva, S. V. (2019). Study of Aloe vera efficacy as a plant origin extender in the cooling on bovine epididymal spermatozoa. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 43(3), 787–794. URL: <https://www.cabdirect.org/globalhealth/abstract/20193472448>.
- Foote, R. H. (2002). The history of artificial insemination: Selected notes and notables. *Journal of Animal Science*, 80, 1–10. DOI: 10.2527/animalsci2002.80E-Suppl_21a.
- Goldberg, A. M. G., Argenti, L. E., Faccin, J. E., Linck, L., Santi, M., Bernardi, M. L., Cardoso, M. R. I., Wentz, I., & Bortolozzo, F. P. (2013). Risk factors for bacterial contamination during boar semen collection. *Research in Veterinary Science*, 95(2), 362–367. DOI: 10.1016/j.rvsc.2013.06.022.
- Guimarães, T., Lopes, G., Pinto, M., Silva, E., Miranda, C., Correia, M. J., Damásio, L., Thompson, G., & Rocha, A. (2015). Colloid centrifugation of fresh stallion semen before cryopreservation decreased microorganism load of frozen-thawed semen without affecting seminal kinetics. *Theriogenology*, 83(2), 186–191. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2014.09.003.
- Guzman, M., Dille, J., & Godet, S. (2012). Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 8(1), 37–45. DOI: 10.1016/j.nano.2011.05.007.
- Hensel, B., Jakop, U., Scheinpflug, K., Mühldorfer, K., Schröter, F., Schäfer, J., & Schulze, M. (2020). Low temperature preservation of porcine semen: Influence of short antimicrobial lipopeptides on sperm quality and bacterial load. *Scientific Reports*, 10(1), 13225. DOI: 10.1038/s41598-020-70180-1.
- Hensel, B., Jakop, U., Scheinpflug, K., Schröter, F., Sandmann, M., Mühldorfer, K., & Schulze, M. (2021). Low temperature preservation: Influence of putative bioactive microalgae and hop extracts on sperm quality and bacterial load in porcine semen. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 19, 100359. DOI: 10.1016/j.scp.2020.100359.
- Hirt, H., & Gorr, S. U. (2013). Antimicrobial peptide GL13K is effective in reducing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(10), 4903–4910. DOI: 10.1128/AAC.00311-13.
- Jäkel, H., Scheinpflug, K., Mühldorfer, K., Gianluppi, R., Lucca, M. S., Mellagi, A. P. G., & Waberski, D. (2021). In vitro performance and in vivo fertility of antibiotic-free preserved boar semen stored at 5 °C. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12(1), 9. DOI: 10.1186/s40104-020-00530-6.
- Jakop, U., Hensel, B., Orquera, S., Rößner, A., Alter, T., Schröter, F., Grossfeld, R., Jung, M., Simmet, C., & Schulze, M. (2021). Development of a new antimicrobial concept for boar semen preservation based on bacteriocins. *Theriogenology*, 173, 163–172. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2021.08.004.
- Jakop, U., Svetlichnyy, V., Schiller, J., Schulze, M., Schröter, F., & Müller, K. (2019). In vitro supplementation with unsaturated fatty acids improves boar sperm viability after storage at 6°C. *Animal Reproduction Science*, 206, 60–68. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2019.05.008.
- Johannisson, A., Morrell, J. M., Thorén, J., Jönsson, M., Dalin, A.-M., & Rodriguez-Martinez, H. (2009). Colloidal centrifugation with Androcoll-E™ prolongs stallion sperm motility, viability and chromatin integrity. *Animal Reproduction Science*, 116(1-2), 119–128. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2009.01.008.
- Li, W. R., Xie, X. B., Shi, Q. S., Zeng, H. Y., Ouyang, Y. S., & Chen, Y. B. (2010). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(4), 1115–1122. DOI: 10.1007/s00253-009-2159-5.
- Malmgren, L., Olsson, E. E., Engvall, A., & Albihn, A. (1998). Aerobic bacterial flora of semen and stallion reproductive tract and its relationship to fertility under field conditions. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 39(2), 173–182. DOI: 10.1186/BF03547790.
- Martínez-Pastor, F., Lacalle, E., Martínez-Martínez, S., Fernández-Alegre, E., Álvarez-Fernández, L., Martínez-Alborcia, M.-J., Bolarin, A., & Morrell, J. M. (2021). Low density Porcicoll separates spermatozoa from bacteria and retains sperm quality. *Theriogenology*, 165, 28–36. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2021.02.009.
- Maxwell, W. M. C., & Johnson, L. A. (1997). Membrane status of boar spermatozoa after cooling or cryopreservation. *Theriogenology*, 48(2), 209–219. DOI: 10.1016/S0093-691X(97)84068-X.
- Menezes, T. A., Mellagi, A. P. G., da Silva Oliveira, G., Bernardi, M. L., Wentz, I., Ulguim, R. D. R., &

- Bortolozzo, F. P. (2020). Antibiotic-free extended boar semen preserved under low temperature maintains acceptable *in vitro* sperm quality and reduces bacterial load. *Theriogenology*, 149, 131–138. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.03.003.
- Morrell, J. M. (2011). Artificial Insemination: Current and Future Trends. In M. Manafi (Ed.). *Artificial Insemination in Farm Animals* (pp. 1 – 14). IntechOpen. DOI: 10.5772/17943.
- Morrell, J. M., & Nunes, M. M. (2018). Practical guide to Single Layer Centrifugation of stallion semen. *Equine Veterinary Education*, 30(7), 392–398. DOI: 10.1111/eve.12658.
- Morrell, J. M., & Wallgren, M. (2011). Removal of bacteria from boar ejaculates by Single Layer Centrifugation can reduce the use of antibiotics in semen extenders. *Animal Reproduction Science*, 123(1-2), 64–69. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2010.11.005.
- Morrell, J. M., & Wallgren, M. (2014). Alternatives to antibiotics in semen extenders: a review. *Pathogens*, 3, 934 – 946. DOI: 10.3390/pathogens3040934.
- Morrell, J. M., Klein, C., Lundeheim, N., Erol, E., & Troedsson, M. H. T. (2014). Removal of bacteria from stallion semen by colloid centrifugation. *Animal Reproduction Science*, 145(1-2), 47–53. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2014.01.005.
- Morrell, J. M., Núñez-González, A., Crespo-Félez, I., Martínez-Martínez, S., Martínez Alborcia, M-J., Fernández-Alegre, E., Dominguez, J. C., Gutiérrez-Martín, C. B., & Martínez-Pastor, F. (2019). Removal of bacteria from boar semen using a low-density colloid. *Theriogenology*, 126, 272–278. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2018.12.028.
- Morrell, J. M., Saravia, F., Van Wienen, M., Wallgren, M., & Rodriguez-Martinez, H. (2009). Selection of boar spermatozoa using centrifugation on a glycidoxypolytrimethoxysilane-coated silica colloid. *Journal of Reproduction and Development*, 55(5), 547–552. DOI: 10.1262/jrd.20243.
- Paschoal, A. F. L., Luther, A. M., Jäkel, H., Scheinpflug, K., Mühldorfer, K., Bortolozzo, F. P., & Waberski, D. (2020). Determination of a cooling-rate frame for antibiotic-free preservation of boar semen at 5 °C. *PLoS ONE*, 15(6), e0234339. DOI: 10.1371/journal.pone.0234339.
- Puig-Timonet, A., Castillo-Martín, M., Pereira, B. A., Pinart, E., Bonet, S., & Yeste, M. (2018). Evaluation of porcine beta defensins-1 and -2 as antimicrobial peptides for liquid-stored boar semen: effects on bacterial growth and sperm quality. *Theriogenology*, 111, 9–18. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2018.01.014.
- Radha, M. H., & Laxmipriya, N. P. (2014). Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloe vera: A systematic review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(1), 21–26. DOI: 10.1016/j.jtcme.2014.10.006.
- Santos, C. S., & Silva, A. R. (2020). Current and alternative trends in antibacterial agents used in mammalian semen technology. *Animal Reproduction*, 17(1), e20190111. DOI: 10.21451/1984-3143-AR2019-0111.
- Schulze, M., Ammon, C., Rüdiger, K., Jung, M., & Grobbel, M. (2015). Analysis of hygienic critical control points in boar semen production. *Theriogenology*, 83(3), 430–437. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2014.10.004.
- Schulze, M., Jung, M., & Hensel, B. (2022). Science-based quality control in boar semen production. *Molecular Reproduction and Development*, 1–9. DOI: 10.1002/mrd.23566.
- Schulze, M., Junkes, C., Mueller, P., Speck, S., Ruediger, K., Dathez, M., & Mueller, K. (2014). Effects of Cationic Antimicrobial Peptides on Liquid-Preserved Boar Spermatozoa. *PLoS ONE*, 9(6), e100490. DOI: 10.1371/journal.pone.0100490.
- Shaoyong, W., Li, Q., Ren, Z., Wei, C., Chu, G., Dong, W., Yang, G. S., & Pang, W. J. (2019). Evaluation of ε-polylysine as antimicrobial alternative for liquid-stored boar semen. *Theriogenology*, 130, 146–156. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2019.03.005.
- Shaoyong, W., Li, Q., Ren, Z., Xiao, J., Diao, Z., Yang, G., & Pang, W. (2019). Effects of kojic acid on boar sperm quality and anti-bacterial activity during liquid preservation at 17 °C. *Theriogenology*, 140, 124–135. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2019.08.020.
- Sidashova, S. O., Humennyi, O. H., Khalak, V. I., Susol, R. L., Lobchenko, V. O., Stryzhak, T. A., Lobchenko, S. F., & Stryzhak, A. V. (2020). UA Patent No. 141818. Kyiv: DP “Ukrainskyi instytut intelektualnoi vlasnosti” (in Ukrainian).
- Smole, I., Thomann, A., Frey, J., & Perreten, V. (2010). Repression of common bull sperm flora and *in vitro* impairment of sperm motility with *Pseudomonas aeruginosa* introduced by contaminated lubricant. *Reproduction in Domestic Animals*, 45(4), 737–742. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01319.x.
- Song, L., Xie, W., Zhao, Y., Lv, X., Yang, H., Zeng, Q., Zheng, Z., & Yang, X. (2019). Synthesis, antimicrobial, moisture absorption and retention activities of kojic acid-grafted konjac glucomannan oligosaccharides. *Polymers*, 11(12), 1–12. DOI: 10.3390/polym11121979.
- Tsakmakidis, I. A., Samaras, T., Anastasiadou, S., Basioura, A., Ntemka, A., Michos, I., Simeonidis, K., Karagiannis, I., Tsousis, G., Angelakeris, M., & Boscos, C. M. (2020). Iron Oxide Nanoparticles as an Alternative to Antibiotics Additive on Extended Boar Semen. *Nanomaterials*, 10(8), 1568. DOI: 10.3390/nano10081568.
- Van Boeckel, T. P., Pires, J., Silvester, R., Zhao, C., Song, J., Criscuolo, N. G., Gilbert, M., Bonhoeffer, S., & Laxminarayan, R. (2019). Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries. *Science*, 365(6459), eaaw1944. DOI: 10.1126/science.aaw1944.
- Waberski, D., Luther, A. M., Grunther, B., Jäkel, H., Henning, H., Vogel, C., & Weitze, K. F. (2019). Sperm function *in vitro* and fertility after antibiotic-free, hypothermic storage of liquid preserved boar semen. *Scientific Reports*, 9(1), e14748. DOI: 10.1038/s41598-019-51319-1.
- Wallgren, M. (1996). Screening of mycoplasmal and bacterial content in semen from Swedish AI-boars, 14th International pig veterinary society congress. Bologna: University of Bologna. Faculty of veterinary medicine.
- Wasilewska, K., & Fraser, L. (2017). Boar variability in sperm cryo-tolerance after cooling of semen in different long-term extenders at various temperatures. *Animal Reproduction Science*, 185, 161–173. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2017.08.016.



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/nvlvet10613

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

UDC 619:616.98-091:636.7

Pathomorphological changes of the stomach and intestinum crassum in the intestinal form of parvoviral enteritis in dogs

M. Radzykhovskiy¹✉, B. Gutyj², O. Dyshkant³, I. Sokulsky³, A. Antoniuk³

¹National University of life and environmental sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

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

³Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

Article info

Received 04.04.2022

Received in revised form

05.05.2022

Accepted 06.05.2022

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: byh@ukr.net

Polissia National University,
Sary Boulevard, 7, Zhytomyr,
10008, Ukraine.

Radzykhovskiy, M., Gutyj, B., Dyshkant, O., Sokulsky, I., & Antoniuk, A. (2022). Modern technologies for storing semen of domestic animals without the addition of antibiotics. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 81–86. doi: 10.32718/nvlvet10613

Based on the analysis of literature sources, monitoring results and our own research, it has been established that viral enteritis occupies a leading place in the infectious pathology of dogs and causes significant damage to animal owners. Viral enteritis, most commonly caused by parvovirus, causes severe gastrointestinal disorders and is one of the most common causes of infectious diarrhea in dogs under 6 months of age. Therefore, given the relevance of this issue, the result of our study is to clarify, supplement and summarize data on the pathomorphological features of the intestinal form of parvovirus infection in dogs. Diagnostic studies to confirm parvovirus enteritis were performed using VetExpert CPV Ag or CPV/CCV Ag rapid tests, as well as by ELISA and PCR. Dissection of dead animals was performed in the conventional sequence. For pathomorphological examination, samples were taken from the gastrointestinal tract, fixed in 10 % neutral formalin solution, followed by dehydration in alcohols of increasing concentration and the procedure of organ compaction according to the generally accepted method. Histological sections 6–10 µm thick were obtained using a microtome. The article presents the results of pathological changes in dogs with parvovirus enteritis, namely macroscopically under the serous membrane of the stomach revealed striped hemorrhages, duodeno-gastric reflux, manifested by gray-green color of the mucous membrane (bile accumulation). Histological methods have shown that the blood vessels of the submucosal base of the mucous membrane are clearly dilated, filled with blood. The mucous membrane is swollen, unevenly colored in all parts of the stomach. In the muscular membrane of the stomach wall, the vast majority of cells were in a state of granular dystrophy, and in some animals, necrotic changes in smooth muscle tissue were recorded. Histochemical studies revealed the development of microscopic changes that indicated hypersecretion of mucus (acidic proteins) in the stomach of sick dogs. No specific macroscopic changes in the colon were recorded. Microscopically, a small amount of cellular detritus with mucus fragments, goblet cell hyperplasia, and a reaction of epithelial cells that were in a state of granular, less often, hydropic dystrophy were recorded on the lumen of the colon on the mucosal surface.

Key words: dogs, parvovirus enteritis, pathological autopsy, macroscopic changes, histological and histochemical studies pathomorphological diagnosis.

Патоморфологічні зміни у шлунку та товстому відділі кишечника за кишкової форми парвовірусного ентериту собак

М. Л. Радзиховський¹✉, Б. В. Гутій², О. В. Дишкант³, І. М. Сокульський³, А. А. Антонюк³

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

³Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

На основі проведеного нами аналізу літературних джерел, результатів моніторингових та власних досліджень з'ясовано, що вірусні ентерити займають провідне місце в інфекційній патології собак і завдають значних збитків власникам тварин. Вірусні ентерити, з яких патогеном, що найчастіше реєструють, є парвовірус, призводять до тяжких розладів шлунково-кишкової системи і є однією з найбільш поширених причин інфекційної діареї у собак віком до 6 місяців. Тому, враховуючи актуальність даного питання, результатом наших досліджень є уточнення, доповнення та узагальнення даних щодо патоморфологічних особливостей кишкової форми парвовірусної інфекції у собак. Діагностичні дослідження на підтвердження парвовірусного ентериту проводили за допомогою експрес-тестів *VetExpert CPV Ag* або *CPV/CCV Ag* та в ІФА і ПЛР. Патологоанатомічний розтин тварин проводили методом часткової евісцератії в загальноприйнятій послідовності. Для патоморфологічного дослідження відбирали зразки травної трубки, їх фіксували у 10 % нейтральному розчині формаліну, надалі проводили зневоднення у спиртах зростаючої концентрації та процедуру уцілювання органа за загальноприйнятими методиками. За допомогою санного мікромому одержували гістологічні зрізи товщиною 6–10 мкм. У статті наведено результати патологоанатомічних змін у собак за парвовірусного ентериту, а саме макроскопічно встановлено: під серозною оболонкою шлунка виявлялися смугасті крововиливи, дуодено-гастральний рефлюкс, що проявлявся сіро-зеленим кольором слизової оболонки (накопичення жовчі). Гістологічними методами виявлено, що кровоносні судини підслизової основи слизової оболонки були виразно розширені, переповнені кров'ю. Слизова оболонка у стані набряку, нерівномірно забарвлена по всіх зонах шлунка. У м'язовій оболонці стінки шлунка переважна більшість клітин перебували у стані зернистої дистрофії, а в деяких тварин фрагментами реєструвались некротичні зміни гладкої м'язової тканини. За допомогою гістохімічних досліджень встановлено розвиток мікроскопічних змін, що свідчили про гіперсекрецію слизу (кислих білків) у шлунку хворих собак. Специфічних макроскопічних змін у товстому відділі кишечника (накопичення жовчі). Мікроскопічно встановлено, що у просвіті ободової кишки на поверхні слизової оболонки реєстрували невелику кількість клітинного детриту з фрагментами слизу, гіперплазію келихоподібних клітин та реакцію епітеліоцитів, які перебували у стані зернистої, рідше – гідропічної дистрофії.

Ключові слова: собаки, парвовірусний ентерит, патологоанатомічний розтин, макроскопічні зміни, гістологічні та гістохімічні дослідження, патоморфологічна діагностика.

Вступ

Вважається, що парвовірус, який у майбутньому став патогенним для собак, існував з 1920 р. і природно інфікував тільки котів, норок та інших сільсько-сподарських тварин. З 70 років XX століття став патогенним і для собак, мабуть, за рахунок другої та третьої мутацій котячого парвовірусу, що дало йому змогу розширити спектр сприйнятливих тварин (Wang et al., 2012; Perez et al., 2014; Geetha, 2015; Parker et al., 2017). Парвовірусний ентерит собак (ПВС, парвовіроз, “олімпійка” *Caninae parvoviridae*) – гостра висококонтагіозна хвороба, що характеризується ураженням шлунково-кишкового тракту й серцевого м'яза. Парвовіроз зазвичай має стаціонарний характер зі значним охопленням поголів'я. Найбільш небезпечна хвороба для цуценят віком до 6 місяців, причому летальність може досягати 80 % (Steinel et al., 2001; Filipov et al., 2011; Castro et al., 2013; Radzykhovskyy & Zayika, 2017). Найбільш виражені патологоанатомічні зміни спостерігають у шлунково-кишковому тракті (за кишкової форми), головним чином у тонкому відділі кишечника (Larson & Schultz, 2007; Decaro & Buonavoglia, 2012; Marcovich et al., 2012; Lisova & Radzykhovskyy 2018).

Перебуваючи у шлунково-кишковому тракті, вірус виявляє тропізм до епітеліальних клітин тонкого відділу кишечника, порушуючи його властивість щодо збереження рідини і бар'єру для бактеріальних клітин, які перебувають у кишечнику (Netherton & Wileman, 2011; Ling et al., 2012; Decaro et al., 2013; McClure et al., 2013; Khatri et al., 2017).

Враховуючи те що у більшості з доступних нам літературних джерел наводиться вичерпна інформація щодо виражених патолого-анатомічних змін у шлунково-кишковому тракті (при кишкової форми), а головним чином у тонкому відділі кишечника

(Geetha, 2015; Mylonakis et al., 2016; D'Oliveira et al., 2018), нами була проведена робота щодо вивчення патоморфологічних особливостей впливу парвовірусу на шлунок та товстий відділ кишечника собак, тому вважаємо, що дана інформація є актуальною і необхідною як для практикуючих лікарів ветеринарної медицини, так і для науковців.

Метою даної роботи було з'ясувати та охарактеризувати патоморфологічні зміни в шлунку та товстому відділі кишечника за кишкової форми парвовірусної інфекції у собак.

Матеріал і методи досліджень

Діагностичні дослідження на підтвердження парвовірусного ентериту проводили за допомогою експрес-тестів *VetExpert CPV Ag* або *CPV/CCV Ag* та в ІФА і ПЛР на базі приватної ветеринарної лабораторії ТОВ “Бальд” (м. Київ).

Всі дослідження були здійснені згідно з правилами проведення експериментів з використанням тварин, прийнятих “Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються в наукових цілях” (Страсбург, 1986 р.), “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, схвалених І національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.),

Патологоанатомічний розтин собак різного віку, які загинули від парвовірусного ентериту, у ветеринарних клініках виконували методом часткової евісцератії в загальноприйнятій послідовності (Urbanovych et al., 2008; Skrypka & Kolych, 2011).

Для гістологічних досліджень шматочки трубчастого матеріалу (шлунок, кишечник товстого відділу) відразу після відбору (не менше ніж 5 шматочків від кожної тварини), фіксували у 10 % водному розчині нейтрального формаліну, надалі проводили зневоднення у низці розчинів етилового спирту з висхідними

концентраціями (від 70 до 96 °) з подальшою заливкою в ущільнююче середовище – парафін. Виготовлені гістологічні зрізи завтовшки 6–10 мкм із парафінових блоків.

Для вивчення мікроскопічної будови, морфології клітин та морфометричного дослідження і для отримання оглядових препаратів застосовували фарбування зрізів гематоксилином Караці та еозином і за методом Ван-Гізона з використанням рекомендацій, які запропоновані у посібнику Л. П. Горальського, В. Т. Хомича, О. І. Кононського (Horalskyi et al., 2019).

Сумарні білки зафарбовували амідочорним 10 В, загальні та кислі білки – за методом Мікель–Кальве, глікоген і глікопротеїди – за допомогою ШІЙК-реакції. Глікозаміноглікани виявляли альціановим синім за рН 1,0 та 2,5 (Horalskyi et al., 2019).

Загальну гістологічну будову і мікроструктурні патоморфологічні зміни, виявлені на гістологічних препаратах цуценят, експериментально заражених коронавірусом, аналізували під світловим мікроскопом MC 100 LED (Micros Austria) при збільшеннях від 50х до 400х. Мікрофотографування гістологічних препаратів здійснювали за допомогою цифрової відеока-

мери CAM V200, вмонтованої у мікроскоп Micros MC 50.

Результати та їх обговорення

Під час проведення патологоанатомічного розтину собак, що загинули від кишкової форми парвовірусної інфекції, нами було встановлено, що макроскопічні зміни в усіх випадках за своїм характером загалом були однаковими, хоча й мали незначні індивідуальні особливості щодо ступеня їхнього прояву. Під час зовнішнього огляду трупів виявляли погану вгодованість, матову, скуйовджену шерсть та сухувату шкіру, яка в ділянці анального отвору, кореня хвоста і задньої поверхні стегон була забруднена фекаліями коричневого кольору. У трьох собак, що загинули від кишкової форми парвовірусної інфекції, під серозною оболонкою шлунка виявлялися смугасті крововиливи (рис. 1). Слизова оболонка шлунка та його вміст у 11 собак були забарвлені у жовтий чи жовтувато-зелений колір (рис. 2), що свідчило про прижиттєве закидання вмісту дванадцятипалої кишки з великою кількістю жовчі антиперистальтичними рухами в шлунок (дуодено-гастральний рефлюкс).

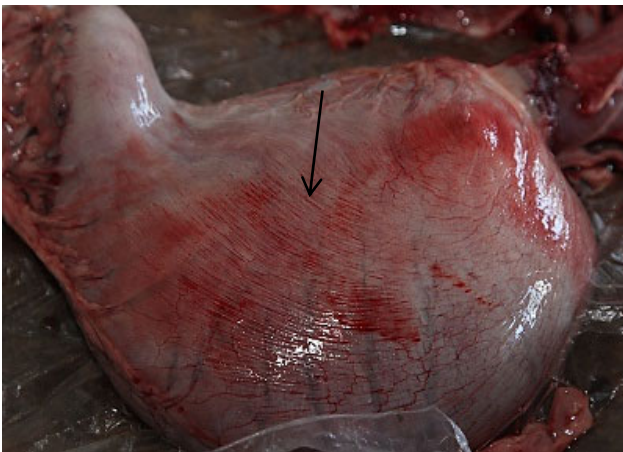


Рис. 1. Шлунок собаки, що загинула від кишкової форми парвовірусної інфекції: смугасті крововиливи під серозну оболонку (показано стрілкою). Макропрепарат

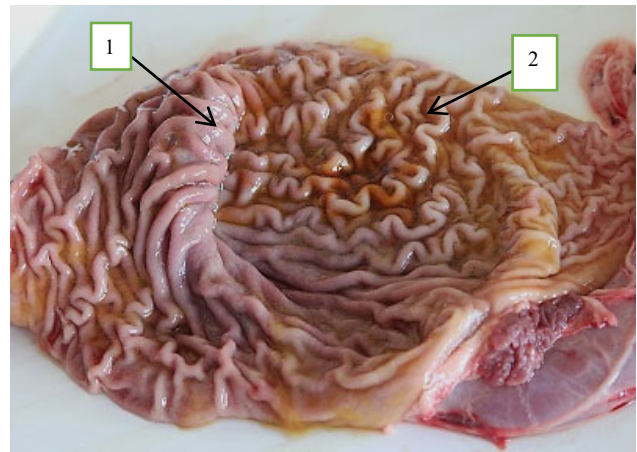


Рис. 2. Слизова оболонка шлунка собаки, що загинула від кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – незмінена слизова оболонка; 2 – жовтуватий колір вмісту та слизової оболонки

Також варто зазначити, що в жодному з випадків макроскопічних ознак гастриту під час проведення патологоанатомічного розтину нами не виявлено.

Під час проведення гістологічних досліджень мікроскопічна будова слизової оболонки кардіальної, фундальної, пілоричної та беззалозистої частин шлунка була такою ж, як у контрольних тварин. Проте в деяких тварин у шлункових ямочках виявляли скупчення еритроцитів. При цьому, враховуючи відсутність клітинної інфільтрації у певних структурах слизової оболонки, в тому числі й еритроцитами, відсутність крововиливів у слизову оболонку шлунка та відсутність пошкодження епітелію шлункових ямочок, можна зробити висновок, що еритроцити, найвірогідніше, потрапляли в просвіт шлунка з просвіту тонкої кишки під час антиперистальтичних рухів (дуодено-гастральний рефлюкс). Наявність останньо-

го у хворих на кишкову форму парвовірусної інфекції собак підтверджується клінічними проявами хвороби (блювання) та макроскопічними змінами (зафарбовування вмісту шлунка деяких тварин жовцю). У фундаментальній частині шлунка цитоплазма значної кількості шийкових слизових клітин шлункових ямочок була переповнена ацидофільним білковим секретом настільки, що апікальна частина цитоплазми цих клітин випиналася у просвіт шлункових ямочок. Такі мікроскопічні зміни свідчили про гіперсекрецію слизу у шлунку хворих собак. Розміри лімфоїдних вузликів шлунка, порівняно з аналогічними морфологічними утвореннями контрольних тварин, були помітно зменшені. Кількість лімфоцитів у таких вузликах також була меншою. Характерних для парвовірусної інфекції внутрішньоядерних еозинофільних тілець-включень у лімфоцитах не виявляли. Кровоносні су-

дини підслизової основи слизової оболонки були виразно розширені, переповнені кров'ю. У м'язовій оболонці стінки шлунка переважна більшість клітин перебувала у стані зернистої дистрофії, а в деяких

тварин місцями реєструвались некротичні зміни гладкої м'язової тканини (рис. 3). Серозна оболонка при цьому не змінювалась.

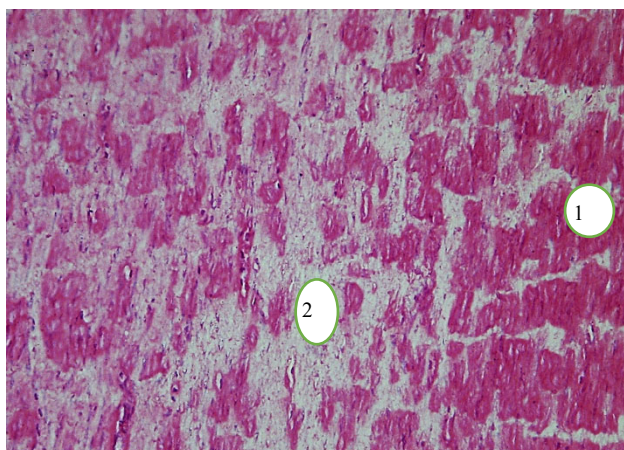


Рис. 3. Фрагмент м'язової оболонки стінки шлунка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин; 2 – некроз гладких м'язових клітин. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$

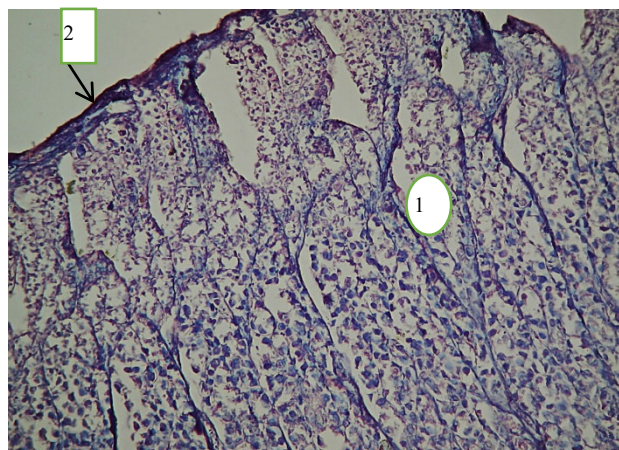


Рис. 4. Фрагмент слизової оболонки фундальної частини шлунка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – шлункові ямки; 2 – білкові сполуки слизу на поверхні слизової оболонки. Амідочорний 10 В, $\times 100$

Таким чином, визначені нами мікроскопічні зміни м'язової оболонки, на нашу думку, свідчать про функціональне виснаження м'язової тканини стінки шлунка за розвитку інфекційного процесу.

Під час проведення гістохімічних досліджень шлунка собак, що загинули від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції, виявляли, що слизова оболонка кардіальної, фундальної та пілоричної час-

тин вкрита густим слизом, до складу якого входить велика кількість білкових сполук (рис. 4). Разом із мікроскопічними змінами, встановленими нами в фундальній частині шлунка, це вказує на гіперсекрецію цього органа (рис. 5). При цьому у підслизовій основі слизової оболонки реєструвалось накопичення кислих білків у частині пучків колагенових волокон (рис. 5).

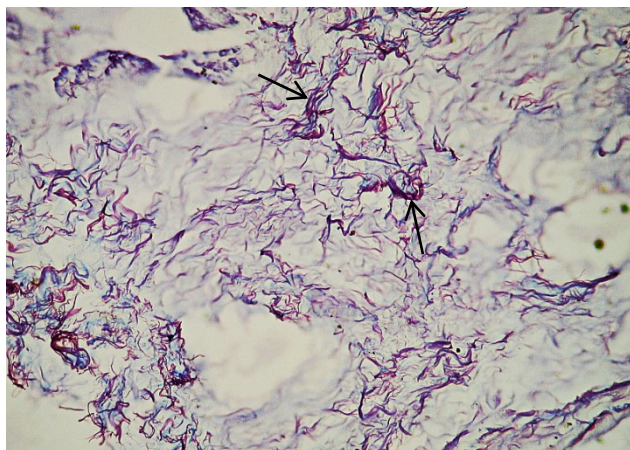


Рис. 5. Підслизова основа слизової оболонки фундальної частини шлунка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: кислі білки в пучках колагенових волокон (показано стрілками). Амідочорний 10 В, $\times 100$

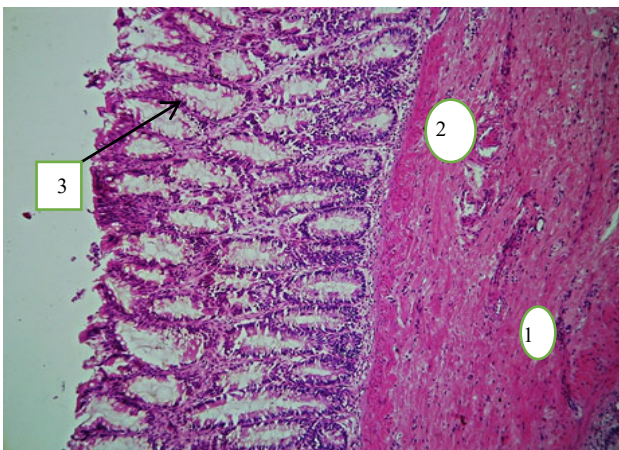


Рис. 6. Фрагмент слизової оболонки обоювої кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин м'язової оболонки; 2 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин м'язової пластинки слизової оболонки; 3 – руйнування епітеліоцитів кріпти. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$

У товстій кишці макроскопічних змін в жодному випадку встановлено не було. Проте у просвіті цього відділу шлунково-кишкового тракту знаходили рідину червонуватого кольору. При цьому у сліпій і обоювій кишках собак, які загинули від спонтанної киш-

кової форми парвовірусної інфекції, мікроскопічних змін в серозній оболонці нами встановлено не було. Слизова оболонка була нерівномірно помірно інфільтрована лімфоцитами, меншою кількістю моноцитів та поодинокими нейтрофілами й еозинофілами. При

цьому на окремих ділянках сліпої й ободової кишок така інфільтрація була майже повністю відсутня. Просвіти багатьох крипт були розширені (рис. 6). Спостерігали гіперплазію келихоподібних клітин, гіпертрофію частини з них та гіперсекрецію слизу, який не тільки вкривав поверхню епітелію слизової оболонки, а й у великій кількості містився у просвіті багатьох крипт. Епітеліальні клітини крипт сліпої й ободової кишок перебували у стані зернистої, рідше – гідропічної дистрофії. Частина дистрофічно змінених клітин руйнувалась чи відділялась від базальної мембрани у просвіт. На нашу думку, такі дистрофічні зміни епітеліоцитів зумовлені розладами кровообігу, а саме – венозною гіперемією, яку спостерігали у підслизовій основі, що перешкоджало нормальному відведенню продуктів метаболізму клітин та надходженню поживних речовин і особливо кисню. Поряд з дистрофічними змінами епітелію у багатьох криптах виявляли помірні набряки строми та субепітеліальні набряки. Частина дистрофічно змінених клітин руйнувалась чи відділялась від базальної мембрани у просвіт (див. рис. 6).

У просвіті ободової кишки поблизу поверхні слизової оболонки знаходили досить невелику кількість клітинного детриту та невеликі за розмірами фрагменти епітелію на різних стадіях некрозу й руйнування. Між такими фрагментами нерідко виявляли слиз. У прямій кишці спостерігали зернисту дистрофію гладких м'язових клітин м'язового шару та розширення й переповнення кров'ю кровоносних судин.

Висновки

у загиблих тварин виявлено комплекс патолого-анатомічних ознак, які можна вважати характерними для парвовірусного ентериту:

- Мікроскопічними дослідженнями виявлено дистрофічні зміни м'язової оболонки шлунка, що свідчать про функціональне виснаження тканини.
- Гістохімічні дослідження шлунка вказують на гіперсекрецію цього органа і накопичення кислих білків у частині пучків колагенових волокон.
- Внаслідок венозної гіперемії у підслизовій основі товстого відділу кишечника в епітеліальних клітинах крипт сліпої й ободової кишок встановлено зернисту дистрофію.

Перспективи подальших досліджень будуть спрямовані на патоморфологічне дослідження паренхіматозних органів за кишкової форми парвовірусного ентериту собак.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

Castro, T., Cassia, R., Cubel, G. N., Gonçalves, L. P. S., Costa, E. M., Marcello, G. C. G., Labarthe, V. N., & Mendes-de-Almeida, F. (2013). Clinical, hematological and biochemical findings in puppies with coronavirus

and parvovirus enteritis. *Canadian Veterinary Journal*, 54(9), 885–893. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3743577>.

D'Oliveira, P.S.B., Cargnelutti, J.F., Masuda, E.K., Figuera, R.A., Kommers, G.D., Da'Silva, M.C., Weiblen, R. & Flores, E.F. (2018). Epidemiological, clinical and pathological features of canine parvovirus 2c infection in dogs from southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(1), 113–118. DOI: 10.1590/1678-5150-pvb-5122.

Decaro, N., & Buonavoglia, C. (2012). Canine parvovirus – a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Veterinary Microbiology*, 155(1), 1–12. DOI: 10.1016/j.vetmic.2011.09.007.

Decaro, N., Desario, C., Billi, M., Lorusso, E., Colaianni, M. L., Colao, V. & Buonavoglia, C. (2013). Evaluation of an in-clinic assay for the diagnosis of canine parvovirus. *Veterinary Journal*, 198(2), 504–507. DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.08.032.

Filipov, C., Decaro, N., Desario, C., Amorisco, F., Sciarretta, R. & Buonavoglia C. (2011). Canine parvovirus epidemiology in Bulgaria. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(1), 152–154. DOI: 10.1177/104063871102300129.

Geetha, M. (2015). Epidemiology, pathogenesis, clinical findings and diagnosis of canine parvo viral infection – a mini review. *International Journal of Scientific Engineering and Applied Science*, 1(9), 21–27. URL: <https://ijseas.com/volume1/v1i9/ijseas20150903.pdf>.

Horalskyi, L. P., Khomych, V. T., & Kononskyi, O. I. (2019). Osnovy histolohichnoi tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhennia u normi ta pry patolohii [Fundamentals of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions] Polissia, Zhytomyr (in Ukrainian).

Khatri, R., Mohan, H., Prasad, M., & Pundir, C.S. (2017). Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Canine Parvovirus Disease in Dogs: A Mini Review. *Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis*, 6(3), 178–202. DOI: 10.4172/2325-9590.1000233.

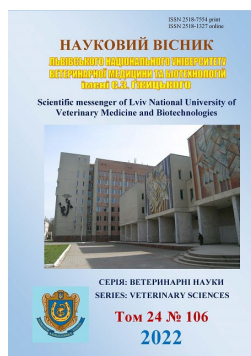
Larson, L. J., & Schultz, R. D. (2007). Three-Year Serologic Immunity against Canine Parvovirus Type2 and Canine Adenovirus Type2 in Dogs Vaccinated with a Canine Combination Vaccine. *Veterinary Therapeutics*, 8(4), 305–310. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18183549>.

Ling, M., Norris, J.M., Kelman, M., & Ward, M. P. (2012). Risk factors for death from canine parvovirus-related disease in Australia. *Veterinary microbiology*, 158(3–4), 280–290. DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.02.034.

Lisova, V. V., & Radzykhovskyy, M. L. (2018). Patomorfologichna diahnozyka enteritiv virusnoyi etiologiyi u sobak [Pathomorphological diagnosis of enteritis of viral etiology in dogs] *Naukovyy visnyk LNUVM ta BT im. S.Z. Gzhyts'koho*, 20(83), 299–303. DOI: 10.15421/nvlvet8360.

Marcovich, J. E., Stucker, K. M., Carr, A. H., Harbison, C. E., Scarlett, J. M., & Parrish, C. R. (2012). Effects of canine parvovirus strain variations on diagnostic test results and clinical management of enteritis in dogs. *Jour-*

- nal of the American Veterinary Medical Association, 241(1), 66–72. DOI: 10.2460/javma.241.1.66.
- McClure, V., Schoor, M., Thompson, P. N., Kjelgaard-Hansen, M., & Goddard, A. (2013). Evaluation of the use of serum C-reactive protein concentration to predict outcome in puppies infected with canine parvovirus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243(3), 361–366. DOI: 10.2460/javma.243.3.361.
- Mylonakis, M., Kalli, I., & Rallis, T. (2016). Canine parvoviral enteritis: an update on the clinical diagnosis, treatment, and prevention. *Journals Veterinary Medicine*, 7, 91–100. DOI: 10.2147/VMRR.S80971.
- Netherton, C. L., & Wileman, T. (2011). Virus factories, double membrane vesicles and viroplasm generated in animal cells. *Current opinion in virology*, 1(5), 381–387. DOI: 10.1016/j.coviro.2011.09.008.
- Parker, J., Murphy, M., Hueffer, K., & Chen, J. (2017). Investigation of a Canine Parvovirus Outbreak using Next Generation Sequencing. *Scientific Reports*, 7, 9633. DOI: 10.1038/s41598-017-10254-9.
- Perez, R., Calleros, L., Marandino, A., Sarute, N., Iraola, G., Grecco, S., Blanc, H. & Vignuzzi, M. (2014). Phylogenetic and Genome-Wide Deep-Sequencing Analyses of Canine Parvovirus Reveal Co-Infection with Field Variants and Emergence of a Recent Recombinant Strain. *PloS One*, 9(11), e111779. DOI: 10.1371/journal.pone.0111779.
- Radzykhovs'kyi, M. L., & Zayika, S. S. (2017). Patomorfologichna kharakterystyka parvovirusnoho enterytu v sobak [Pathomorphological characteristics of parvovirus enteritis in dogs]. *Naukovyy visnyk LNUVM ta BT im. S.Z. Gzhyts'koho*, 19(82), 45–49. DOI: 10.15421/nvlvet8210 (in Ukrainian).
- Skrypka, M. V., & Kolych, N. B. (2011). Navchal'no-metodychnyy posibnyk z patolohichnoyi anatomiyi dlya laboratornykh zanyat' [Educational and methodical manual on pathological anatomy for laboratory classes.]. Poltava (in Ukrainian).
- Steinel, A., Parrish, C. R., Bloom, M. E. & Truyen, U. (2001). Parvovirus Infections in Wild Carnivores. *Journal of Wildlife Diseases*, 37(3), 594–607. DOI: 10.7589/0090-3558-37.3.594.
- Urbanovych, P. P., Potots'kyi, M. K., Hevkan, I. I., & Zon, H. A. (2008). Patolohichna anatomiya tvaryn [Pathological anatomy of animals] *Vetinform*. Kyiv (in Ukrainian).
- Wang, J., Cheng, S., & Cheng, Y. (2012). Evidence for natural recombination between mink enteritis virus and canine parvovirus. *Journal of Virology*, 9, 252–569. DOI: 10.1186/1743-422X-9-252.



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/nvlvet10614

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

UDC 636.7.09: 616-001.5: 666.3

Clinical, radiological and pathochemical substantiation of osteosubstitution by hydroxyapatite ceramics with β -tricalcium phosphate and platelet-enriched autofibrin in fragmentary bone fractures in dogs

S. M. Shevchenko✉, M. V. Rublenko

Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

Article info

Received 08.04.2022

Received in revised form
09.05.2022

Accepted 10.05.2022

Bila Tserkva National Agrarian
University, pl. Soborna 8/1,
Bila Tserkva, 09117, Ukraine.
Tel.: +38-097-859-58-11
E-mail: svitlana.shevchenko@btsau.edu.ua

Shevchenko, S. M., & Rublenko, M. V. (2022). Clinical, radiological and pathochemical substantiation of osteosubstitution by hydroxyapatite ceramics with β -tricalcium phosphate and platelet-enriched autofibrin in fragmentary bone fractures in dogs. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 87–96. doi: 10.32718/nvlvet10614

Due to the similarity of its composition to bone tissue, bioactive ceramics based on hydroxyapatite are considered the most promising for osteosubstitution of fragmentary fractures, and topical application of pharmacological agents and autologous agents bioactive substances, in particular, platelet-rich fibrin (PRF). The work aims to clinically and radiologically, and pathochemically substantiate osteosubstitution by hydroxyapatite ceramics with β -tricalcium phosphate and platelet-enriched fibrin for fragmentary bone fractures in dogs. A control and two experimental groups of animals were formed, including patients ($n = 10$) with humerus and forearm fractures. After general and local anesthesia and extracortical osteosynthesis, the first experimental group was injected with platelet-rich autofibrin between bone fragments. The second group was osteosubstituted with a combination of PRF and hydroxyapatite ceramics; in the control group, the defects remained without replacement. For biochemical studies, blood samples were taken after injury no later than 24 hours and on the 3rd, seventh, 14th, 21st, and 42nd day after osteosynthesis. In the postoperative period, clinical and radiological studies were performed. The activity of bone isoenzyme alkaline phosphatase (BAP), tartrate-resistant acid phosphatase (TrAP), the level of total calcium (Ca), inorganic phosphorus (P), and total protein were determined in blood serum. It was found that complete recovery of limb function in the experimental groups was 1.2–1.4 times faster ($P < 0.001$) compared with the control group and radiologically confirmed earlier consolidation of fractures. In both experimental groups, the maximum activity of BAP was observed on the 14th day, in the absence of a significant difference between these groups, while in control – it peaked on the 21st day. In the case of bone injury, the level of TrAP decreased by 1.2 times ($P < 0.05$) and then gradually increased, which was significant in the control group on the 42nd day, in the first experimental group on the 21st, and the second on the 14th day. On the third day after osteosynthesis, the concentration of P was still lower in the control ($P < 0.05$) and the first experimental ($P < 0.01$) group compared with clinically healthy animals. The concentration of Ca on the third day was reduced in all groups by 1.2 times ($P < 0.001$) and then gradually returned to normal. The use of PRF with calcium-phosphate ceramics for osteosubstitution helps to optimize regeneration processes in the area of bone injury by activating osteoblastic cells and reducing the intensity of the osteoresorption reaction with an earlier reaction of bone regeneration remodeling.

Key words: osteosynthesis, osteoclasts, markers of bone metabolism, bone isoenzyme of alkaline phosphatase, tartrate-resistant acid phosphatase.

Клініко-рентгенологічне та патохімічне обґрунтування остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою з β -трикальційфосфатом та аутофібрином, збагаченим тромбоцитами, за осколкових переломів кісток у собак

С. М. Шевченко[✉], М. В. Рубленко

Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна

Біоактивна кераміка на основі гідроксиапатиту за рахунок подібності свого складу до кісткової тканини вважається найперспективнішою для остеозаміщення осколкових переломів, а за рахунок локального застосування як фармакологічних засобів, так і аутологічних біоактивних речовин, зокрема фібрину, збагаченого тромбоцитами (PRF), досягається остеоіндуктивність композитних матеріалів. Мета роботи – клініко-рентгенологічно і патохімічно обґрунтувати остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою з β -трикальційфосфатом і фібрином, збагаченим тромбоцитами, за осколкових переломів кісток у собак. Сформулювали контрольну та дві дослідні групи тварин, у кожну з яких входили пацієнти по ($n = 10$) з переломами плечових кісток і передпліччя. Після проведення загальної та місцевої анестезії та екстракортикального остеосинтезу в першій дослідній групі між кістковими уламками вносили аутофібрин, збагачений тромбоцитами, а у другій проводили остеозаміщення його комбінацією з гідроксиапатитною керамікою, у контрольній групі дефекти залишали незаповненими. Для біохімічних досліджень проби крові відбирали після травми не пізніше 24 годин та на 3-тю, 7-му, 14-ту, 21-шу і 42-ту добу після остеосинтезу. В післяопераційний період проводили клінічні та рентгенологічні дослідження. Визначали в сироватці крові активність кісткового ізоферменту лужної фосфатази (КЛФ), тартрат-резистентної кислої фосфатази (ТрКФ), рівень загального кальцію (Ca), неорганічного фосфору (P) і загального білка. Встановлено, що повне відновлення функції кінцівки в дослідних групах було швидшим в 1,2–1,4 рази ($P < 0,001$) порівняно з контрольною групою та рентгенологічно підтверджена більш рання консолидація переломів. В обох дослідних групах максимальна активність КЛФ спостерігалась на 14-ту добу за відсутності достовірної різниці між цими групами, водночас у контрольній – вона досягла піку на 21-шу добу. За кісткової травми рівень ТрКФ знижувався в 1,2 рази ($P < 0,05$), а далі поступово збільшувався, що достовірним виявилось в контрольній групі на 42-гу добу, в першій дослідній на 21-шу, а в другій на 14-ту добу. На 3-тю добу після остеосинтезу концентрація P була все ще нижчою у контрольній ($P < 0,05$) та першій дослідній ($P < 0,01$) групі порівняно з показниками клінічно здорових тварин. Концентрація Ca на 3-тю добу була в усіх групах зниженою в 1,2 рази ($P < 0,001$), а далі поступово поверталася до норми. Застосування PRF з кальцій-фосфатною керамікою для остеозаміщення сприяє оптимізації процесів регенерації в зоні кісткової травми за рахунок активації клітин остеобластичного ряду та зменшення інтенсивності остеорезорбційної реакції з більш ранньою реакцією ремоделювання кісткового регенерату.

Ключові слова: остеосинтез, остеокласти, маркери кісткового метаболізму, кістковий ізофермент лужної фосфатази, тартрат-резистентна кисла фосфатаза.

Вступ

Кісткова травма зумовлює комплексне порушення цілісності усього масиву тканин, включаючи поряд з кістками шкіру, м'язи, сухожилки, судини, та супроводжується порушенням живлення пошкодженої ділянки, розвитком ендотоксикозу, ризиком її інфікування (Vertenten et al., 2010; Winkler et al., 2018). Внаслідок порушення цілісності періосту, ендоосту та кісткового мозку відбувається крововилив, у результаті чого в місці перелому формується фібриновий згусток, що виконує роль біологічної матриці, яка, з одного боку, з'єднує краї кісткових уламків, а з другого – забезпечує процеси адгезії, міграції та проліферації остеобластичних клітин (Winkler et al., 2018; Atala et al., 2019; Snyder et al., 2020). Порушення кровообігу в травмованій ділянці призводить до зниження репаративного потенціалу тканин, а видалення гематоми під час проведення остеосинтезу і репозиції кісткових уламків лімітує роль первинної біологічної матриці в ініціації репаративного остеогенезу.

Серед загалу нозологічних форм окремо виділяють осколкові переломи, що зумовлюють певні біомеханічні ускладнення під час проведення остеосинтезу. Консолидація переломів такого типу досить складна і тривала (Semeniak et al., 2014). Для їх лікування використовують різні методи остеосинтезу, а також їхні комбінації для надійної фіксації кісткових уламків. При цьому нерідко видаляють нежиттєздатні осколки, що призводить до утворенням значних за об'ємом

дефектів кісткової тканини (Bahney et al., 2019; Yang & Xiao, 2020; Chemerovskiy et al., 2021). У таких випадках з метою оптимізації регенеративних процесів та відновлення остеорепаративного потенціалу проводять остеопластику в формі остеозаміщення.

Матеріали, які використовують для остеозаміщення, повинні володіти певним переліком властивостей, а саме: остеокондуктивними, остеointegraційними, остеоіндуктивними, остеогенними та бути біосумісними і нетоксичними (Croes et al., 2017; Cuervo et al., 2020). Біоактивна кераміка на основі гідроксиапатиту за рахунок подібності свого складу до кісткової тканини вважається найперспективнішою. Поряд з цим за консолидації переломів ключовою є остеоіндуктивність, яка досягається локальним застосуванням як фармакологічних засобів, так і аутологічних біоактивних речовин. До них належать кісткові морфогенетичні білки і фактори росту, що на різних етапах консолидації переломів здатні стимулювати остеогенез. Вони індукують диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин та міграцію остеобластів, утворених із клітин-попередників, в ушкоджену ділянку (Oryan et al., 2014; Davis et al., 2014; Badran et al., 2018).

Поєднання композитних матеріалів з речовинами, здатними до індукції та регуляції молекулярно-біологічних механізмів, зумовлене тим, що переважна більшість засобів для остеозаміщення володіють лише остеокондуктивними властивостями (Li, 2018). При цьому поєднане застосування кальцій-фосфатної ке-

рамки разом з фібрином, збагаченим тромбоцитами, залишається недостатньо обґрунтованим у собак, чому присвячені лише поодинокі спостереження (Rabillard et al, 2009; Zhou et al, 2017; Aghamohammadi Ameghani et al, 2021).

Попередньо нами (Shevchenko, 2020; Shevchenko & Rublenko, 2020; Shevchenko et al, 2021) було вивчено вплив різних форм фібрину, збагаченого тромбоцитами, та їх комбінації з гідроксиапатитом і β -трикальційфосфатом на репаративний остеогенез за модельного остеозаміщення у кролів і встановлено таку закономірність: $i\text{-PRF} < \text{PRF} < \text{PRF} + \text{ГТ}$ (гідроксиапатит з β -трикальційфосфатом). PRF (Platelet-Rich Fibrin) – фібрин, збагачений тромбоцитами, значно підвищував остеointegraційні характеристики кальцій-фосфатних імплантів та надавав їм остеоіндуктивних і остеогенних властивостей, що проявлялося ранньою реакцією остеобластів з достатньою щільністю остеокитів і підтверджувалося патохімічно меншим рівнем гострофазної реакції та гостро-запальної остеорезорбції.

Мета роботи – клініко-рентгенологічно і патохімічно обґрунтувати остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою з β -трикальційфосфатом і фібрином, збагаченим тромбоцитами, за осколкових переломів кісток у собак.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено відповідно до принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей, а також відповідно до Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження” від 28.03.2006 р № 27, ст. 230, наказу МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. “Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах” та схвалене Етичним комітетом Білоцерківського НАУ (висновок № 2 від 31.05.18 р., протокол № 1).

У дослідження включали собак ($n = 30$) із осколковими переломами кісток передпліччя та плечової, які надходили протягом 2019–2021 років у клініку дрібних домашніх тварин факультету ветеринарної медицини Білоцерківського НАУ.

Було сформовано контрольну ($n = 10$) та дві дослідні по 10 гол. групи тварин, у кожну з яких входили пацієнти з переломами як плечових, так і кісток передпліччя. Критеріями відбору тварин в групи були: термін отримання кісткової травми не більше двох діб, локалізація кісткової травми у ділянці діафіза, осколковий тип перелому з наявністю м'язової ніжки чи кісткового дефекту в разі втрати зв'язку з м'якими тканинами. В першій дослідній групі об'єм дефекту становив $1,3 \text{ см}^3$, а у другій – $2,01 \text{ см}^3$.

Наявність перелому встановлювали за клінічними ознаками та рентгенологічно на рентгенапараті РУМ-20 відповідно до уніфікованих для кісток собак параметрів напруги і експозиції рентгенівських променів. Одержані рентгензнімки до остеосинтезу та на 21 і 42 добу відцифровували на електронний носій (AGFA. Healthcare N. V. CR 10-X, Німеччина).

Анестезіологічне забезпечення за остеосинтезу включало внутрішньом'язове введення медетомідину (20 мкг/кг , медісон, Бровафарма), буторфанолу таратрат ($0,1 \text{ мг/кг}$), бутолар зоо), для підтримання анестезії внутрішньовенно тіопентал натрію (7 мг/кг , тіопентат, Бровафарма). Місцево проводили інфільтраційну анестезію $0,5\%$ розчином лідокаїну (3 мг/кг).

Оперативний доступ до ділянки перелому виконували на латеральній поверхні плечової кістки та дорсо-латеральній у ділянці передпліччя. В разі необхідності нежиттєздатні осколки видаляли. У контрольній і дослідних групах виконували екстракортикальний остеосинтез пластиною із нелегованого титанового сплаву фірми НП ООО “Імед”, (Україна). Додатково в першій дослідній групі між кістковими уламками вносили аутофібрин, збагачений тромбоцитами, а у другій проводили остеозаміщення його комбінацією з гідроксиапатитною керамікою, синтезованою в Інституті матеріалознавства ім. І. М. Францевича (м. Київ), у складі 70% гідроксиапатиту та 30% β -трикальційфосфату з розміром гранул $\approx 700 \text{ мкм}$ і адсорбційною активністю $118\text{--}120 \text{ мг/г}$. В операційну рану встановлювали дренаж із поліпропіленової трубки, а її ушивали вузловим швом. Дренаж знімали на 2–3 добу після припинення виділення серозного ексудату. Протягом 7 днів після оперативного втручання тваринам призначали курс антибіотикотерапії (цефтріаксон 20 мг/кг двічі на добу протягом 7 діб).

Приготування аутологічного фібрину, збагаченого тромбоцитами, проводили шляхом відбору в стерильну пробірку без антикоагулянту 5 мл крові з підшкірної вени передпліччя здорової кінцівки, яку відразу центрифугували при 3000 об/хв протягом 10 хв . Одержували сформований згусток і його стерильними ножицями у середній частині відрізували від еритроцитарної маси. На підставі власних результатів гістоморфологічних досліджень (Shevchenko & Rublenko, 2020) використовували нижню частину згустку. В другій дослідній групі спочатку в місце дефекту вносили гранули гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом, а поверх них згусток фібрину, збагачений тромбоцитами.

В післяопераційний період клінічні дослідження проводили за критеріями наявності та інтенсивності набряку тканин, термінів початку опирання на травмовану кінцівку, повного відновлення її функції та рентгенологічно підтвердженої консолідації перелому.

Проби крові для біохімічних досліджень відбирали після травми не пізніше 24 годин та на 3, 7, 14, 21 і 42 добу після остеосинтезу.

Додатково сформували групу клінічно здорових собак, що надходили в клініку дрібних домашніх тварин Білоцерківського НАУ для проведення планової вакцинації ($n = 10$). У них за згодою власників відбирали зразки крові, оскільки для низки досліджуваних біохімічних показників відсутні референтні значення.

Активність кісткового ізоферменту лужної фосфатази (КЛФ) визначали у сироватці крові за (Vagner et al., 1981). Принцип методу полягає у розщепленні 4-

фенілфосфату з утворенням 4-нітрофенолу та ортофосфату.

Рівень активності тартрат-резистентної кислої фосфатази (ТрКФ) у сироватці крові визначали наборами реактивів ТОВ “Лабораторія Гранум” (Україна). Принцип методу полягає у розщепленні альфанафтилфосфату на альфа-нафтол + фосфат з використанням як специфічного агента для кісткового ізоферменту кислої фосфатази тартрату.

Рівень загального кальцію (Са), неорганічного фосфору (Р) і загального білка – наборами “Філісіт-Діагностика” (Україна).

Статистичну обробку даних проводили з використанням MS Excel загальноприйнятими методами варіаційної статистики з вирахуванням середнього арифметичного значення та стандартної похибки середнього значення ($M \pm m$). Достовірними вважали відмінності між групами $P < 0,05$.

Результати досліджень

Клініко-рентгенологічне дослідження. Через 7–10 діб після остеосинтезу краї ран були з’єднані сполучно-тканиною спайкою у стані епітелізації, що свідчило про необхідність зняття швів.

Початок опирання на кінцівку у дослідних групах реєстрували з 9–11-ї, а в контрольній – після 11–15 діб (табл. 1). Повне відновлення функції кінцівки в дослідних групах було швидшим в 1,2–1,4 раза ($P < 0,001$) порівняно з контрольною групою. Також у цих групах рентгенологічно було встановлено більш ранню консолідацію переломів у 1,3 та 1,5 раза відповідно.

Між групами також було виявлено деякі відмінності, а саме: у другій дослідній групі достовірно підтверджений ранній початок опирання на травмовану кінцівку, відновлення її функції та консолідація перелому з достовірністю ($P < 0,01$) порівняно з першою дослідною групою.

Таблиця 1

Клінічні критерії динаміки консолідації переломів довгих трубчастих кісток у собак

Клінічні критерії	Контрольна група (n = 10), доба	Перша дослідна група (n = 10), доба	Друга дослідна група (n = 10), доба
зникнення набряку тканин	7,5 ± 0,5 (5–10)	6,2 ± 0,33* (5–8)	6,3 ± 0,23* (5–7)
початок опирання на травмовану кінцівку	12,8 ± 0,51 (11–15)	11,2 ± 0,39* (10–13)	9,6 ± 0,27**** (9–11)
повне відновлення функції кінцівки	36,6 ± 1,33 (28–42)	29,4 ± 0,83*** (26–35)	25,9 ± 0,7**** (22–29)
консолідація перелому	63,0 ± 0,89 (60–67)	48,0 ± 1,1*** (45–52)	42,8 ± 0,95**** (40–48)

Примітки: 1) контрольна група, остеосинтез без остеозаміщення; перша дослідна група, остеосинтез із остеозаміщенням кісткових дефектів фібрином, збагаченим тромбоцитами; друга дослідна група, остеосинтез із остеозаміщенням кісткових дефектів фібрином, збагаченим тромбоцитами та гранулами гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом; 2) значення Р: * – $< 0,05$; ** – $< 0,01$; *** – $< 0,001$ порівняно з контрольною групою; 3) значення р: ● – $< 0,05$; ●● – $< 0,01$; ●●● – $< 0,001$ порівняно з тваринами першої дослідної групи

Після встановлення пластин рентгенологічне дослідження засвідчило репозицію уламків плечових, променевих та ліктьових кісток, тобто їх проксимальних і дистальних відділів як у контрольній, так і в дослідних групах. У другій дослідній групі ледь візуалізувалися гранули гідроксиапатиту із β трикальційфосфатом у ділянці кісткового дефекту.

На 21 добу (рис. 1) у тварин контрольної групи рентгенологічно чітко візуалізується місце дефекту кісток передпліччя. Проксимально та дистально від нього виявляли збільшення інтенсивності пері- та ендостанної реакції та ділянки з підвищеною рентгенологічною щільністю. Зниження рентгеніальності і явища остеорезорбції були виявлені за остеосинтезу плечових кісток (рис. 2).

У першій дослідній групі спостерігали на кістках передпліччя помірну періостальну реакцію, місце дефекту ще візуалізувалося. На плечових кістках у цей період регенерат був неоднорідним з ділянками

різної рентгеноіальності. Місце дефекту було ледь помітним, хмароподібна тінь виступала над поверхнею кістки у місці дефекту.

Водночас у тварин другої дослідної групи на 21 добу виявляли у ділянці передпліччя потужну реакцію ендостанної та періостальної, остання поширювалася майже на всю довжину як променевих, так і ліктьових кісток місце дефекту не візуалізувалось. На плечових кістках посилення рентгенологічної щільності проксимальніше і дистальніше від місця дефекту, що ще чітко проглядалося, більшою мірою за рахунок ендостальної реакції.

На 42 добу в тварин контрольної групи у кістках передпліччя все ще чітко візуалізувалося місце дефекту, в зоні кістково-мозкового каналу відмічали ділянки однорідної підвищеної рентгеноіальності навколо дефекту. Періостальна реакція мала вигляд неоднорідного хмароподібного утворення, яке виступало над поверхнею ділянки кісткової травми.

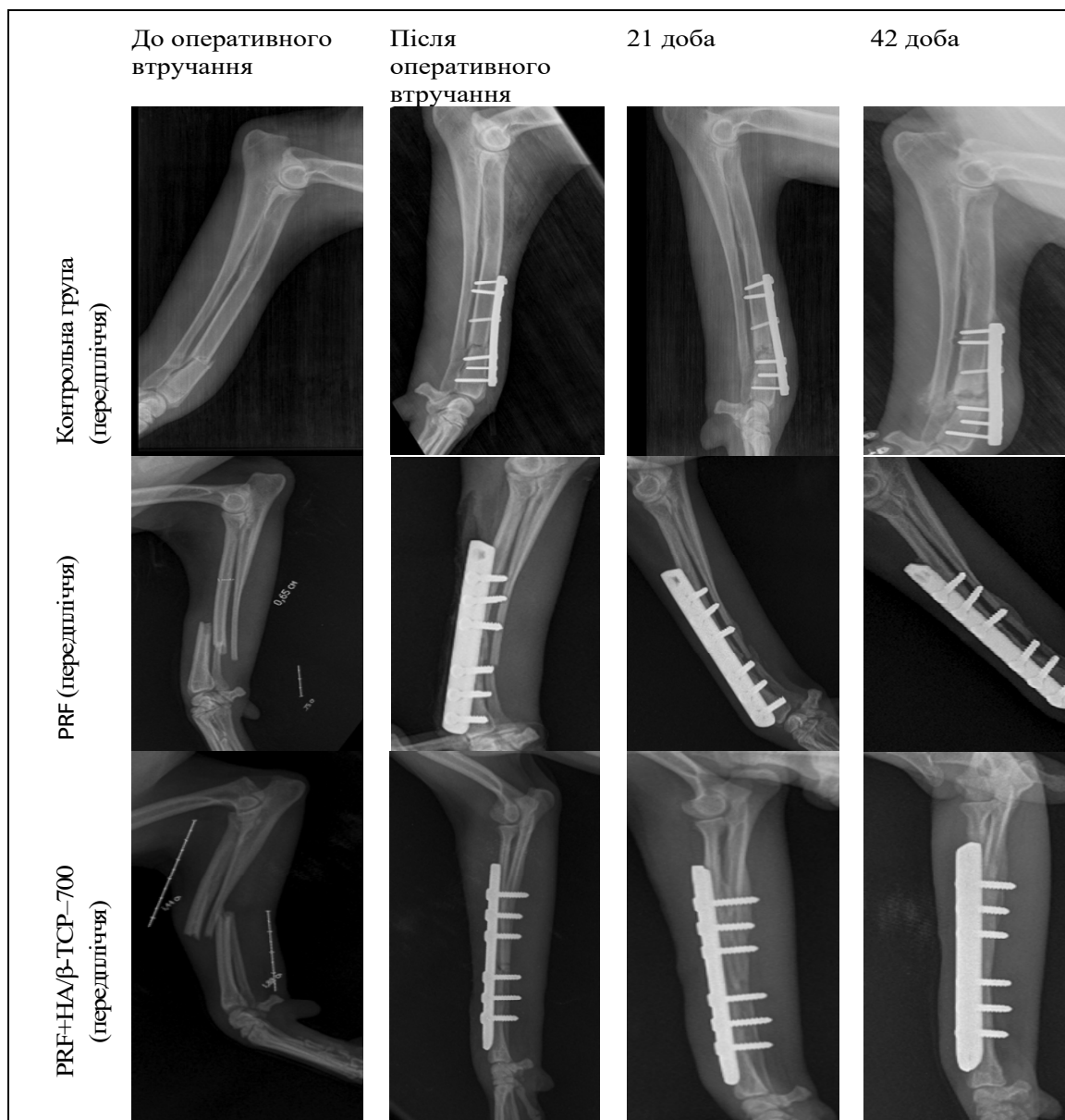


Рис. 1. Рентгенограми кісток передпліччя собак контрольної та дослідних груп

У плечових кістках виявляли потоншення коркового шару кістки та зменшення її рентгенощільності, місце дефекту чітко видиме, консолидація не відбулася.

У відповідний період у першій дослідній групі на кістках передпліччя не візуалізувалося місце дефекту. Воно було виповнене кістковим регенератом високої щільності, проксимально від місця кісткової травми виявляли реакцію періосту.

У плечових кістках першої дослідної групи на 42-гу добу відбулася консолидація, ділянка кістково-мозкового каналу в місті дефекту мала дещо підвищену рентгенощільність та помірну періостальну реакцію дистальніше від місця кісткового дефекту.

У другій дослідній групі в ділянці передпліччя теж відбулася консолидація перелому. Від місця кісткової

травми проксимально виявляли зону періостальної реакції, проте місце дефекту мало однорідну рентгенощільність. За дослідження плечових кісток у собак другої дослідної групи місце дефекту було виповнене кістковим регенератом. Незначно візуалізувалися гранули композитного матеріалу, що входили до його складу і надавали йому неоднорідності. Дистально від місця дефекту виявляли зону періостальної реакції, що свідчило про перебіг репаративного остеогенезу переважно у межах кісткової травми.

Отже, за результатами рентгенологічного дослідження, за відсутності заміщення кісткових дефектів виникає подовження термінів консолидації переломів та посилення проліферації пері- та ендоосту як компенсуючого процесу.



Рис. 2. Рентгенограми плечових кісток собак різних груп до та після остеосинтезу

Біохімічні дослідження. Встановлено динамічні зміни маркерів кісткового метаболізму впродовж стадій репаративного остеогенезу, так, активність кісткового ізоферменту лужної фосфатази (КЛФ), яка відображає активність остеобластів, на 3 добу після остеосинтезу в усіх групах збільшувалася в 1,4 раза ($P < 0,001$) порівняно з показниками у клінічно здорових собак. У наступні терміни, хоча і в усіх групах спостерігалася загальна закономірність динаміки активності цього остеогенного фермента, проте виявилися певні якісні та часові відмінності.

Так, в обох дослідних групах після застосування фібрину, збагаченого тромбоцитами як самостійно, так і у комбінації з кальцій-фосфатною керамікою максимальна активність КЛФ спостерігалась на 14 добу, за відсутності достовірної різниці між цими групами. Водночас у контрольній групі вона досягла піку на 21 добу.

При цьому вона виявилася вищою за показники контрольної групи. В першій дослідній групі на

14 добу в 1,1 раза ($P < 0,05$), а у другій на 7 та 14 добу – в 1,1 ($P < 0,05$) та 1,2 раза ($P < 0,001$), тобто в 2-й дослідній прослідковувалася тенденція до більшої активності КЛФ.

Загалом у дослідних групах відповідно до динаміки КЛФ остеогенез виявився більш раннім.

Досить показовою виявилася динаміка активності остеорезорбтивної тартрат-резистентної кислоти фосфатази. Спочатку за кісткової травми її рівень знижувався в 1,2 раза ($P < 0,05$). Після остеосинтезу та остеозаміщення він поступово збільшувався, що проте достовірним виявилось в контрольній групі на 42 добу, в першій дослідній на 21, а в другій на 14 добу.

З одного боку, це свідчить про більш ранні процеси запальної остеорезорбції в дослідних групах, без яких неможливі остеогенні, та репаративного ремоделювання кісткових регенератів. З іншого, це відображає в другій дослідній групі остеоінтеграційні процеси кальцій-фосфатної кераміки.

Динаміка вмісту загального білка виявилася без достовірних змін у всіх групах.

Зміни вмісту в сироватці крові макроелементів за репаративного остеогенезу відбувалися в межах фізіологічної норми: для Са – 2,3–3,0 ммоль/л, для Р – 1,3–1,9 ммоль/л. Хоча після травми рівень фосфору виявився зменшеним в 1,1 раза ($P < 0,01$). Далі на 3-тю добу після остеосинтезу його концентрація була все ще нижчою у контрольній ($P < 0,05$) та першій

дослідній ($P < 0,01$) групі порівняно з показниками клінічно здорових тварин, проте достовірності різниці між групами не встановлено.

Концентрація кальцію на 3-тю добу після оперативного втручання була в усіх групах зниженою в 1,2 раза ($P < 0,001$), а далі поступово поверталася до норми і в другій дослідній групі у період з 21-ї до 42-ї доби в 1,1 раза ($P < 0,01$) виявилася вищою за показники клінічно здорових тварин.

Таблиця 2

Динаміка біохімічних показників у собак

Показники	Групи	Клінічно здорові (n = 10)	Після травми (n = 30)	3 доба	7 доба	14 доба	21 доба	42 доба		
КЛФ, Од/л	I	20,8 ± 1,24	23,08 ± 0,73	29,38 ± 1,32***	31,5 ± 1,22***	33,25 ± 0,996***	38,0 ± 0,86***	30,6 ± 0,51***		
				28,33 ± 1,02***	33,5 ± 0,89***	37,0 ± 0,91***	32,0 ± 0,71***	25,89 ± 1,14***		
	II			28,25 ± 1,38***	36,0 ± 1,29***	38,5 ± 0,65***	31,8 ± 0,58***	23,25 ± 1,32**		
				III						
	I				24,2 ± 1,26	20,78 ± 0,71•	21,41 ± 0,62	23,8 ± 0,60	22,6 ± 0,62	25,51 ± 0,89
				23,28 ± 1,09			22,8 ± 0,70	23,65 ± 0,68	27,98 ± 0,59**	31,64 ± 0,67***
II	22,98 ± 0,51	21,9 ± 0,88	27,25 ± 1,09**	30,65 ± 0,92***			29,9 ± 0,52***			
	III									
I		70,24 ± 2,21	68,41 ± 0,73	65,98 ± 1,55			70,04 ± 1,11	70,73 ± 0,97	69,78 ± 0,86	71,26 ± 1,68
	68,13 ± 1,28			69,57 ± 0,83			70,64 ± 0,59	70,5 ± 1,82	70,78 ± 1,56	
II	66,7 ± 1,05			69,93 ± 0,45	69,9 ± 1,33	70,92 ± 0,84	73,03 ± 0,93			
	III									
I				2,46 ± 0,02	2,37 ± 0,05	2,05 ± 0,04***	2,23 ± 0,04***	2,33 ± 0,02***	2,21 ± 0,03***	2,43 ± 0,02
	2,08 ± 0,03***					2,29 ± 0,04**	2,38 ± 0,05	2,32 ± 0,08	2,49 ± 0,03	
II	2,13 ± 0,07***	2,30 ± 0,04**	2,53 ± 0,04***			2,60 ± 0,04***	2,60 ± 0,04***			
	III									
I		1,41 ± 0,03	1,3 ± 0,02**			1,31 ± 0,03•	1,39 ± 0,03	1,36 ± 0,02	1,41 ± 0,03	1,42 ± 0,03
	1,3 ± 0,02**					1,39 ± 0,03	1,41 ± 0,04	1,45 ± 0,04	1,43 ± 0,03	
II	1,33 ± 0,03			1,42 ± 0,03	1,36 ± 0,03	1,41 ± 0,03	1,42 ± 0,04			
	III									

Примітки: 1) I – контрольна, II – перша дослідна, III – друга дослідна групи; 2) значення Р: * < 0,05; ** < 0,01; *** < 0,001 порівняно з показниками контрольної групи; 3) значення Р: • < 0,05; ** < 0,01; *** < 0,001 порівняно з клінічно здоровими тваринами

Це, найімовірніше, вказує про інтенсивний перерозподіл кальцію в межах кісткової тканини у період мінералізації кісткового регенерату та частково є відображенням остеointegraції та остеорезорбції кальцій-фосфатної кераміки.

За використання фібрину, збагаченого тромбоцитами, та гідроксиапатитної кераміки його рівень був із 14-ї і до 42-ї доби достовірно вищим у 1,1–1,2 раза ($P < 0,01–0,001$) порівняно з контрольною групою.

Отже, за клініко-рентгенологічними критеріями консолідації переломів і динамікою маркерів кісткового метаболізму остеозаміщення гідроксиапатитом з β-трикальційфосфатом та аутофібрином, збагаченим тромбоцитами, чи локальне використання тромбоци-

тарного аутофібрину має патогенетичні підстави для широкого застосування в травматології тварин-компаньйонів.

Обговорення

Консолідація осколкових переломів відбувається за вторинним типом. При цьому нерідко стадії репаративного остеогенезу подовжуються внаслідок втрати репаративного потенціалу за порушень ендостального чи періостального живлення кісткової тканини. Остеозаміщення, як один із методів оптимізації лікування осколкових переломів, вимагає певних характеристик або властивостей для матеріалів, якими

заповнюють кісткові дефекти. Композити чи кераміка виконують функцію матриці, тобто володіють остеокондуктивними властивостями (Wang et al., 2017). Фібрин, збагачений тромбоцитами, (PRF) як елемент регенеративної PRP-терапії, здатний до поступового виділення факторів росту із альфа-гранул та забезпечення адгезивних процесів, що сприяють міграції остеогенних клітин (Ho-Shui-Ling et al., 2018).

Під час репаративної регенерації кісткової тканини відбуваються процеси її синтезу та резорбції, які забезпечують відповідні клітини остеобласти та остеокласти. Перша стадія репаративного остеогенезу, як було встановлено попередніми дослідженнями, супроводжується надмірною запальною реакцією та підвищенням концентрацій білків гострої фази, що негативно впливає на процеси регенерації і подовжує консолідацію переломів. За даними (Rublenko et al., 2020), заміщення кісткових дефектів керамікою на основі гідроксиапатиту і β -трикальційфосфату, легуваної кремнієм, репаративний остеогенез прискорюється в 1,5 раза за рахунок ранньої мінералізації кісткового регенерату і скорочення його запально-резорбтивної стадії.

Також встановлено (Rublenko et al., 2014; Rublenko et al., 2015), що кальцій-фосфатна кераміка може забезпечити остеокондуктивний ефект та сприяти скороченню запально-резорбтивної фази. Для поліпшення властивостей та надання оптимальних характеристик композитним матеріалам проводяться дослідження щодо їх поєднання з низкою біологічних матеріалів, таких як стовбурові клітини, кісткові морфогенетичні білки, фактори росту, що містяться в гранулах тромбоцитів аутологічних матеріалів, виготовлених з власної крові пацієнта (Metineren et al., 2016; Croes et al., 2017; Dmitrijev & Khomyn, 2018). Проте за недостатньої апробації у ветеринарній ортопедії таких матеріалів їх використання доволі обмежене. При цьому за результатами клініко-рентгенологічних досліджень виникає більш динамічний перебіг консолідації переломів. За результатами власних попередніх досліджень (Shevchenko & Rublenko, 2020), застосування PRF та його комбінація з кальцій-фосфатними матеріалами сприяє скороченню запально-резорбтивної стадії. Також ці дослідження свідчать про те, що використання PRF та гранул гідроксиапатиту і β -трикальційфосфату не викликають негативних реакцій в організмі пацієнтів.

Обґрунтування ефективності впливу на метаболізм кісткової тканини вищезазначених матеріалів для оптимізації загоєння переломів у собак проводять шляхом визначення низки біохімічних маркерів, таких як кістковий ізофермент лужної фосфатази і тарtrat-резистентна кислота фосфатаза. При цьому оцінку вмісту макроелементів під час консолідації переломів також використовують для моніторингу регенерації кісткової тканини. Проте інформативність концентрації кальцію і фосфору в сироватці крові має доволі дискусійний характер (Rublenko et al., 2014).

Динаміка змін у дослідних групах кісткового ізоферменту лужної фосфатази – одного із тканинних специфічних ізоферментів, що виробляється остеобlastами, може свідчити про більш динамічний перебіг

остеорепаративних процесів (Sousa et al., 2011). Клітини остеокластичного ряду виробляють тарtrat-резистентну кислоту фосфатазу. Кисневі з'єднання, які вона генерує, руйнують компоненти кісткового матриксу і її рівень в сироватці крові є відображенням процесів остеорезорбції. Зменшення активності тарtrat-резистентної кислоти фосфатази у ранній період зумовлений зниженням функції остеокластів під час гострозапального процесу, а вища активність у дослідних групах на 21 добу свідчить про більш ранній початок перебудови кісткового мозоля та відповідно більш швидкий перебіг остеорепарації.

Висновки

1. За результатами клініко-рентгенологічного дослідження застосування PRF чи у складі композиту із гідроксиапатитом і β -трикальційфосфатом за переломів плечових кісток та передпліччя прискорює консолідацію переломів і сприяє меншій інтенсивності її запально-резорбтивної стадії.

2. Застосування PRF з кальцій-фосфатною керамікою для остеозаміщення сприяє оптимізації процесів регенерації в зоні кісткової травми за рахунок активації клітин остеобластичного ряду та зменшення інтенсивності остеорезорбтивної реакції з більш ранньою реакцією ремоделювання кісткового регенерату.

Відомості про конфлікт інтересів

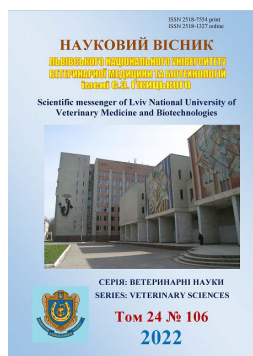
Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Aghamohammadi Ameghani, B., Tavakoli, A., Hasani Tabatabaei, M., & Valizadeh, S. (2021). Effects of mineral trioxide aggregate and platelet-rich fibrin on histological results of direct pulp capping in dogs. *Giornale Italiano Di Endodonzia*, 35(1), 13–22. DOI: 10.32067/GIE.2021.35.01.01.
- Atala, A., Lanza, R., Mikos, A. G., & Nerem, R. (2019). *Principles of Regenerative Medicine*, 3 edn, Academic Press. URL: <https://www.sciencedirect.com/book/9780128098806/principles-of-regenerative-medicine>.
- Badran, Z., Abdallah, M. N., Torres, J., Tamimi, F. (2018). Platelet concentrates for bone regeneration: Current evidence and future challenges. *Platelets*, 29(2), 105–112. DOI: 10.1080/09537104.2017.1327656.
- Bahney, C. S., Zondervan, R. L., Allison, P., Theologis, A., Ashley, J. W., Ahn, J., Miclau, T., Marcucio, R. S., & Hankenson, K. D. (2019). Cellular biology of fracture healing. *Journal of Orthopaedic Research*, 37, 35–50. DOI: 10.1002/jor.24170.
- Chemerovskiy, V. O., Rublenko, M. V., Rublenko, S. V., Ulanichych, N. V., Firstov, S. O., & Kolomiiets, V. V. (2021). Effect of implants of hydroxyapatite with tricalcium phosphates alloyed with Si on histomorphological and biochemical parameters in cases of bone defects of rabbits. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(2), 281–288. DOI: 10.15421/022137.
- Croes, M., Boot, W., Kruyt, M. C., et al. (2017). Inflammation-Induced Osteogenesis in a Rabbit Tibia Mod-

- el. Tissue engineering, 23(11), 73–685. DOI: 10.1089/ten.tec.2017.0151.
- Cuervo, B., Rubio, M., Chicharro, D., Damiá, E., et al. (2020). Objective Comparison between Platelet Rich Plasma Alone and in Combination with Physical Therapy in Dogs with Osteoarthritis Caused by Hip Dysplasia. *Animals (Basel)*, 10(2), 175. DOI: 10.3390/ani10020175.
- Davis, V., Abukabda, A., Radio, N., Witt-Enderby, P., Clafshenkel, W., Cairone, J., & Rutkowski, J. (2014). Platelet-Rich Preparations to Improve Healing. Part II: Platelet Activation and Enrichment, Leukocyte Inclusion, and Other Selection Criteria. *Journal of Oral Implantology*, 40(4), 511–521. DOI: 10.1563/AAID-JOID-12-00106.
- Dmitrijev, V. S., & Khomyn, N. M. (2018). Application of means of stimulation of regenerative osteogenesis for complex treatment of dogs with fractures of the limb bones. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 20(92), 156–160. DOI: 10.32718/nvlvet9232.
- Ho-Shui-Ling, A., Bolander, J., Rustom, L. E. et al. (2018). Bone regeneration strategies: engineered scaffolds, bioactive molecules and stem cells Current stage and future perspectives. *Biomaterials*, 180, 143–162. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.07.017.
- Li, Z., Müller, R., & Ruffoni, D. (2018). Bone remodeling and mechanobiology around implants: Insights from small animal imaging. *Journal of Orthopaedic Research*, 36(2), 584–593. DOI: 10.1002/jor.23758.
- Metineren, H., Dülgeroğlu, T.C., Metineren, M. H., Aydin, E., & Kocak, C. (2016). Effectiveness of platelet-rich fibrin on tendon healing: experimental study in a rat model. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 9(7), 14260–14265. URL: <https://e-century.us/files/ijcem/9/7/ijcem0024817.pdf>.
- Oryan, A., Alidadi, S., Moshiri, A., & Bigham-Sadegh, A. (2014). Bone morphogenetic proteins: A powerful osteoinductive compound with non-negligible side effects and limitations. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 40(5), 459–481. DOI: 10.1002/biof.1177.
- Rabillard, M., Grand, J. G., Dalibert, E., Fellah, B., Gauthier, O., & Niebauer, G. W. (2009). Effects of autologous platelet rich plasma gel and calcium phosphate biomaterials on bone healing in an ulnar osteotomy model in dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 22(6), 460–466. DOI: 10.3415/VCOT-09-04-0048.
- Rublenko, M. V., Chemerovskiy, V. A., Andriets, V. G., Ulyanchich, N. V., Kolomiets, V. V., & Koryak, A. S. (2020). Otsinka vykorystannia hidroksyapatytovoi keramiky, lehovanoi kremniem, dlia likuvannia frahmentovanykh perelomiv kistok u sobak [Evaluation of usage of silicon-doped hydroxyapatite ceramics for treatment of fragmented bone fractures in dogs]. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 22(99), 29–37. DOI: 10.32718/nvlvet9905 (in Ukrainian).
- Rublenko, M. V., Dudka, V. B., & Semenjak, S. A. (2015). Morfo-rentgenologichna i biokhimichna harak-
terystyky reparatyvnogo osteogenezu za zamyshhennja kistkovykh defektiv biominom-GT u tvaryn [Morpho-radiological and biochemical characteristics of reparative osteogenesis with replacement of bone defects by biomine-GT in animals]. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medycyny*, 99(1), 98–106 (in Ukrainian).
- Rublenko, M. V., Semenjak, S. A., & Ulyanchich, N. V. (2014). Dinamika biomarkeriv reparativnogo osteogenezu za umov zamishhennja kistkovykh defektiv [Dynamics of biomarkers of reparative osteogenesis for conditions of replacement of bone defects]. *Naukovij visnik LNUVMBT imeni S. Z. Gzhickogo*, 16(3), 287–294 (in Ukrainian).
- Semeniak, S. A., Rublenko, S. V., & Danyleiko, Y. M. (2014). Struktura perelomiv kistok u sobak v umovakh mehapolisu [The structure of fractures in dogs in the minds of the metropolis]. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medycyny*, 13(108), 218–224 (in Ukrainian).
- Shevchenko, S. M. (2020). Dynamics of hematological indications, macromorphological and radiological picture of reparative osteogenesis in rabbits for platelet concentrates and hydroxyapatite ceramics. *Scientific Journal of Veterinary Medicine*, 1, 153–164.
- Shevchenko, S. M., & Rublenko, M. V. (2020). Gistologichna charakteristika zgustkiv fibrinu, zbagachenih trombocitami i oderzhanih za riznih rezhimiv centrifuguvannja krovi [Histological characteristics of Platelet-Rich Fibrin clots obtained under various modes of blood centrifugation]. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 22(99), 84–93. DOI: 10.32718/nvlvet9914 (in Ukrainian).
- Shevchenko, S. M., Rublenko, M. V., Ulyanchich, N. V., & Klymenko, P. P. (2021). Gistomorfologichna charakteristika osteozamishhennja u kroliv gidroksiapatitnoju keramikoju ta fibrinom, zbagachenim trombocitami [Histomorphological characteristics of bone replacement in rabbits with hydroxyapatite ceramics and Platelet-Rich Fibrin]. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 23(102), 43–52. DOI: 10.32718/nvlvet10207.
- Snyder, R. J., Schultz, G., Wachuku, C., Rashid, A. M., & Ead, J. K. K. (2020). Proposed Mechanism of Action of Topically Applied Autologous Blood Clot Tissue: A Quintessential Cellular and Tissue Based Therapy. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 13, 20–140. DOI: 10.7547/20-140.
- Sousa, C., Abreu, H., Viegas, C., Azevedo, J., Reis, R., Gomes, M., & Dias, I. (2011). Serum total and bone alkaline phosphatase and tartrate-resistant acid phosphatase activities for the assessment of bone fracture healing in dogs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63(4), 1007–1011. DOI: 10.1590/S0102-09352011000400029.
- Vagner, V. K., Putilin, V. M., & Harabuga, G. G. (1981) Metody i rezul'taty issledovaniya izofermentov (kishechnoj i pechenочноj frakcij) syvorotochnoj shchelочноj fosfatazy pri ostrыh hirurgicheskikh zabolevaniyah organov bryushnoj polosti [The research methods and results (intestinal and hepatic

- fractions) of serum alkaline phosphatase in case of acute surgical diseases of the abdominal organs]. *Voprosy medicinskoj himii*, 27(6), 752–755 (in Russian).
- Vertenten, G., Gasthuys, F., Cornelissen, M., Schacht, E., & Vlaminc, L. (2010) Enhancing bone healing and regeneration: present and future perspectives in veterinary orthopaedics. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 23(3), 153–162. DOI: 10.3415/VCOT-09-03-0038.
- Wang, W., & Yeung, K. W. K. (2017). Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioactive Materials*, 2(4), 224–247. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2017.05.007.
- Winkler, T., Sass, F. A., Duda, G. N., & Schmidt-Bleek, K. (2018). A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering: The unsolved challenge. *Bone Joint Res*, 7, 232–243. DOI: 10.1302/2046-3758.73.BJR-2017-0270.R1.
- Yang, Y., & Xiao, Y. (2020). Biomaterials Regulating Bone Hematoma for Osteogenesis. *Adv. Healthcare Mater*, 9(23), 2000726. DOI: 10.1002/adhm.202000726.
- Yeroshenko, O. V. (2012). Reaktsiia bilykh hostroi fazy u sobak z perelomamy kistok peredplichchia [Reaction of acute phase proteins in dogs with fractures of the forearm bones]. *Biologicheskii tvaryn*, 14, 1–2 (in Ukrainian).
- Zhou, R., Wang, Y., Chen, Y., Chen, S. et al. (2017). Radiographic, Histologic, and Biomechanical Evaluation of Combined Application of Platelet-rich Fibrin with Blood Clot in Regenerative Endodontics. *Journal of Endodontics*, 43(12), 2034–2040. DOI: 10.1016/j.joen.2017.07.021.



**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/nvlvet10615
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.98:578.831/.832:598.2(477.7)

Epidemiological situation of Avian Influenza in Ukraine during 2020–2021

M. I. Sushko¹, S. S. Mandyhra¹✉, O. M. Chechet¹, M. A. Sapachova¹, O. S. Haidei¹, O. M. Movchun¹,
A. O. Skorokhod¹, O. V. Posna¹, Y. M. Zarytska¹, B. V. Gutyj², O. V. Krushelnyska²

¹State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

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

Article info

Received 11.04.2022

Received in revised form

12.05.2022

Accepted 13.05.2022

Postal Address: State Scientific and
Research Institute of Laboratory
Diagnostics and Veterinary and
Sanitary Expertise, Donetska str,
30, Kyiv, 03151, Ukraine.
Tel.: +38-098-293-99-66
E-mail: mandygra@ukr.net

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

**Sushko, M. I., Mandyhra, S. S., Chechet, O. M. Sapachova, M. A., Haidei, O. S., Movchun, O. M.,
Skorokhod, A. O., Posna, O. V., Zarytska, Y. M., Gutyj, B. V., & Krushelnyska, O. V. (2022).
Epidemiological situation of Avian Influenza in Ukraine during 2020–2021. Scientific Messenger of
Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences,
24(106), 97–102. doi: 10.32718/nvlvet10615**

Avian influenza viruses (AIVs) are spread globally by wild migratory birds that are reservoirs of AIVs. Epidemics of highly pathogenic avian influenza (HPAI) can devastate the poultry industry and result in severe trade restrictions. Many routes of wild migratory birds pass through the territory of Ukraine, therefore studying the circulation of the viruses is important for the prevention of AIV spreading. The aim of the investigation was to summarize and analyze results of AI tests carried out by state laboratories during 2020–2021. The tests were conducted in the framework of state control of AI aimed to early detection and prevention of HPAI virus spreading on the territory of Ukraine. 27 354 samples of biological material from wild and domestic birds (11 115 samples – in 2020 and 16 239 – in 2021) were tested by PCR in State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise and regional state laboratories. For PCR testing commercial kits and reagents were used: IndiSpin Pathogen Kit (INDICAL BIOSCIENCE), VetMAX™-Gold AIV Detection Kit (Thermo Fisher Scientific), AIV H5-H7 REAL TIME (ADIAVET), AgPath-ID™ One-Step RT-PCR Reagents (Ambion) with N8 RT-PCR primers and probe. In 2020, 84 positive samples on AI type A subtype H5N8 from poultry of Vinnytsia, Kherson, Kyiv and Mykolaiv oblasts was detected. In 2021, the presence of AIV RNA subtype H5N8 and H5N1 was detected in 87 samples (72 samples from poultry, 11 from wild birds and 4 from zoo birds) of Mykolaiv, Kyiv, Donetsk, Ternopil and Kherson oblasts. In 2020, 9 outbreaks of AI were registered in Vinnytsia (1), Mykolaiv (5), Kyiv (2) and Kherson (1) oblasts; in 2021, 11 outbreaks were registered in Mykolaiv (4), Kyiv (2), Donetsk (2), Ternopil (1) and Kherson (2) oblasts. In general, during 2020–2021, 20 outbreaks of AI subtype H5 (3 – commercial poultry farms, 13 – from backyards, 3 – in wild birds and 1 – in zoo birds) were registered in 6 oblasts of Ukraine. RNA of AIV in the samples from imported birds was not detected. Wild migratory birds are the most likely source of AIV in Ukraine since most outbreaks were registered in oblasts located at the crossing of wild bird migratory routes.

Key words: Highly pathogenic avian influenza, H5N8, H5N1, epidemiological situation.

Епізоотична ситуація щодо грипу птахів в Україні впродовж 2020–2021 років

M. I. Сушко¹, С. С. Мандигра¹✉, О. М. Чечет¹, М. А. Сапачова¹, О. С. Гайдей¹, О. М. Мовчун¹,
А. О. Скороход¹, О. В. Посна¹, Я. М. Зарицька¹, Б. В. Гутий², О. В. Крушельницька²

¹Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи,
м. Київ, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів,
Україна

Віруси грипу птиці (ГП) поширюються по всьому світу дикими перелітними птахами, які є їх резервуарами. Епізоотії високопатогенного грипу птиці (ВППГ) можуть завдавати значної шкоди птахівництву і призводити до торговельних обмежень. Через територію України проходить багато міграційних шляхів дикої перелітної птиці, тому вивчення циркуляції збудника ГП є важливим для запобігання поширенню ВППГ. Метою дослідження було вивчення епізоотологічної ситуації щодо ГП на території України на основі результатів лабораторних досліджень патологічного/біологічного матеріалів від птиці методом ПЛР, отриманих впродовж 2020–2021 рр. Випробування проводилися в рамках державного контролю ГП з метою раннього виявлення та запобігання поширенню вірусу ВППГ на території України. 27 354 зразки біологічного матеріалу від диких та домашніх птахів (11 115 зразків – у 2020 році та 16 239 – у 2021 році) було досліджено методом ПЛР у Державному науково-дослідному інституті лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ) і обласних державних лабораторіях. У 2020 році було виявлено 84 позитивних щодо грипу типу А субтипу H5N8 зразки від свійської птиці Вінницької, Херсонської, Київської та Миколаївської областей. У 2021 році наявність РНК вірусу грипу типу А субтипів H5N8 та H5N1 виявлено у 87 зразках (72 зразки від свійської птиці, 11 – від дикої птиці та 4 – від зоопаркової птиці) Миколаївської, Київської, Донецької, Тернопільської та Херсонської областей. У 2020 році було зареєстровано 9 спалахів ВППГ у Вінницькій (1), Миколаївській (5), Київській (2) та Херсонській (1) областях; у 2021 році зареєстровано 11 спалахів у Миколаївській (4), Київській (2), Донецькій (2), Тернопільській (1) та Херсонській (2) областях. Загалом впродовж 2020–2021 рр. у 6 областях України зареєстровано 20 спалахів грипу типу А субтипу H5 (3 – на птахофабриках, 13 – в приватному секторі, 3 – серед дикої птиці та 1 – у зоопаркової птиці). РНК вірусу ГП у зразках від імпортованої птиці не було виявлено. Дикі перелітні птахи є найбільш вірогідним джерелом занесення і розповсюдження вірусу ГП на території України, оскільки більшість спалахів зареєстровано в областях, розташованих на перетині найбільших міграційних шляхів дикої птиці.

Ключові слова: високопатогенний грип птиці, H5N8, H5N1, епізоотична ситуація.

Вступ

Грип птиці (ГП) – висококонтагіозне вірусне захворювання птиці (Liu et al., 2021). Збудником ГП є РНК-вмісний вірус, що належать до сімейства *Orthomyxoviridae*, роду *Influenzavirus* типу А (Javanian et al., 2021; Mazel-Sanchez et al., 2021). Вірус грипу типу А вражає як диких птахів, так і свійську птицю (курей, індиків, перепелів, цесарок тощо) і може спричиняти високу смертність, вражає і деякі види ссавців, а також людей (Capua & Alexander, 2009; Jadhao et al., 2009). На основі антигенної структури поверхневих глікопротеїнів віруси грипу типу А поділяють на 16 субтипів гемаглютиніну (НА) та 9 підтипів нейрамінідази (НА), які реплікуються у птахів у різних комбінаціях (Alexander, 2007). Крім того, у 2012–2013 роках з'явилися дані про нові підтипи НА і НА – H17N10 та H18N11, виділених від кажанів. (Tong et al., 2012; 2013). Теоретично можливі тисячі різних комбінацій НА та НА.

Залежно від структури сайту розрізування НА та здатності викликати захворювання у птиці віруси грипу поділяють на низькопатогенні віруси грипу птиці (НППГ) та високопатогенні (ВППГ). Згідно з даними Всесвітньої організації охорони здоров'я тварин (МЕБ), вірусом грипу птиці є “будь-який вірус грипу типу А з високою патогенністю (ВППГ) і підтипами H5 і H7 з низькою патогенністю (H5/H7 НППГ)”. До МЕБ подається інформація про випадки виявлення вірусу грипу птиці всіх підтипів H7 і H5, незалежно від їх патогенності.

Економічний вплив ГП на птахівництво є серйозним, оскільки спостерігається не тільки зниження виробництва яєць і висока смертність (може досягати 100 %) птахів, а й значні торговельні обмеження. Також занепокоєння викликає здатність вірусу ГП до генетичної ресортифікації, що може призвести до утворення нових штампів, небезпечних для людей (Feare, 2010).

У зв'язку з проходженням через територію України великої кількості міграційних шляхів дикої перелітної птиці і реєстрацією випадків грипу птиці в країнах, які межують з Україною, постійно є високий

ризик занесення вірусу грипу птиці на територію України.

Метою роботи було вивчення епізоотологічної ситуації щодо грипу птиці на території України на основі результатів лабораторних досліджень патологічного/біологічного матеріалів від птиці методом ПЛР, отриманих в рамках державного контролю за інфекційними хворобами тварин у 2020 та 2021 роках.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводилися на базі науково-дослідного відділу молекулярно-генетичних досліджень Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ) і Регіональних державних лабораторій Держпродспоживслужби в рамках державного контролю за інфекційними хворобами тварин у 2020 та 2021 роках.

Зразки. Впродовж 2020–2021 рр. було досліджено 27 354 зразки патологічного/біологічного матеріалу. Для виявлення РНК вірусу ГП досліджували зразки патологічного матеріалу (шматочки трахеї, легень, селезінки, нирок, печінки, серця, головного мозку та фрагмент кишечника з вмістом) від дикої, синантропної, зоопаркової і свійської птиці, а також трахеальні та клоакальні змиви, послід.

Реагенти. Виділення нуклеїнових кислот здійснювали за допомогою комерційних наборів: “Арт-РНКMiniSpin” (АртБиоТех, Білорусія) та IndiSpin® Pathogen (Indical Bioscience, Німеччина). Для виявлення РНК вірусу ГП типу А використовували комерційні набори: “VetMax™ – Gold AIV Detection Kit” (Life Technologies) та “Bio-T kit Avian&Swine Influenza Virus” (Biosellal). У разі отримання позитивного результату здійснювали ідентифікацію субтипів H5 та H7 вірусу ГП за допомогою “ADIAVET AIV H5-H7 REAL TIME” (Adiagène SARL, France). Для подальшої ідентифікації нейрамінідаз використовували праймери та зонди для детекції N1 і N8, розроблені Hoffmann et al. (2016) та комерційний мастер-мікс AgPath-ID™ One-Step RT-PCR Reagents (Ambion-Applied Biosystems).

Результати та їх обговорення

В рамках державного контролю за інфекційними хворобами тварин у 2020 р. було досліджено 11 115 зразків патологічного/біологічного матеріалу (табл. 1). У 153 зразках було виявлено РНК вірусу грипу типу А, зокрема у 119 зразках патологічного матеріалу та 30 зразках змивів від свійської птиці, а також 4 зразках патологічного матеріалу від дикої

птиці Вінницької, Київської, Миколаївської, Одеської, Тернопільської, Харківської та Херсонської областей. Із них РНК вірусу грипу типу А субтипу Н5 було виявлено у 84 зразках від свійської птиці Вінницької, Київської, Миколаївської та Херсонської областей. У зразках патологічного матеріалу від дикої птиці ні РНК вірусу грипу типу А субтипу Н5, а ні субтипу Н7 виявлено не було.

Таблиця 1

Результати лабораторної діагностики грипу птиці методом ПЛР, проведеної в рамках державного контролю за інфекційними хворобами тварин у 2020 та 2021 роках

Рік	Вид птиці	Кількість досліджених зразків	Виявлено позитивних на ГП (тип А/Н5/Н7)	Область
2020 р.	Дика птиця	2161	4 (4/0/0)	Вінницька, Київська, Миколаївська, Одеська, Тернопільська, Харківська, Херсонська
	Синантропна птиця	983	0	
	Зоопаркова птиця	148	0	
	Свійська птиця	7320	149 (149/84/0)	
	Птиця на імпорт/експорт	503	0	
2021 р.	Дика птиця	2000	14 (14/11/0)	Донецька, Київська, Одеська, Миколаївська, Луганська, Тернопільська, Чернівецька, Херсонська
	Синантропна птиця	936	2 (2/0/0)	
	Зоопаркова птиця	223	4 (4/4/0)	
	Свійська птиця	12326	80 (80/72/0)	
	Птиця на імпорт/експорт	754 (26/728)	0	

У 2021 р. було досліджено 16 239 зразків патологічного/біологічного матеріалу (табл. 1). РНК вірусу грипу типу А було виявлено у 100 зразках, зокрема у 64 зразках патологічного матеріалу та 16 зразках змивів від свійської птиці, 14 зразках патологічного матеріалу від дикої птиці, 2 зразках патологічного матеріалу від синантропної птиці, 2 зразках патологічного матеріалу та 2 зразках змивів від зоопаркової птиці, відібраних на території Донецької, Київської, Миколаївської, Луганської, Одеської, Тернопільської, Чернівецької та Херсонської областей. Із них РНК вірусу грипу типу А субтипу Н5 було виявлено у 87 зразках (72 зразках від свійської птиці, 11 – від дикої птиці та 4 – від зоопаркової птиці) Донецької, Київської, Миколаївської, Тернопільської та Херсонської областей.

У 2020 році було зареєстровано 9 спалахів грипу типу А субтипу Н5Н8 серед домашньої птиці у чотирьох областях України (табл. 2). ВПГП реєстрували як серед свійської птиці приватного сектору (7 випадків), так і на птахофабриках (2 випадки). Найбільше спалахів ВПГП було зареєстровано у Миколаївській області – 5, менше в Київській – 2 та по одному спалаху у Вінницькій та Херсонській областях.

У 2021 році зареєстровано 11 спалахів грипу типу А субтипу Н5Н8 і Н5Н1 у п'яти областях України (табл. 2). Випадки ВПГП реєстрували у свійської птиці (приватний сектор – 6 випадків; птахофабрика – 1), дикої птиці (3 випадки) та зоопаркової птиці (1 випадок). Подібно як і в 2020 р., у 2021 р. найбільше спалахів ВПГП реєстрували у Миколаївській області – 4, по два спалахи у Київській, Донецькій та Херсонській областях, у Тернопільській області – 1.

Загалом упродовж 2020–2021 рр. було зареєстровано 20 спалахів грипу типу А субтипу Н5 у шести областях України. Джерел занесення та шляхів поширення збудника поки не знайдено для жодного із зареєстрованих спалахів ВПГП. На рис. 1 зображено мапу локалізації спалахів ВПГП на території України. Помітним є те, що більшість випадків грипу птиці зареєстровано в областях, розташованих на перетині шляхів міграції диких птахів (рис. 2). Тож за результатами вивчення можливих джерел поширення грипу птиці, дика птиця є найбільш вірогідним джерелом занесення та поширення ВПГП на території України.

Відсутність випадків виявлення РНК вірусу ГП у зразках від імпортованої/експортованої птиці робить малоймовірним даний шлях заносу вірусу ВПГП в Україну.

Більшу кількість спалахів, що спостерігаються у домашньої птиці, та їх відсутність у диких птахів можна пояснити неефективним пасивним наглядом за дикими птахами, різною реакцією хазяїна на вірусну інфекцію між домашніми та дикими птахами або стадним імунітетом диких птахів через минулий сезонний вплив НРАІ А(Н5).

Згідно з отриманими результатами досліджень – на території України впродовж 2020–2021 рр. циркулювали віруси ВПГП субтипів Н5Н1 та Н5Н8 (табл. 2). Вірус ВПГП субтипу Н5Н1 впродовж двох останніх років був виявлений один раз при дослідженні зразків від свійської птиці приватного сектору в Миколаївській області (спалах від 11.10.2021). Більш поширеним був вірус грипу типу А субтипу Н5Н8.

Таблиця 2

Спалахи ВППП, зареєстровані на території України впродовж 2020–2021 рр.

Область	Місце спалаху	Епідеміологічна одиниця	Вид	Субтип	Дата спалаху
2020 рік					
Вінницька	Немирівський р-н, с. Бугаків	птахофабрика	домашня птиця	H5N8	18.01.2020
Миколаївська	Новоодеський р-н, с. Кандибине	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	02.12.2020
	Новоодеський р-н, с. Новоматвіївське	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	08.12.2020
	Очаківський р-н, с. Яселка	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	23.12.2020
	Миколаївський р-н, с. Трихати	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	28.12.2020
	Арбузинський р-н, с. Іванівка	птахофабрика	домашня птиця	H5N8	28.12.2020
Київська	Іванківський р-н, с. Леонівка	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	23.12.2020
	Іванківський р-н, смт. Бородянка	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	26.12.2020
Херсонська	Каховський р-н, с. Заозерне	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	28.12.2020
2021 рік					
Миколаївська	Доманівський р-н, смт Доманівка	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	14.01.2021
	Жовтневий р-н, с. Лимани	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	26.02.2021
	Жовтневий р-н	ліс	дика птиця	H5N8	02.04.2021
	Єланецький р-н, смт Єланець	приватний сектор	домашня птиця	H5N1	11.10.2021
Київська	Бучанський р-н, с. Гостомель	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	18.01.2021
	Бучанський р-н, смт Клавдієво-Тарасове	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	16.02.2021
Донецька	Волноваський р-н, с. Веселе	птахофабрика	домашня птиця	H5N8	01.02.2021
	Волноваський р-н, с. Веселе	приватний сектор	домашня птиця	H5N8	07.02.2021
Херсонська	Білозерський р-н, НПП “Нижньодніпровський”	природний парк	дика птиця	H5N8	28.02.2021
	Генічеський р-н	о. Сиваш	дика птиця	H5N8	22.03.2021
Тернопільська	Тернопільський р-н	природний парк	зоопаркова птиця	H5N8	05.03.2021

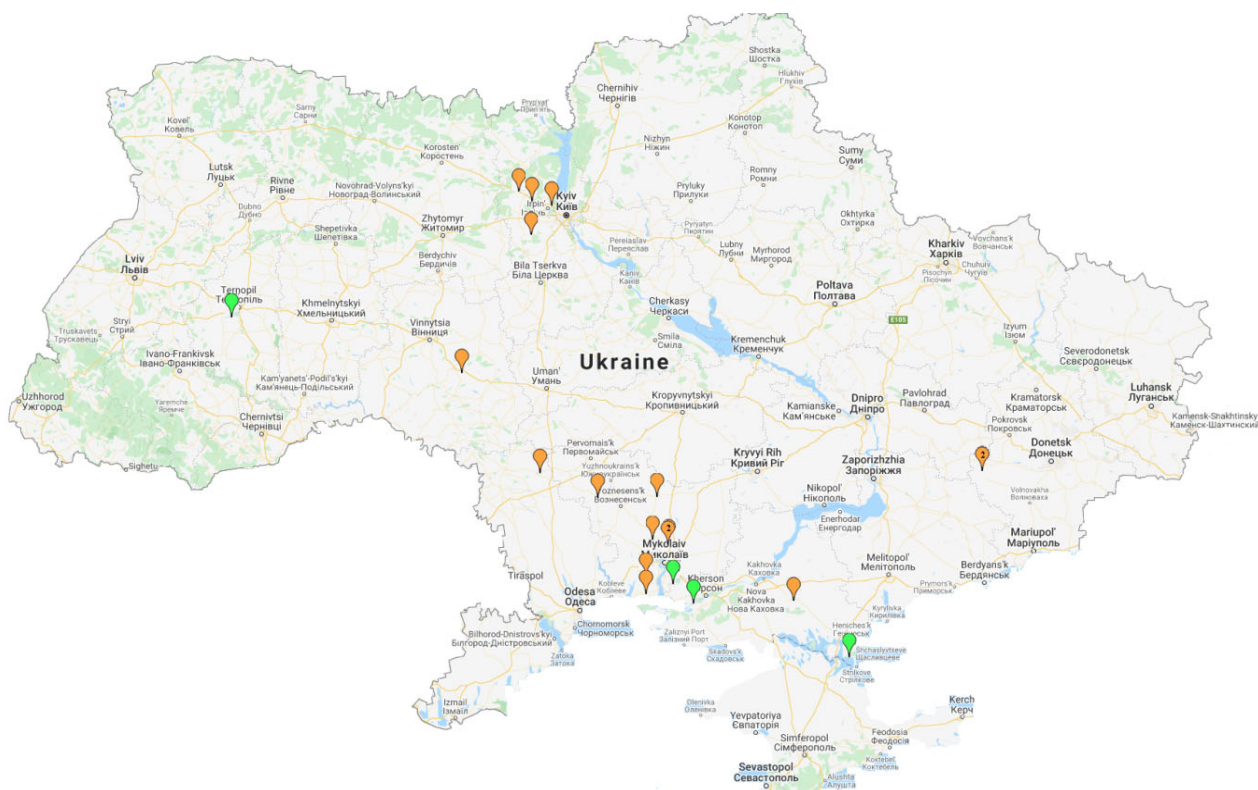


Рис. 1. Спалахи ВППП на території України впродовж 2020–2021 рр.: оранжевим позначено випадки реєстрації грипу птиці серед домашньої птиці; зеленим – серед дикої і зоопаркової птиці

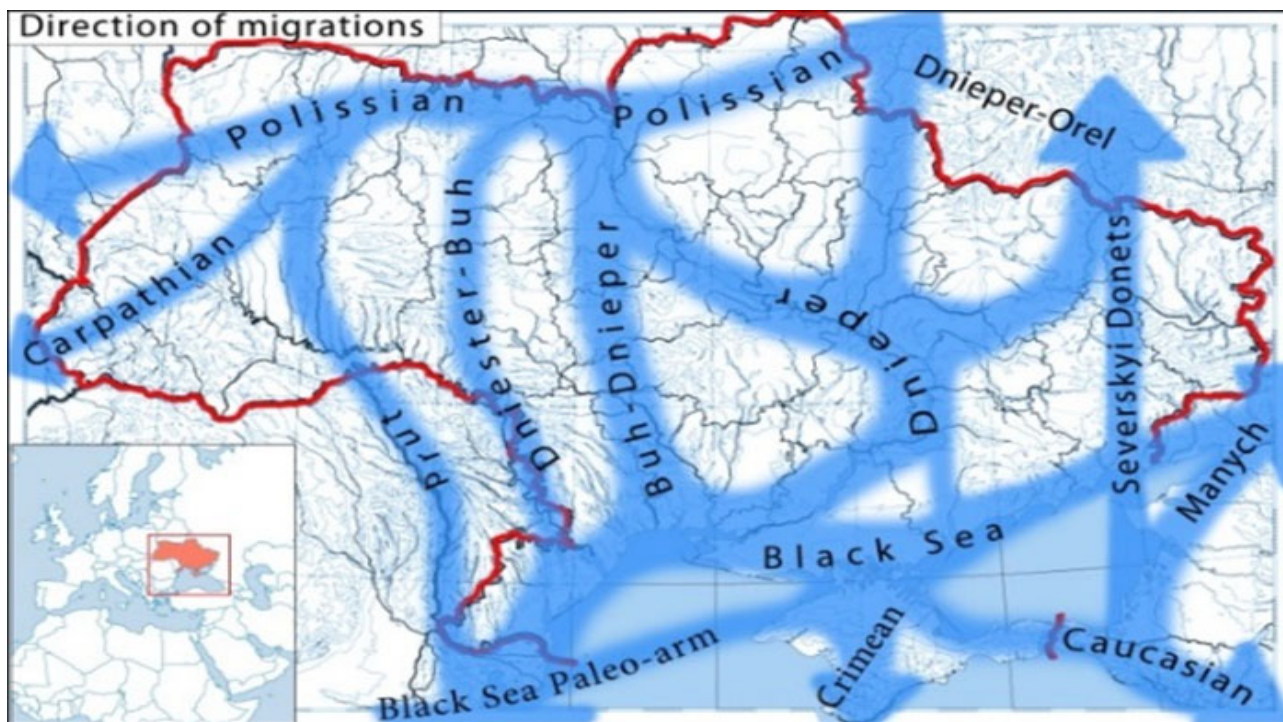


Рис. 2. Найбільші міграційні шляхи дикої птиці через територію України

Впродовж 2020–2021 рр. було зареєстровано 19 випадків виявлення цього вірусу у Вінницькій, Миколаївській, Київській, Донецькій, Херсонській, Тернопільській областях. Дані субтипи вірусів ВПГП не є новими для України. Зокрема, спалахи ВПГП субтипу H5N1 реєструвалися впродовж 2005–2008 років в АР Крим, Херсонській, Одеській та Сумській областях. Спалахи ВПГП субтипу H5N8 реєструються в Україні з листопада 2016 року. Випадки виявлення ВПГП субтипу H5N8 раніше реєстрували в Херсонській, Одеській, Миколаївській, Тернопільській, Чернівецькій областях (Muzyka et al., 2017).

Висновки

Впродовж 2020–2021 рр. було зареєстровано 20 спалахів ВПГП субтипів H5N1 та H5N8 (3 – на птицефабриках, 13 – в приватному секторі, 3 – серед дикої птиці та 1 – у зоопаркової птиці) в 6 областях України (Вінницькій, Миколаївській, Київській, Донецькій, Херсонській і Тернопільській). РНК вірусу ГП у зразках від імпортованої птиці не виявлено. Дикі перелітні птахи є найбільш вірогідним джерелом ВПГП на території України, оскільки більшість спалахів зареєстровано в областях, розташованих на перетині шляхів міграції диких птахів.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

Alexander, D. J. (2007). An overview of the epidemiology of avian influenza. *Vaccine*, 25(30), 5637–5644. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.10.051.

Capua, I., & Alexander, D. J. (2009). Avian influenza infection in birds: a challenge and opportunity for the poultry veterinarian. *Poult Sci*, 88(4), 842–846. DOI: 10.3382/ps.2008-00289.

Feare, C. J. (2010). Role of wild birds in the spread of highly pathogenic avian influenza virus H5N1 and implications for global surveillance. *Avian Diseases*, 54(1), 201–212. DOI: 10.1637/8766-033109-ResNote.1.

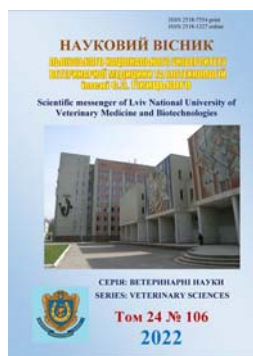
Jadhao, S. J., Nguyen, D. C., Uyeki, T. M., Shaw, M., Maines, T., Rowe, T., Smith, C., Huynh, L. P., Nghiem, H. K., Nguyen, D. H., Nguyen, H. K., Nguyen, H. H., Hoang, L. T., Nguyen, T., Phuong, L. S., Klimov, A., Tumpey, T. M., Cox, N. J., Donis, R. O., Matsuoka, Y., & Katz, J. M. (2009). Genetic analysis of avian influenza A viruses isolated from domestic waterfowl in live-bird markets of Hanoi, Vietnam, preceding fatal H5N1 human infections in 2004. *Arch Virol*, 154(8), 1249–1261. DOI: 10.1007/s00705-009-0429-2.

Javanian, M., Barary, M., Ghebrehewet, S., Koppolu, V., Vasigala, V., & Ebrahimipour, S. (2021). A brief review of influenza virus infection. *J Med Virol*, 93(8), 4638–4646. DOI: 10.1002/jmv.26990.

Liu, W. J., Xiao, H., Dai, L., Liu, D., Chen, J., Qi, X., Bi, Y., Shi, Y., Gao, G. F., & Liu, Y. (2021). Avian influenza A (H7N9) virus: from low pathogenic to highly pathogenic. *Front Med*, 15(4), 507–527. DOI: 10.1007/s11684-020-0814-5.

Mazel-Sanchez, B., Iwaszkiewicz, J., Bonifacio, J.P.P., Silva, F., Niu, C., Strohmeier, S., Eletto, D., Krammer, F., Tan, G., Zoete, V., Hale, B. G., & Schmolke, M. (2021). Influenza A viruses balance ER stress with host protein synthesis shutoff. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 118(36), e2024681118. DOI: 10.1073/pnas.2024681118.

- Muzyka, D. V., Nevolko, O. M., Herilovych, A. P., Stehnii, A. B., Novozhytska, Yu. M., Rula, O. M., & Tkachenko, S. V. (2017). Vysokopatohennyi hrypptytsi u sviti ta Ukraini. *Veterynarna medytsyna*, 103, 198–201. URL: http://jvm.kharkov.ua/sbornik/103/3_45.pdf (in Ukrainian).
- Tong, S., Li, Y., Rivallier, P., Conrardy, C., Castillo, D. A., Chen, L.M., Recuenco, S., Ellison, J. A., Davis, C. T., York, I. A., Turmelle, A. S., Moran, D., Rogers, S., Shi, M., Tao, Y., Weil, M. R., Tang, K., Rowe, L. A., Sammons, S., Xu, X., Frace, M., Lindblade, K. A., Cox, N. J., Anderson, L. J., Rupprecht, C. E., & Donis, R. O. (2012). A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(11), 4269–4274. DOI: 10.1073/pnas.1116200109.
- Tong, S., Zhu, X., Li, Y., Shi, M., Zhang, J., Bourgeois, M., Yang, H., Chen, X., Recuenco, S., Gomez, J., Chen, L.M., Johnson, A., Tao, Y., Dreyfus, C., Yu, W., McBride, R., Carney, P. J., Gilbert, A. T., Chang, J., Guo, Z., Davis, C. T., Paulson, J. C., Stevens, J., Rupprecht, C. E., Holmes, E. C., Wilson, I. A., & Donis, R. O. (2013). New world bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS Pathogens*, 9(10), e1003657. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003657.



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/nvlvet10616

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

UDC 619:616.98

Comparative characteristics of the sensitivity of the bird to aspergillosis pathogens

A. Y. Karasenko✉, S. B. Peredera

Poltava State Agrarian University, Poltava, Ukraine

Article info

Received 11.04.2022

Received in revised form

12.05.2022

Accepted 13.05.2022

Poltava State Agrarian University

Skovorody St., 1/3, Poltava,

Poltava region, 36003, Ukraine.

Тел.: +38-095-228-98-32

E-mail: annamalyonovskaya@ukr.net,

13peredera@ukr.net

Karasenko, A. Y., & Peredera, S. B. (2022). Comparative characteristics of the sensitivity of the bird to aspergillosis pathogens. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 103–107. doi: 10.32718/nvlvet10616

It has been established that the most common mycoses among poultry are aspergillosis and mucormycosis, which are observed in sporadic cases under conditions of violation of egg incubation technologies, zoohygienic conditions for poultry keeping, and feed storage. Aspergillosis (pneumomycosis, brood pneumonia, mycosis) is an infectious disease that most often affects the respiratory system and, less often, the serous membranes of other organs, namely the liver, intestines, spleen, kidneys, central nervous system, and air cavities of the tubular bones. Aspergillosis affects all species of poultry and wild birds. The disease is more common in young animals in the first days of life. In the studied poultry farms, aspergillosis has a different intensity. The disease can kill 30 to 50 % of all young animals and, in some cases, only a few. This is due to the infection of the fungus in the environment, its pathogenicity, the bird's age, and its resistance. The material for the research was carcasses and aspergillosis-sick birds from Poltava HPE LLC, Poltava Poultry Factory JSC, Poltava Incubator Agricultural Complex, and Poltava district private farms. Statistical indicators from the surveyed farms and micro-sections. It has been established that the causative agent of aspergillosis in chickens and young guinea fowl is mainly the fungus *Aspergillus fumigatus*, less often *Aspergillus flavus*. Sources of infection in the surveyed farms are infected hatching eggs infected with fungal spores and moldy litter. Determining factors contributing to the infection are unsatisfactory conditions for keeping young birds: high humidity and faulty ventilation system. Chickens are more sensitive to aspergillosis than young guinea fowl because, for chickens, the number of detected pathologies in various organs and systems is much higher. The disease in chickens is superacute, acute, and chronic; in young guinea fowl, it is in a mild form (without chronic forms). Clinical signs of avian aspergillosis are not typical, which complicates the lifelong diagnosis of the disease. The results show that raising guinea fowl is a more profitable business because the rate of loss of young is much lower than that of chickens and the rate of sexual maturity for guinea fowl is also higher. Aspergillosis in one-three-day-old chickens is characterized by serous tracheitis, bronchitis, aeroculitis, and serous fungal pneumonia. Histological examination of the lungs showed swelling of endothelial and alveolar cells, the presence of fungal spores in blood vessels, necrosis, and desquamation of the respiratory epithelium.

Key words: mycoses of birds, aspergillosis, mitotic pneumonia, chickens, young guinea fowl, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, sensitivity of birds, serous tracheitis, bronchitis, resistance.

Порівняльна характеристика чутливості птиці до збудників аспергільозу

А. Ю. Карасенко✉, С. Б. Передера

Полтавський державний аграрний університет, м. Полтава, Україна

Встановлено, що найбільш поширеними мікозами серед сільськогосподарської птиці є аспергільоз та мукормікоз, які спостерігаються у вигляді спорадичних випадків за умов порушення технологій інкубації яєць, зоогігієнічних умов утримання птиці та зберігання кормів. Аспергільоз (пневмомікоз, брудерне запалення легень, пліснявий мікоз) – інфекційна хвороба, яка частіше вражає органи дихання та рідше серозні оболонки інших органів, а саме – печінки, кишкового, селезінки, нирок, центральної нервової системи та повітряні порожнини трубчатих кісток. Аспергільоз вражає всі види домашньої та дикої птиці. Хвороба найчастіше реєструється у молодняку в перші дні життя. В досліджуваних птахових господарствах аспергільоз має різну інтенсивність перебігу. Від захворювання може загинути від 30 до 50 % всього поголів'я молодняку, а в деяких випадках – одиниці. Це пояснюється

ступенем інфікованості грибком зовнішнього середовища, його патогенністю, віком птиці, її резистентністю. Матеріалом для досліджень були трупи та хвора на аспергіллез птиця з СТОВ “Полтавське ІПП”, ЗАТ “Полтавська птахофабрика”, СВК “Полтава-інкубатор” та приватних господарств Полтавського району. Статистичні показники з досліджуваних господарств та мікрорізів дослідження. Встановлено, що збудником аспергіллізу у курчат та молодняку цесарок переважно є гриб *Aspergillus fumigatus*, рідше *Aspergillus flavus*. Джерелами зараження в обстежених господарствах є інфіковані інкубаційні яйця, що заражені спорами гриба, та запліснявіла підстилка. Визначальними факторами, що сприяють виникненню інфікування, є незадовільні умови утримання молодняку птахів: підвищена вологість повітря, несправна вентиляційна система. Курчата є більш чутливими до аспергіллізу, ніж молодняк цесарок, адже для курчат кількість виявлених патологій в різних органах та системах є значно вищою. Хвороба у курчат протікає надгостро, гостро і хронічно, у молодняку цесарок – в легкій формі (без виникнення хронічних форм). Клінічні ознаки аспергіллізу птахів не характерні, що ускладнює прижиттєву діагностику хвороби. Отримані результати засвідчують, що розведення цесарок є більш вигідною справою, адже показник втрати молодняку є значно меншим за курчат і показник досягнення статевої зрілості для цесарок є також вищим. Аспергіллез у одно-триденних курчат характеризується серозним трахеїтом, бронхітом, аеросаккулітом, серозною мікотичною пневмонією. При гістологічному дослідженні легень виявляли набряк ендотеліальних та альвеолярних клітин, наявність спор гриба у кровоносних судинах, некроз та десквамацію респіраторного епітелію.

Ключові слова: мікози птахів, аспергіллез, мікотична пневмонія, курчата, молодняк цесарок, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, чутливість птахів, серозний трахеїт, бронхіт, резистентність.

Вступ

Розведення, вирощування і утримання птиці – це один з найбільш популярних напрямків виробництва м'яса і яєць у великих господарствах і приватних подвір'ях завдяки простоті догляду за пернатими і швидкій окупності (Meneau et al., 2016). Одним з негативних моментів при утриманні птахів є дуже швидке поширення хвороб. Вчені неодноразово зазначали, що курячі ембріони досить чутливі до інфікування *Aspergillus fumigatus* під час інкубації. Підвищена смертність ембріонів відбувається приблизно на 16-у добу інкубації. До 50 % смертності серед курчат раннього віку може бути пов'язано із збудником аспергіллізу (Korniłłowicz-Kowalska & Kitowski, 2013; Glare et al., 2014; Kang et al., 2017; Fischer et al., 2018; Kiser et al., 2018; Arné et al., 2021).

Аспергіллез – хвороба, що викликається грибами роду *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* і *Aspergillus terreus*, *A. nidulans*, *A. Album*) і вражає респіраторну систему птахів. Це захворювання досить поширене в багатьох країнах світу. В Німеччині, Японії, Індії, Австралії, а також в Україні спори грибів *Aspergillus* виявляють в окремих культурах сіна, силосі і комбікормах, якими годують велику рогату худобу, свиней і птицю (Melo et al., 2020a; 2020b).

В період 2011–2015 рр. державними лабораторіями ветеринарно-санітарної експертизи України досліджено на мікози 82 628 зразків, з них лише 1 671 (2,0 %) зразків були позитивними щодо патогенних грибів, включаючи дерматофіти (Latgé & Chamilos, 2019). З них гриби роду *Aspergillus* від птахів виділено з 77 зразків (4,1 % від усіх позитивних результатів і 6,1 % від усіх проведених досліджень на аспергіллез), збудників мукормікозу птахів ізолювано з 4 зразках (0,2 % від усіх позитивних результатів мікологічних досліджень) (Savelieff et al., 2018; Talbot et al., 2018; Reed et al., 2020).

Вивченню аспергіллізу присвячена велика кількість досліджень, у яких досить докладно висвітлені питання етіології, епізоотології, профілактики і заходів боротьби з хворобою (Vedova et al., 2019). Особливу увагу приділено рекомендаціям ефективних і економічно ґрунтованих засобів профілактики та

ліквідації інфекційного захворювання, а також сучасних лікарських і дезінфекційних препаратів (Nawrot et al., 2019). Серед відомих досліджень в даній галузі можна назвати роботи таких науковців, як Kang H.-M. (Kang et al., 2017), Savelieff M. G. (Savelieff et al., 2018), Glare T. R. (Glare et al., 2014), Melo A. (Melo et al., 2020b), Korniłłowicz-Kowalska T. (Korniłłowicz-Kowalska & Kitowski, 2013), Kiser P. K. (Kiser et al., 2018), Reed K. (Reed et al., 2020), Wernery U. (Wernery et al., 2018).

Дане дослідження присвячене оцінюванню чутливості птиці до аспергіллізу (на прикладі курчат та молодняку цесарок).

Метою дослідження є виявлення відмінностей в патогенезі та протіканні аспергіллізу в різних видів сільськогосподарської птиці.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводилися з січня по червень 2021 року в умовах кафедри інфекційної патології, гігієни, санітарії та біобезпеки ПДАУ, регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області.

Матеріалом для досліджень були трупи та хвора на аспергіллез птиця з СТОВ “Полтавське ІПП”, ЗАТ “Полтавська птахофабрика”, СВК “Полтава-інкубатор” та господарств Полтавського району. Статистичні показники з досліджуваних господарств та мікрорізів дослідження. Патолого-анатомічний розтин загиблої птиці проводили методом часткової евісцерції. Під час розтину вивчали макроскопічні зміни (Wernery et al., 2018). Для проведення гістологічних досліджень відбирали шматочки уражених органів та фіксували їх в 10 % нейтральному розчині формаліну. Гістопрізи готували за класичною методикою на санному мікротомі НМ – 440Е, фарбували гематоксилін-еозином.

Об'єктом дослідження були 20 курчат та цесарок у віці до 20 днів з клінічними ознаками, що характерні для респіраторних хвороб. Для диференціальної діагностики проводили патологоанатомічний розтин, гістологічне дослідження легень за стандартною методикою (фарбуванням PAS-гематоксиліном та за Цілем-Нельсеном) та висів з легень у асептичних

умовах на селективні живильні середовища з подальшою ідентифікацією виділених ізолятів мікроорганізмів (Kang et al., 2017).

Для вирішення поставлених у роботі завдань здійснювалося з використанням системного підходу в добір матеріалу, методів індуктивного і логічного аналізу, спостереження та статистичні методи аналізу літературних даних. Проведена статистична обробка результатів.

Результати та їх обговорення

Дослідники неодноразово відзначали підвищений рівень стійкості організму цесарок до несприятливих умов навколишнього середовища. Разом з тим при вирощуванні цесарок, особливо молодняку, в умовах інтенсивних технологій, можливе зниження природної резистентності, адаптивного імунітету і прояв імунodefіциту. Тому при промисловому розведенні цесарок з метою збільшення продуктивності потрібен постійний контроль природної резистентності цього птаха.

У курчат досліджуване захворювання діагностують у віці 7–40 днів. Перебіг хвороби у молодняку гострий, а в дорослих птахів – хронічний. Основними клінічними ознаками аспергільозу у птахів є пригнічення та утворення в ротовій порожнині сірувато-білих або сірих дифтеретичних нашарувань, слизова оболонка гіперемійована. При обстеженні досліджуваних господарств нами встановлено, що збільшенню захворюваності і смертності птахів від аспергільозу сприяють певні фактори, а саме концентрація великого поголів'я на обмежених площах; порушення температурного режиму (перегрів або переохолодження); забрудненість кормів грибами роду *Aspergillus*, серед

яких виявлено *Aspergillus fumigatus* (у 90 % випадків), *A. flavus* (у 10%).

Основними симптомами аспергільозу у досліджуваних курчат та молодняку цесарок були нежить, легеневі хрипи, чхання, рідко пронос. Це супроводжується пригніченням птахів, зниженням апетиту, рухливості, темпів зростання. Основними клінічними ознаками аспергільозу у птиці є пригнічення та утворення в ротовій порожнині сірувато-білих або сірих дифтеретичних нашарувань, слизова оболонка гіперемійована. Хворий птах стає пригніченим, млявим, сонливим та малорухомим. При ураженні повітряноносних мішків видих супроводжується характерними хрипами і свистом, спостерігаються симптоми ускладненого дихання.

Аспергільоз птиці, спричинений *Aspergillus fumigatus*, характеризується утворенням в легенях, на плеврі, повітряноносних мішках і рідше – в інших органах поодиноких чи множинних сіруватих або сірувато-білих, інколи – сірувато-жовтих вузликів величиною від макового до просяного зерна, рідше – розміром з горошину.

При зовнішньому огляді молодняку птахів, який загинув від аспергільозу, виявляли скуйовджений, тьмяний пір'яний покрив, вгдованість нижче середньої, слизові оболонки блідо-рожевого кольору. При огляді птиці в ділянці клоаки виявляли забруднення пера каловими масами. У хворих птахів спостерігали пригнічення, відмову від корму та води, фотофобію.

При розтині основні зміни при аспергільозі птахів (курчата та молодняк цесарок) зосереджувалися в легенях, повітряноносних мішках і на серозних оболонках грудочеревної порожнини. Оцінку чутливості до аспергільозу птахів (на прикладі курчат та молодняку цесарок) подано в табл. 1.

Таблиця 1

Оцінка чутливості до аспергільозу птахів

Тип виявленої патології	Курчата (n = 20)	Молодняк цесарок (n = 20)
Нежить та чхання	+ (n = 12)	+ (n = 7)
Вгдованість	Нижче середнього (n = 18)	Нижче середнього (n = 12)
Гіперемія	Наявна (n = 17)	Наявна (n = 10)
Рухливість	Нижче середнього (n = 19)	Нижче середнього (n = 15)
Темпи росту	Нижче середнього (n = 19)	Нижче середнього (n = 13)
Патолого-анатомічний розтин загиблої птиці		
У легенях	Вузлики 1 до 4 мм (n = 14)	Вузлики 1 до 4 мм (n = 9)
Зміни в серці	Підвищене кровонаповнення (n = 12)	Підвищене кровонаповнення (n = 7)
Патологія печінки	Зерниста дистрофія печінкових клітин (n = 15)	Зерниста дистрофія печінкових клітин (n = 8)
Зміни у селезінці	Проліферація лімфоїдних плазматичних клітин у мальпігєєвих тільцях (n = 10)	Серозний випіт (n = 6)
Патологія нирок	Зерниста дистрофія (n = 12)	некробіоз епітелію каналців (n = 6)
Зміни у шлунково-кишковому тракті	Запалення травної системи (n = 15)	Запалення дванадцятипалої кишки (n = 7)

Джерело: результати власних досліджень автора

Згідно з отриманими результатами можемо зробити такі узагальнення за напрямком дослідження. В легенях у більшості цесарок спостерігали численні округлі сіруваті вузлики величиною від 1 до 4 мм. На розрізі вони складалися з центрально розташованої казеозної маси, оточеної сполучною тканиною. У

курчат аспергільозні вузлики були одиничними. Крім того, виявлено гіперемію, набряк та зміни, характерні для катарально-геморагічної пневмонії.

Патологоанатомічні зміни в повітряноносних мішках спостерігалися у всіх видів досліджуваних нами птахів. Більшість особин (15 курчат) зміни знаходили у

грудних і черевних повітряноносних мішках, рідше в шийних. У просвіті трахеї виявляли тонку смугу слизу, що містить десквамований покривний епітелій, лімфоїдні та псевдоеозинофільні клітини.

У підслизовій і серозній оболонках присутні скопчення набряклої рідини і інфільтрація псевдоеозинофілами. В інфікованих на аспергілез цесарок відбувається набряк периваскулярної сполучної тканини. Через 2 доби після зараження цесарок аспергілезом відзначають дифузні й осередкові ділянки некрозу слизової оболонки. Осередки некрозу оточені гігантськими клітинами. На 3 добу в стінці повітряноносних мішків знаходять аспергілезні вузлики, які схожі за

будовою на такі, що були у легенях інфікованих аспергілезом курчат.

У 14 курчат стінка повітряноносних мішків була потовщена, напівпрозора, на її слизовій оболонці були численні сіруваті, величиною від просіяного зерна до шпилькової головки, щільні на дотик аспергілезні вузлики з запальним пояском. В одного курчати в паренхімі легень спостерігали прозорі желатиноподібні ділянки.

У міокарді виявляли підвищене кровонаповнення судин, зернисту дистрофію кардіоміоцитів, іноді осередкову проліферацію лімфоїдно-гістіоцитарних клітин.

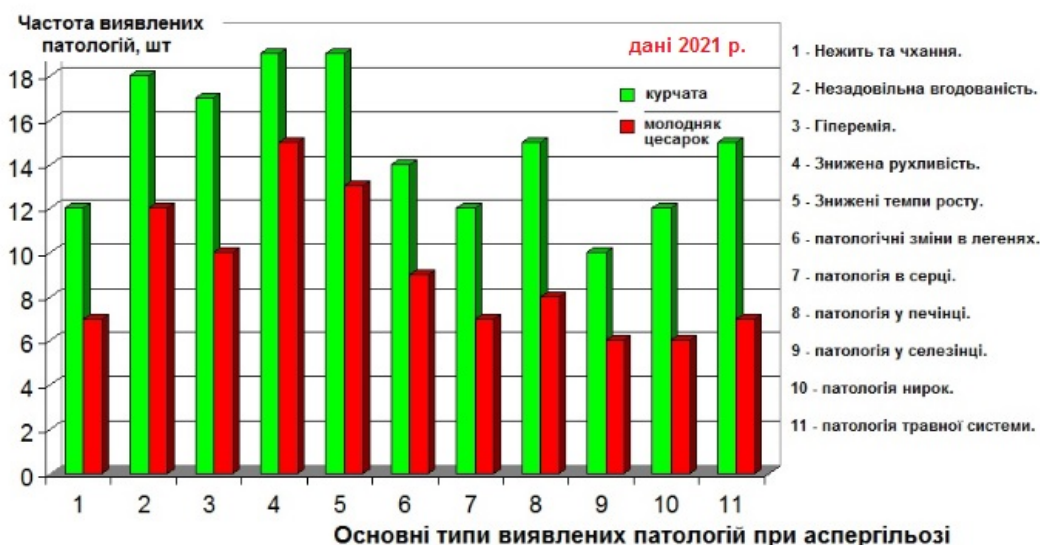


Рис. 1. Схематичне зображення ступеня чутливості курчат та молодняку цесарок до аспергілозу

Джерело: результати власних досліджень автора

У печінці знаходили підвищене кровонаповнення судин та зернисту дистрофію печінкових клітин, скопчення трансудату у просторах Диссе та навколо кровоносних судин. У селезінці виявляли гіперпластичні процеси, що характеризуються проліферацією лімфоїдних плазматичних клітин у мальпігійових тільцях. Виявляли серозний випіт в пензликових артеріях.

У нирках спостерігали підвищене кровонаповнення судин, зернисту дистрофію та некробіоз епітелію каналців. При гістологічному дослідженні нирок епітеліальні клітини каналців набрякли, ядра чітко контуровані. Просвіти каналців звужені, частково заповнені дрібнозернистою масою, що фарбується еозином у рожевий колір. У капсулі Шумлянського-Боумана накопичується набрякла рідина.

У більшості птахів спостерігали катаральне запалення слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, особливо дванадцятипалої кишки. Зміни в головному мозку в основному обмежувалися підвищеним кровонаповненням судин. При тяжкому ураженні не лише органів дихання, а й серозних покривів дистрофічні зміни у головному мозку часто поширювалися на більшість нервових клітин. Судинні розлади виявлялися гіперемією, периваскулярними та перичелюлярними набряками.

Таким чином, аспергілез у одно-триденних курчат характеризується серозним трахеїтом, бронхітом, аеросаккулітом, серозною мікотичною пневмонією. При гістологічному дослідженні легень виявляли набряк ендотеліальних та альвеолярних клітин, спори гриба в кровоносних судинах, некроз та десквамацію респіраторного епітелію. Встановлено також, що по досягненні віку 20 тижнів коефіцієнт збереження поголів'я цесарок був високим і становив 97,3–97,6 % залежно від породи. Аналіз збереження молодняку цесарок свідчить про те, що смертність птиці в період вирощування більшою мірою залежала від умов утримання, ніж від генотипу цесарок. З добового до 12-тижневого віку відхід молодняку коливався в межах 1,82–2,44 %, з 12 по 20 тиждень – 0,97–1,39 %. Більше число полеглої птиці припадало на 15–20 тижні життя. Цесарки різних порід і популяцій відрізняються за рівнем окремих показників неспецифічної резистентності до аспергілозу.

Висновки

Встановлено, що збудником аспергілозу у курчат та молодняку цесарок переважно є гриб *Aspergillus fumigatus*, рідше *Aspergillus flavus*. Джерелами зараження в обстежених птахогосподарствах є інфіковані

інкубаційні яйця, що заражені спорами гриба та запліснявіла підстилка. Визначальними факторами, що сприяють виникненню інфікування є незадовільні умови утримання молодняку птахів: підвищена вологість повітря, несправна вентиляційна система.

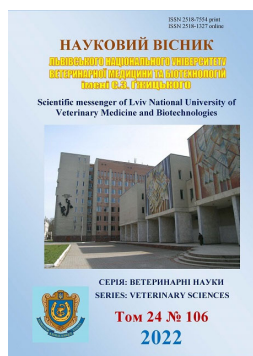
Курчата є більш чутливими до аспергильозу, ніж молодняк цесарок, адже для курчат кількість виявлених патологій в різних органах та системах є значно вищою. Хвороба у курчат протікає надгостро, гостро і хронічно, у молодняку цесарок – в легкій формі (без виникнення хронічних форм). Клінічні ознаки аспергильозу птахів не характерні, що ускладнює прижиттєву діагностику хвороби. Отримані результати засвідчують, що розведення цесарок є більш вигідною справою, адже показник втрати молодняку є значно меншим ніж курчат і показник досягнення статевих зрілості для цесарок є також вищим.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Arné, P., Risco-Castillo, V., Jouvion, G., Le Barzic, C., & Guillot, J. (2021). Aspergillosis in Wild Birds. *Journal of Fungi*, 7, 241. DOI: 10.3390/jof7030241.
- Fischer, D., Van Waeyenbergh, L., Failing, K., Martel, A., & Lierz, M. (2018). Single Tracheal Inoculation of *Aspergillus fumigatus* Conidia Induced Aspergillosis in Juvenile Falcons (*Falco* Spp.). *Avian Pathology*, 47(1), 33–46. DOI: 10.1080/03079457.2017.1360470.
- Glare, T. R., Gartrell, B. D., Brookes, J. J., & Perrott, J. K. (2014). Isolation and Identification of *Aspergillus* Spp. from Brown Kiwi (*Apteryx mantelli*) Nocturnal Houses in New Zealand. *Avian Diseases*, 58(1), 16–24. DOI: 10.1637/10589-061013-Reg.1.
- Kang, H.-M., Jang, H.-J., Seo, M.-K., Lee, J.-W., & Na, K.-J. (2017). Psittacine Beak and Feather Disease, Budgerigar Fledgling Disease and Aspergillosis in an African Grey Parrot (*Psittacus erithacus*). *Journal of Veterinary Clinics*, 34(4), 310–312. DOI: 10.17555/jvc.2017.08.34.4.310.
- Kiser, P. K., Meritet, D. M., & Bildfell, R. J. (2018). *Aspergillus* Section Nigri-Associated Calcium Oxalate Crystals in an Eurasian Eagle Owl (*Bubo bubo*). *Case Reports in Veterinary Medicine*, 2018, 3807059. DOI: 10.1155/2018/3807059.
- Korniłowicz-Kowalska, T., & Kitowski, I. (2013). *Aspergillus fumigatus* and Other Thermophilic Fungi in Nests of Wetland Birds. *Mycopathologia*, 175(1-2), 43–56. DOI: 10.1007/s11046-012-9582-3.
- Latgé, J.-P., & Chamilos, G. (2019). *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis in 2019. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(1), e00140-18. DOI: 10.1128/CMR.00140-18.
- Melo, A. M., Stevens, D. A., Tell, L. A., Verissimo, C., Sabino, R., & Xavier, M. O. (2020a). Aspergillosis, Avian Species and the One Health Perspective: The Possible Importance of Birds in Azole Resistance. *Microorganisms*, 8(12), 2037. DOI: 10.3390/microorganisms8122037.
- Melo, A., Silva-Filho, R., Poester, V., von Groll, A., Fernandes, C., Stevens, D., Sabino, R., & Xavier, M. (2020b). Aspergillosis in Free-Ranging Aquatic Birds. *Medical Mycology Case Reports*, 28, 36–38. DOI: 10.1016/j.mmcr.2020.04.005.
- Meneau, I., Coste, A. T., & Sanglard, D. (2016). Identification of *Aspergillus fumigatus* multidrug transporter genes and their potential involvement in antifungal resistance. *Medical Mycology*, 54(6), 616–627. DOI: 10.1093/mmy/myw005.
- Nawrot, U., Wieliczko, A., Włodarczyk, K., Kurzyk, E., & Brillowska-Dąbrowska, A. (2019). Low frequency of itraconazole resistance found among *Aspergillus fumigatus* originating from poultry farms in Southwest Poland. *Journal De Mycologie Medicale*, 29(1), 24–27. DOI: 10.1016/j.mycmed.2018.12.005.
- Reed, K., Macgregor, S. K., Stidworthy, M. F., Denk, D., & Guthrie, A. (2020). The Isolation and Antimicrobial Sensitivity of *Aspergillus fumigatus* from Frozen Respiratory Tissues of Penguins from Zoological Collections in the United Kingdom, 2007–2018. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 51(3), 591–597. DOI: 10.1638/2019-0160.
- Savelieff, M. G., Pappalardo, L., & Azmanis, P. (2018). The Current Status of Avian Aspergillosis Diagnoses: Veterinary Practice to Novel Research Avenues. *Veterinary Clinical Pathology*, 47(3), 342–362. DOI: 10.1111/vcp.12644.
- Talbot, J. J., Thompson, P., Vogelnest, L., & Barrs, V. R. (2018). Identification of Pathogenic *Aspergillus* Isolates from Captive Birds in Australia. *Medical Mycology*, 56(8), 1038–1041. DOI: 10.1093/mmy/myx137.
- Vedova, R. D., Hevia, A., Vivot, W., Fernández, J., Córdoba, S. B., & Reynaldi, F. J. (2019). Aspergillosis in Domestic and Wild Birds from Argentina. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 56, e152460. DOI: 10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2019.152460.
- Wernery, U., Tsang, C.-C., Hebel, C., Damerau, A., Kinne, J., Cai, J.-P., Küspert, H., Chan, K.-F., Joseph, M., Xue, S., et al. (2018). Serodiagnosis of Aspergillosis in Falcons (*Falco* Spp.) by an Afmp1p-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Mycoses*, 61, 600–609. DOI: 10.1111/myc.12776.



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/nvlvet10617

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

UDC 340.134:599.735.51:632.2

Analysis of EU and Ukrainian legislation for the cattle welfare

H. V. Petkun[✉], V. V. Nedosekov

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

Article info

Received 13.04.2022

Received in revised form
16.05.2022

Accepted 17.05.2022

National University of Life and
Environmental Sciences of
Ukraine, Heroyiv Oborony Str., 15,
Kyiv, 03041, Ukraine.
Tel.: +38-093-070-90-82
E-mail: hanna-korol@ukr.net

Petkun, H. V., & Nedosekov, V. V. (2022). Analysis of EU and Ukrainian legislation for the cattle welfare. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 108–113. doi: 10.32718/nvlvet10617

“Animal welfare” – is a complex concept that characterizes the physical, mental, and natural state of animals at a given time and the ability to meet their needs. Animal welfare is a hallmark of the world of quality human nutrition and innovative livestock and is the basis for the sustainable development of society. The article aims to research and analyze the legislation on cattle welfare in the EU and Ukraine, highlight their strengths and weaknesses, and introduce proposals for better implementation of Ukrainian legislation in European norms. European legislation covers the welfare of animals during their life on the farm, the welfare during transport, and the welfare of animals during slaughter. This article analyzes in detail the following legal provisions: Directive 98/58/EC on the protection of animals kept for farming purposes, Council Directive 2008/119/EU establishing minimum standards for the protection of calves, Council Regulation 1/2005 covering standards for the transport of animals, Council Regulation № 1099/2009 on the protection of animals at the time of slaughter and ancillary recommendations such as the Council of Europe Recommendation on bovine animals and the OIE Standards for the Welfare of Dairy Cows. Currently, Ukrainian welfare legislation is represented by the Law on the Protection of Animals from Cruelty (2006) and the Law of Ukraine on Veterinary Medicine (1994). These laws do not cover the protection of animal welfare and do not meet modern requirements. In 2014, by signing an agreement with the EU on creating a deep and comprehensive free trade area, Ukraine committed to updating legislation in the animal welfare field and implementing it as much as possible to European standards. Only in 2021, a new law on veterinary medicine was adopted, which has a section on animal welfare and approved five requirements for animal welfare, but the main problem is that they came into force on 01.01.2026. Given that by 2023 the EU plans to improve its legislation in the field of animal welfare, there is a need to accelerate the implementation of the new Law on veterinary medicine in Ukraine. Also necessary are training for farmers to teach and explain new rules, develop a specific regulation with minimum standards for the welfare of cattle and cattle, review shortcomings, and organize discussions with scientists in the field of animal welfare to improve legislation, create a clear roadmap the Law.

Key words: animal welfare, dairy farming, veterinary legislation, productive animals.

Аналіз законодавства ЄС та України у сфері благополуччя великої рогатої худоби

Г. В. Петькун[✉], В. В. Недосєков

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

“Благополуччя тварин” – це комплексне поняття, яке характеризує фізичний, психічний і природний стан тварин в певний момент і можливість її задовольняти свої потреби. Благополуччя тварин є візитівкою у світ якісного харчування людей та інноваційного скотарства, а також основою сталого розвитку суспільства. Метою статті є дослідити та проаналізувати законодавство щодо благополуччя ВРХ в ЄС та в Україні, висвітлити його сильні та слабкі сторони, ввести пропозиції щодо кращої імплементації законодавства України до Європейських норм. Європейське законодавство охоплює благополуччя тварин під час їх життя на фермі, благополуччя під час транспортування і благополуччя тварин під час забою. В даній статті детально аналізуємо такі законодавчі положення: Директива 98/58/ЄС про захист тварин, які утримуються для сільськогосподарських цілей, Дирек-

тива Ради 2008/119/ЄС про встановлення мінімальних стандартів захисту телят, Положення Ради 1/2005 що охоплює стандарти щодо транспортування тварин, Регламент Ради ЄС № 1099/2009 про захист тварин під час забою та допоміжні рекомендації, такі як Рекомендація Ради Європи щодо великої рогатої худоби та Стандарти МЄБ щодо благополуччя дійних корів. В індексі захисту сільськогосподарських тварин (API), в якому країни оцінюються за критеріями благополуччя тварин, Україні поставлено низьку оцінку на рівні Китаю, Нігерії, Аргентини, Індонезії та Венесуели. В даний момент законодавство України у сфері благополуччя представлено законом про захист тварин від жорстокого поводження (2006 рік) і законом України про ветеринарну медицину (1994 рік). Дані закони не висвітлюють питання захисту благополуччя тварин і не відповідають сучасним вимогам. В 2014 році, підписуючи з ЄС угоду про створення поглибленої і всеохоплюючої зони вільної торгівлі, Україна взяла на себе зобов'язання найближчим часом оновити законодавство у сфері благополуччя тварин і максимально імплементувати його до європейських норм. Тільки у 2021 році було прийнято новий закон про ветеринарну медицину в якому є розділ щодо благополуччя тварин та затверджені 5 вимог до благополуччя тварин, однак основною проблемою є те, що вони вводяться в дію з 01.01.2026 р. Враховуючи те, що до 2023 року ЄС планує вдосконалити своє законодавство у сфері благополуччя тварин, є необхідність максимально пришвидшити впровадження нового закону про ветеринарну медицину в Україні. Також необхідними кроками є проведення тренінгів для фермерів з метою навчання та пояснення нових норм, розроблення специфічного положення з мінімальними стандартами для забезпечення благополуччя ВРХ та ДРХ, перегляд недоліків і організація обговорення з науковцями в сфері благополуччя тварин задля покращення законодавства, створення чіткої дорожньої карти даного закону.

Ключові слова: благополуччя тварин, молочне скотарство, ветеринарне законодавство, продуктивні тварини.

Вступ

За останні 40 років Європейський Союз прийняв низку необхідних законів, директив, положень щодо благополуччя тварин (Simonin & Gavinelli, 2019). Безперечно, дані зміни в законодавстві мають позитивний вплив і Європейський Союз має високі нормативні стандарти щодо благополуччя тварин (Broom, 2018). Законодавство ЄС щодо благополуччя тварин є достатньо розгалуженим і, крім законів ЄС, спрямованих на благополуччя сільськогосподарських тварин, охоплюють тварин що перебувають в зоопарках, тварин що використовуються в наукових цілях та в інших сферах.

Згідно з опитуванням у 2016 році, обізнаність людей щодо благополуччя тварин продовжує зростати і 94 % європейців погоджуються з важливістю благополуччя сільськогосподарських тварин (Broom, 2018). Виходячи з цього, часто саме тиск суспільства є рушійною силою щодо зміни законодавства у сфері благополуччя тварин.

У 2014 році Україна підписала з Європейським Союзом угоду створення поглибленої і всеохоплюючої зони вільної торгівлі у межах угоди про асоціацію. Це значно розширює горизонти в плані торгівельних можливостей, але й накладає певні зобов'язання, які необхідно виконати. Насамперед це зміна законодавства, його імплементация до європейських норм, введення більш суворого дотримання вимог та законів. 18 лютого 2021 року, більш ніж через 5 років після вступу угоди в силу, в Україні був виданий Наказ міністерства про наближення її законодавства щодо благополуччя тварин до вимог ЄС (Animal Welfare..., 2021).

Але дане законодавство теж не є вичерпним. Одні з найбільших його проблем – це подовжені строки імплементации, невідповідність посилань на нормативно-правову базу, дозвіл на застосування антибіотиків без суворого тестування та відсутність механізмів контролю виконання вимог даного закону (Animal Welfare..., 2021).

Саме тому дослідження, аналіз та розуміння Європейського Законодавства в забезпеченні благополуччя тварин зараз є актуальним для України, а досвід Єв-

ропейського Союзу може стати основою для розвитку сталого тваринництва в Україні.

Результати та їх обговорення

1. Законодавство ЄС в сфері благополуччя тварин

В ЄС доволі велика популяція сільськогосподарських тварин. У 2018 році стада ЄС нараховували 87 мільйонів ВРХ, 147 мільйонів свиней, близько 100 мільйонів овець і кіз, 290 мільйонів курей-несучок і незліченну кількість курчат та інших видів тварин, від кроликів до коней (Rossi, 2020). Звичайно, ці тварини потребують захисту з боку законодавства ЄС.

Аналізуючи законодавство ЄС щодо благополуччя тварин, його можна умовно поділити на три групи: а) благополуччя тварин під час їхнього життя на фермі, б) благополуччя під час транспортування і в) благополуччя під час забою. Загалом сільськогосподарська діяльність регулюється однією загальною директивою, яка своєю чергою охоплює всі види тварин, і чотирма директивами, що є специфічними для певного виду тварин (телята, свині, кури-несучки, бройлери). Дані директиви встановлюють мінімальні стандарти щодо утримання, годівлі, розмноження. Своєю чергою транспортування та забій охоплюється правилами, що є спільними для всіх держав-членів ЄС. Даний комплекс створювався поступово і мав на меті вирішення найбільших проблем інтенсивного тваринництва.

1.1. Директива 98/58/ЄС

Метою директиви 98/58/ЄС (захист тварин, які утримуються для сільськогосподарських цілей) є встановлення загальних правил щодо охорони сільськогосподарських тварин незалежно від виду. Дана директива заснована на концепції 5 свобод тварин, що була розроблена британською Радою з благополуччя сільськогосподарських тварин (FAWC) у 1979 році, і спочатку застосовувалася для оцінки благополуччя сільськогосподарських тварин в системах інтенсивного тваринництва.

Статтями директиви 98/58/ЄС регулюються основні положення щодо життя тварини на фермі, а саме:

Персонал: за тваринами має доглядати достатня кількість персоналу, який має відповідні професійні навички, знання та компетенцію.

Інспекції: всі тварини, які утримуються, повинні бути перевірені принаймні один раз на день. Пораненим або хворим тварин необхідно негайно надати допомогу та, якщо необхідно, ізолювати у відповідних приміщеннях.

Ведення записів: власник або утримувач тварин повинен вести облік будь-якого лікування протягом щонайменше трьох років.

Свобода пересування: всім тваринам, навіть якщо вони прив'язані, прикуті або обмежені, має надаватися достатньо місця для пересування без зайвих страждань або травм.

Будинки та житло: матеріали, що використовуються при будівництві приміщень повинні піддаватися очищенню та дезінфекції. Циркуляцію повітря, рівень запиленості, температуру та відносну вологість слід підтримувати в допустимих межах. Тварин, які утримуються в будівлях, не можна тримати в постійній темряві або постійно піддавати штучному освітленню.

Автоматичне або механічне обладнання: обладнання, необхідне для здоров'я та благополуччя тварин, повинно перевірятися принаймні один раз на день. Якщо використовується система штучної вентиляції, повинна бути встановлена відповідна резервна система, щоб гарантувати достатнє оновлення повітря.

Корм, вода та інші речовини: тваринам необхідно давати повноцінний і відповідний раціон, годувати їх у достатній кількості та через регулярні проміжки часу. Усі інші речовини заборонені, крім випадків, коли вони даються в лікувальних або профілактичних цілях або з метою лікування. Крім того, обладнання для годування та напування повинно мінімізувати ризики забруднення.

Методи вирощування: методи вирощування, які спричиняють страждання або травми, не повинні використовуватися, якщо їх вплив не є мінімальним, короточасним або прямо дозволеним національними органами влади ([Council Directive 98/58/EC, 1998](#)) Жодну тварину не можна утримувати на фермі, якщо це завдає шкоди її здоров'ю чи благополуччю.

Варто зазначити, що всі країни ЄС ратифікували Європейську конвенцію про захист тварин, які утримуються для сільськогосподарських цілей. Кожні 5 років Комісія повинна звітувати перед Радою про виконання цієї директиви з пропозиціями щодо покращення, якщо це необхідно. Рада приймає цей звіт кваліфікованою більшістю голосів. Разом з тим країнам ЄС дозволяється зберігати або вводити більш суворі положення щодо цієї директиви.

Перевірки дотримання директиви проводяться компетентними національними органами, які своєю чергою звітують перед Європейською комісією, що використовує звіти для формування пропозицій щодо гармонізації інспекцій. У разі необхідності ветеринарні експерти з Комісії можуть спільно з компетентними органами перевірити, що держави-члени дотримуються зазначених вимог, або проводити перевірки на місці, щоб переконатися, що перевірки проводяться відповідно до цієї директиви ([Council Directive 98/58/EC, 1998](#)).

У ЄС благополуччя дійних корів охоплюється лише даною директивою. Зокрема, вона передбачає, що

“держави-члени повинні забезпечити, щоб власники або утримувачі вжили усіх розумних заходів для забезпечення благополуччя тварин, які перебувають під їхньою опікою, і для того, щоб цій тварині не завдавали болю, страждань або травм”. Формулювання накладає юридичні обов'язки на держав-членів та своєю чергою – на власників і утримувачів дійних корів. Зрештою, для кращого благополуччя дійних корів у ЄС буде необхідне законодавство про конкретні види ([Nalon & Stevenson, 2019](#)).

Федерація ветеринарів Європи у 2019 році заклала “законодавство ЄС про благополуччя молочних корів досягти мінімальних стандартів для дійних корів у всьому Європейському Союзі, подібно до законодавства ЄС про захист птиці та свиней щодо окремих видів” ([Federation of Veterinarians of Europe, 2019](#)).

1.2. Рекомендація Ради Європи щодо великої рогатої худоби, прийнята Постійним комітетом Європейської конвенції про захист тварин, що утримуються для сільськогосподарських цілей

Важливим джерелом щодо благополуччя дійних корів є Рекомендації щодо великої рогатої худоби, прийняті Постійним комітетом Європейського Союзу ([Council of Europe, 2019](#)) На веб-сайті Європейської комісії зазначено: “Конвенція Ради Європи про захист тварин, що утримуються для сільськогосподарських цілей, та її рекомендації були ратифіковані ЄС і, таким чином, є частиною права Союзу” ([European Commission, 2019](#)).

Європейська комісія також заявила, що положення, викладені в рекомендації Ради Європи щодо ВРХ необхідно “застосовувати на молочних господарствах у межах ЄС” ([Commissioner Borg, 2013](#)) Рекомендація Ради Європи містить положення для всіх категорій великої рогатої худоби (телочки, дійні корови, бикоплідники та бички на відгодівлі, телята) види ([Nalon & Stevenson, 2019](#)). Так, дані ключові положення, за умови їх дотримання, можуть призвести до значних переваг для благополуччя в молочному секторі ЄС.

1.3. Стандарти МЄБ щодо благополуччя дійних корів

У 2015 році Всесвітня організація охорони здоров'я тварин (МЄБ) прийняла стандарти щодо благополуччя дійних корів ([World Organization for Animal Health, 2019](#)) Вони не є обов'язковими, проте більшість фермерів, що турбуються про благополуччя своїх корів, дотримуються їх. Дані стандарти включають умови для безпечного, природного, комфортного та здорового життя дійної корови.

1.4. Директива Ради 2008/119/ЄС

Директива Ради 2008/119/ЄС про встановлення мінімальних стандартів захисту телят була прийнята в 1991 році. Її вимоги зосереджені на стандартах розміщення, зокрема на запровадженні групового утримання телят віком від восьми тижнів. Дана директива була розроблена у відповідь на вирощування телят для отримання “білого” м'яса. До прийняття директиви телят все життя утримували в окремих стійлах, без освітлення і з дуже бідним раціоном. З цих причин в директиві чітко прописані мінімальні стандарти щодо

утримання та годівлі телят ([Council Directive 2008/119/EC, 2008](#)).

У 2019 році понад 1,6 мільярда живих тварин (овець, великої рогатої худоби, птиці та свиней) було перевезено територією ЄС та за його межі ([Rojek, 2021](#)) Положення Ради 1/2005 набрало чинності в січні 2007 року і охоплює правила та стандарти щодо транспортування тварин. Це положення являє собою комплексний законодавчий акт який поширюється на всіх хребетний тварин, що перевозяться у зв'язку з господарською діяльністю. Адміністративні вимоги включають певні зобов'язання для перевізників тварин, а саме бути авторизованими та мати свідоцтва про кваліфікацію для водіїв. Для подорожей, що тривають понад вісім годин створюється журнал транспортування ([Simonin & Gavinelli, 2019](#)).

Положенням встановлюється ряд обмежень коли тварин забороняється транспортувати. До таких тварин належать хворі та слабкі тварини, самки на останньому місяці вагітності, новонароджені тварини, тварини, що не можуть пересуватися без допомоги. Для подорожей, які тривають понад вісім годин, існують додаткові правила, оскільки такі тривалі подорожі становлять підвищений ризик для благополуччя тварин. Транспортні засоби, що перевозять основні види сільськогосподарських тварин (коні, ВРЗ, ДРХ, свині), повинні бути обладнані системою вентиляції, системою водозабезпечення, контролем температури і супутниковою навігаційною системою. Згідно з даною Постановою жодна тварина не повинна транспортуватися таким способом, що може заподіяти їй травми або непотрібні страждання. Дана Постанова є вичерпною і регулює основні моменти задля забезпечення благополуччя тварин під час їх транспортування ([Council Regulation \(EC\) No 1/2005, 2004](#)).

Оцінка впливу даного положення була проведена Комісією у 2011 році. Комісія дійшла висновку, що положення мало позитивний вплив на благополуччя під час транспортування, але є простір для вдосконалення.

Було зазначено, що забезпечення виконання постанови порушується частково через різне тлумачення державами вимог. Наявна інформація свідчить про повторення певних порушень, а саме: перевезення хворих, слабких тварин, перевантаження транспортних засобів, перевезення тварин у транспортних засобах невідповідних розмірів, недостатня кількість води під час перевезень, збільшення максимально допустимого часу подорожі. Подібні зауваження висловила Європейська палата аудиторів у 2018 році стосовно виконання законодавства щодо благополуччя тварин. У 2020 році в стратегії “Farm to Fork” було оголошено про намір переглянути законодавство щодо благополуччя тварин, включаючи законодавство про транспортування тварин, з метою його узгодження з новітніми науковими дослідженнями, розширюючи його сферу дії, полегшуючи його виконання і, в кінцевому підсумку, забезпечуючи вищий рівень благополуччя ([Rojek, 2021](#)).

1.5. Регламент Ради ЄС № 1099/2009

Регламент Ради ЄС № 1099/2009 про благополуччя тварин під час забою описує низку вимог щодо благо-

получчя тварин, яким повинні відповідати всі заклади, внесені до списку ЄС. Він набув чинності з 1 січня 2013 року і включає структурні, неструктурні та інші вимоги, пов'язані з компетентністю та навчанням персоналу. В даному регламенті прописані вимоги щодо оглушення (методів та перевірок) інструкції стосовно використання обладнання для фіксації, розміщення споруджень, обладнання на бійнях та поводження з тваринами.

Згідно з регламентом, оглушення тварин перед забоєм є обов'язковим, зі списком дозволених методів оглушення, залежно від виду тварини. Проте забій без оглушення дозволяється в контексті ритуального забою за умови, що воно відбувається на бійні. Очікується, що на бійнях буде створено та запроваджено систему моніторингу для перевірки ефективності процесу оглушення. Персонал, що працює на бійні повинен підтвердити свою компетентність. Регламент передбачає роботу інспектора з охорони тварин на кожній бійні задля допомоги працівникам дотримуватись регламентованих вимог.

Разом з тим регламент вимагає, щоб м'ясо, що імпортується в ЄС, супроводжувалось відповідним сертифікатом, який засвідчує виконання вимог, еквівалентних вимогам ЄС. Згідно з регламентом будь-яка тварина під час забою або пов'язаних з ним операцій повинна якомога меншою мірою відчувати страх, фізичний чи моральний біль ([Council Regulation \(EC\) No 1099/2009, 2009](#)).

2. Законодавство України в сфері благополуччя тварин

В індексі захисту сільськогосподарських тварин, в якому країни оцінюються за критеріями благополуччя тварин, Україні привласнений рейтинг “Е” ([Animal Protection Index, 2020](#)). Це дуже низька оцінка, на рівні оцінки таких країн, як Китай, Нігерія, Аргентина, Індонезія та Венесуела.

В Україні нововведення правової реформи розпочалися 21 лютого 2006 року прийняттям Закону «Про захист тварин від жорстокого поводження». Незважаючи на цю позитивну законодавчу базу, органи влади все ще не прийняли підзаконних актів, необхідних для виконання обов'язків. Таким чином, прийняття цього закону не спричинило суттєвих зрушень у сфері благополуччя тварин ([Animal Welfare..., 2021](#)).

Закон про захист тварин від жорстокого поводження охоплює сільськогосподарських, домашніх та диких тварин, а також лабораторних, зоопаркових та циркових тварин. Даний закон має на меті не тільки захист від жорстокого поводження, а й зобов'язує власників забезпечити тваринам їх біологічні та видоспецифічні потреби. Норм і вимог закону недостатньо для забезпечення встановлення та дотримання благополуччя тварин. На жаль, з 2017 по 2020 роки в закон не вносилися зміни, незважаючи на швидкі зміни суспільних відносин, навколишнього середовища та тваринного світу ([Liubchych et al., 2020](#)).

Міжнародно-правова база щодо благополуччя тварин засновується на принципах благополуччя і захисту тварин ([Voelkl et al., 2020](#)). Проте у загальних положеннях даного закону таке визначення відсутнє.

У Законі “Про ветеринарну медицину”, що був прийнятий 1994 р., є лише одна стаття, яка висвітлює вимоги щодо власне питання благополуччя тварин, а саме: забезпечення тварин якісними та безпечними кормами і водою; застосування профілактичних ветеринарно-санітарних заходів щодо здоров'я тварин; використання ветеринарних препаратів згідно з вказівками лікаря ветеринарної медицини; недопущення жорстокого поводження з тваринами; забезпечення належних транспортних засобів для переміщення тварин. Проте дані вимоги є дуже нечіткими і можуть тлумачитись по-різному. Даний закон багато років не оновлювався, тому є максимально не адаптованим до умов сучасності.

У червні 2014 року ЄС та Україна підписали угоду про створення поглибленої і всеохоплюючої зони вільної торгівлі (ПВ ЗВТ) в межах угоди про асоціацію. Дана угода містить важливе положення щодо співробітництва в галузі розвитку сільського господарства та сільських територій, яке заохочує використання сталих методів з урахуванням благополуччя тварин. Це є визнанням міцного зв'язку між сталим розвитком і благополуччям сільськогосподарських тварин. Угода вимагає від України наближення її законодавства про благополуччя тварин до законодавства ЄС. Вона також вимагає, щоб ЄС та Україна узгодили графік такого наближення законодавства не пізніше ніж через 3 місяці з дати вступу цієї угоди у силу. Сторони формально погодили цей документ лише у жовтні 2019 року, більш ніж три роки після вступу цієї угоди в силу. Цей графік містить терміни лише прийняття специфічних законодавчих інструментів, а не їх імплементації. Згідно з цим документом, Україна повинна була узгодити весь обсяг законів про благополуччя тварин до 2019 року. Ці терміни не були дотримані ([Animal Welfare..., 2021](#)).

Тільки у лютому 2021 року був прийнятий новий Закон “Про ветеринарну медицину”. Документ має на меті удосконалити законодавство України в галузі ветеринарної медицини і визначає основні засади забезпечення благополуччя тварин під час утримання, передбачає відповідальність операторів ринку за порушення вимог законодавства про ветеринарну медицину та благополуччя тварин. Статті цього закону містять вимоги щодо утримання, розведення, годівлі, транспортування і забою тварин, цим самим наближуючи законодавство України до законодавства ЄС.

В офіційному супроводі документу зазначається, що закон вводиться в дію через два роки з набрання чинності. Але за даними Eurogroup for animals цей текст передбачає продовження строку імплементації аж до 2026 року.

Також у 2021 році Міністерством розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України були розроблені вимоги щодо утримання певних видів тварин (бройлери, кури-несучки, свині і телята). Дані вимоги фактично дублюють вимоги ЄС і є дуже важливими в рамках виконання умов угоди поглибленої і всеохоплюючої зони вільної торгівлі.

Вимоги до благополуччя телят під час їх утримання встановлюють мінімальні потреби до умов утримання телят, включаючи відгодівлю і догляд за ними. Слаб-

кою стороною вимог, як і закону, є те, що вони не застосовуються до господарств, що тримають менше ніж 10 голів тварин. Тобто благополуччя тварин на подібних господарствах досі лишається під загрозою.

Висновки

Законодавство ЄС щодо захисту благополуччя тварин охоплює благополуччя під час утримання тварин, їх транспортування і забою. Незважаючи на широкий спектр законодавчих положень, воно не є достатнім. Це викликає занепокоєння, особливо у світлі результатів доповіді ([European Commission, 2020](#)) про благополуччя тварин, підготовлених парламентом для Комітету з петицій Європейського парламенту Генерального директорату з питань внутрішньої політики про те, що “благополуччя дійних корів може вважатися однією з найбільших проблем благополуччя тварин в ЄС” ([Nalon & Stevenson, 2019](#)).

Вирішенню проблем благополуччя в молочному секторі ЄС певною мірою перешкоджає відсутність специфічного для видів законодавства щодо благополуччя дійних корів. Як перший крок Європейська комісія повинна розробити офіційну рекомендацію щодо кроків, які молочні фермери повинні вжити для запобігання та лікування кульгавості або маститу як частини їх юридичного обов'язку “вживати всіх розумних заходів для забезпечення благополуччя” та уникнення непотрібного болю, страждань або травм, про що йдеться в Директиві 98/58 ([Nalon & Stevenson, 2019](#)).

У 2020 році в стратегії “Farm to Fork” було оголошено про намір переглянути законодавство ЄС щодо благополуччя тварин. Комісія планує переглянути такі законодавчі акти: Директиву з благополуччя тварин, які утримуються для сільськогосподарських цілей, 4 директиви, що встановлюють мінімальні стандарти для благополуччя курей-несучок, бройлерів, свиней, телят, Положення про охорону тварин під час транспортування і забою.

Дана ініціатива є дуже ґрунтовною і включатиме аналіз діючого законодавства, відкриті громадські обговорення, розробку наукових висновків щодо благополуччя тварин і як результат – оновлене і більш дієве законодавство в сфері благополуччя. Перегляд законодавства розширить сферу його застосування, спростить його виконання і в кінцевому підсумку забезпечить вищий рівень благополуччя тварин в ЄС.

В червні 2014 року ЄС та Україна підписали угоду про створення поглибленої і всеохоплюючої зони вільної торгівлі (ПВ ЗВТ) у межах угоди про асоціацію ([Animal Welfare..., 2021](#)). Дана угода передбачає максимальне наближення законодавчих норм України до законодавства ЄС у сфері благополуччя тварин.

18 лютого 2021 року, більш ніж через 5 років після вступу угоди в силу, в Україні був виданий Наказ міністерства про наближення її законодавства про благополуччя тварин до стандартів ЄС. Проте в українському законодавстві, очевидно, наявні слабкі сторони, насамперед стосовно того, що нові правила вводяться лише у 2026 році.

До інших недоліків можна зарахувати відсутність механізмів контролю та оновлення законодавства,

поширення законодавства на ферми з кількістю голів тварин більше ніж 10, дозвіл застосування лікарських засобів без необхідності суворого тестування, відсутність детального опису стандартів щодо електричного обладнання для оглушення, недостатня проінформованість та навчання фермерів, щоб якнайкраще дотримуватись законодавства і в результаті – підвищити рівень благополуччя тварин.

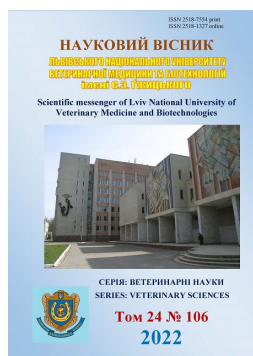
Враховуючи всі факти, до 2023 року ЄС змінить те законодавство у сфері благополуччя тварин, до якого у 2026 році Україна тільки планує наблизитись. Виходячи з цього, зараз Україні необхідно здійснити радикальні кроки, а саме: якнайшвидше ввести в дію закон про ветеринарну медицину, провести тренінги для фермерів з метою навчання та пояснення нових норм, розробити специфічне положення з мінімальними стандартами для забезпечення благополуччя для ВРХ та ДРХ, переглянути недоліки і організувати обговорення з науковцями в сфері благополуччя тварин задля удосконалення законодавства, створити чітку дорожню карту даного закону.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Animal Protection Index (API) 2020. World animal protection. URL: https://api.worldanimalprotection.org/sites/default/files/api_2020_-_ukraine_0.pdf.
- Animal Welfare in the implementation of the EU-Ukraine DCFTA (2021). Eurogroup for Animals, 1–20. URL: https://www.eurogroupforanimals.org/files/eurogroupforanimals/2021-09/2021_05_11_Animal%20welfare%20in%20the%20implementation%20of%20the%20EU-Ukraine%20DCFTA.pdf.pdf.
- Broom, D. M. (2018). Animal welfare and international trade. In: The Key Role of Animal Welfare Science in the Development of Green Agriculture.
- Council Directive 2008/119/EC of 18 December 2008 laying down minimum standards for the protection of calves. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2008/119/oj>.
- Council Directive 98/58/EC of 20 July 1998 concerning the protection of animals kept for farming purposes. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/1998/58/oj>.
- Council of Europe. Recommendation Concerning Cattle Adopted by the Standing Committee on 21 October 1988.
- Council Regulation (EC) No 1/2005 of 22 December 2004 on the protection of animals during transport and related operations and amending Directive 64/442/EEC and 93/119/EC and Regulation (EC) No 1255/97 (OJ L 3, 5.1.2005, p. 1).
- Council Regulation (EC) No 1099/2009 of 24 September on the protection of animals at the time of killing (OJ L 303, 18.11.2009, p. 1).
- European Commission (2019). Animal Welfare on the Farm. Cattle. URL: https://ec.europa.eu/food/animals/welfare/practice/farm/cattle_en.
- European Parliament (2017). Directorate-General for Internal Policies, Policy Department C, Citizens' Rights and Constitutional Affairs. Animal Welfare in the European Union; Study for the PETI Committee; European Parliament: Brussels, Belgium. URL: [http://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/STUD/2017/583114/IPOL_STU\(2017\)583114_EN.pdf](http://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/STUD/2017/583114/IPOL_STU(2017)583114_EN.pdf).
- Federation of Veterinarians of Europe (FVE) FVE Position on the Welfare of Dairy Cows: Lameness [(accessed on 11 October 2019)]. URL: https://www.fve.org/cms/wp-content/uploads/002-FVE-position-cattle-lameness_adopted.pdf.
- Letter Dated 16 December 2013 from Commissioner Borg in Response to an Open Letter Dated 23 October 2013 Presented by Petitioners from the “Supporting Better Dairy” Campaign.
- Liubchych, A., Arjumend, H., Daria, P., & Savchuk, O. (2020). Analysis of Ukrainian National Legislation and European Union Standards on Animal Use for Scientific Purposes: Directions and Prospects. *Grassroots Journal of Natural Resources*, 3(3), 46–55. DOI: 10.33002/nr2581.6853.03034.
- Nalon, E. & Stevenson, P. (2019). Protection of Dairy Cattle in the EU: State of Play and Directions for Policymaking from a Legal and Animal Advocacy Perspective. *Animals*, 9(12), 1066. DOI: 10.3390/ani9121066.
- Nedosekov, V. V., & Petkun, H. V. (2021). Blahopoluchchia tvaryn molochnoho stada. *Naukovi dopovidi NUBiP Ukrainy*, 4(92). DOI: 10.31548/dopovidi2021.04.011 (in Ukrainian).
- Nedosekov, V. V., Blakha, T., Sytiuk, M. P., Martyniuk, O. H., Melnyk, V. V., & Yustyniuk, V. Ye. (2021). Osnovy biobezpeky ta blahopoluchchia tvaryn [Basics of biosafety and animal welfare] Nizhyn, Ukraine (in Ukrainian).
- Rojek, B. (2021). Protection of animals during transport: Data on live animal transport. European Parliamentary Research Service (EPRS). URL: [https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/BRIE/2021/690708/EPRS_BRI\(2021\)690708_EN.pdf](https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/BRIE/2021/690708/EPRS_BRI(2021)690708_EN.pdf).
- Rossi, R. (2020). EU trade and transport of live animals. European Parliamentary Research Service (EPRS). URL: [https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/ATAG/2020/646170/EPRS_ATA\(2020\)646170_EN.pdf](https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/ATAG/2020/646170/EPRS_ATA(2020)646170_EN.pdf).
- Simonin, D., & Gavinelli, A. (2019). The European Union legislation on animal welfare: state of play, enforcement and future activities. *Animal Welfare: from Science to Law*, 59–70. URL: <https://www.fondation-droit-animal.org/proceedings-aw/the-european-union-legislation-on-animal-welfare>.
- Voelkl, B., Altman, N. S., Forsman, A., Forstmeier, W., Gurevitch, J., Jaric, I., Karp, N. A., Kas, M. J., Schielzeth, H., Van de Castele, T., & Würbel, H. (2020). Reproducibility of animal research in light of biological variation. *Nature Reviews Neuroscience*, 21, 384–393. DOI: 10.1038/s41583-020-0313-3.
- World Organization for Animal Health (OIE). Terrestrial Animal Health Code. Chapter 7.11: Animal Welfare and Dairy Cattle Production Systems. URL: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/current/chapitre_aw_dairy_cattle.pdf.



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/nvlvet10618

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

UDC 636.2:618.619. 615.015.4

The content of saturated fatty acids in the blood plasma of cows in the winter period depends on autonomic nervous regulation

I. A. Hryshchuk¹✉, V. I. Karpovskiy¹, O. V. Zhurenko¹, D. I. Kryvoruchko¹, B. V. 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 18.04.2022

Received in revised form

18.05.2022

Accepted 19.05.2022

National University of Life and
Environmental Sciences of
Ukraine, Heroiv Oborony Str., 15,
Kyiv, 03041, Ukraine.
Tel.: +38-050-519-05-41
E-mail: hitmane2012@gmail.com

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

Hryshchuk, I. A., Karpovskiy, V. I., Zhurenko, O. V., Kryvoruchko, D. I., & Gutyj, B. V. (2022). The content of saturated fatty acids in the blood plasma of cows in the winter period depends on autonomic nervous regulation. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 114–118. doi: 10.32718/nvlvet10618

The tone of the autonomic nervous system is one of the key systems of the nervous system in regulating homeostasis. In turn, this can affect the metabolism of organic substances in the animal's body, which is reflected in physiological indicators. The aim of the study was to determine the influence of the tone of the autonomic nervous system on the content of saturated fatty acids. Groups of animals were formed according to Baesky's method, according to which they were divided into three groups: normotonic, sympathotonic, and vagotonic. Blood was collected in winter. Chromatographic research revealed the following: caproic acid in normotonic (1.19 ± 0.01) is 0.15 % less compared to sympathotonic ($P \leq 0.01$) and 0.15 % more compared to vagotonic ($P \leq 0.001$). Caprylic acid is 0.28 % more in normotonic (1.19 ± 0.05) compared to sympathotonic ($P \leq 0.001$) and, comparing the indicators with the third group, 0.37 % more than vagotonic ($P \leq 0.001$). Lauric acid in normotonic (0.54 ± 0.03) is higher than vagotonic by 0.13 % ($P \leq 0.01$). Myristic acid has a lower percentage ratio in normotonic (2.62 ± 0.08) compared to sympathotonic by 0.30 % ($P \leq 0.001$). Palmitic acid is 2.95 % less in normotonic (17.59 ± 0.46) compared to vagotonic ($P \leq 0.001$). Arachidic acid has a lower percentage ratio in normotonic (0.21 ± 0.01) compared to sympathotonic by 0.08 % less ($P \leq 0.001$). Cows belonging to the normotonic group have the most saturated fatty acids: capric (1.19 ± 0.05), lauric (0.54 ± 0.03); and the least myristic (2.62 ± 0.08) and arachidic (0.21 ± 0.01). Animals belonging to the group of sympathotonic have the most saturated fatty acids: caproic (1.18 ± 0.04), myristic (2.92 ± 0.03) and arachidic (0.29 ± 0.01). Cows belonging to the group of vagotonic have the least saturated fatty acids: caproic (0.88 ± 0.01), capric (0.82 ± 0.03) and lauric (0.41 ± 0.01); the most palmitic acid (20.54 ± 0.16). Considering all factors, we can conclude that the tone of the autonomic nervous system in the body of cows plays an indirect role in the metabolism of saturated fatty acids in blood plasma. This can be facilitated by the influence of the departments of this nervous system, namely the sympathetic and parasympathetic nervous systems, which, depending on the peculiarities of the animal's physiological state, affect the body as a whole.

Key words: cows, autonomic nervous system, saturated fatty acids, metabolism, blood plasma.

Вміст насичених жирних кислот у плазмі крові корів у зимовий період залежно від автономної нервової регуляції

I. А. Гришук¹✉, В. І. Карповський¹, О. В. Журенко¹, Д. І. Криворучко¹, 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

Тонус автономної нервової системи є однією з ключових систем нервової системи у регулюванні гомеостазу. Своєю чергою це впливає на метаболізм органічних речовин в організмі тварини, що відображається у фізіологічних показниках. Метою дослідження

ня було визначити вплив тонусу автономної нервової системи на вміст насичених жирних кислот. Групи тварин формувалися за методикою за Баєвським, за якою були поділені на три групи: нормотоніки, симпатотоніки, ваготоніки. Відбір крові проводили у зимовий період. При хроматографічному дослідженні встановлено таке: капронової кислоти у нормотоніків ($1,19 \pm 0,01$) на 0,15 % менше порівняно з симпатотоніками ($P \leq 0,01$) та на 0,15 % більше порівняно з ваготоніками ($P \leq 0,001$). Каприлової кислоти у нормотоніків ($1,19 \pm 0,05$) порівняно з симпатотоніками на 0,28 % більше ($P \leq 0,001$) та, зіставляючи показники із третьою групою, на 0,37 % більше, ніж у ваготоніків ($P \leq 0,001$). Лауринової кислоти у нормотоніків ($0,54 \pm 0,03$) більше, ніж у ваготоніків, на 0,13 % ($P \leq 0,01$). Міристинова кислота має менше відсоткове відношення у нормотоніків ($2,62 \pm 0,08$) порівняно з симпатотоніками на 0,30 % ($P \leq 0,001$). Пальмітинової кислоти у нормотоніків ($17,59 \pm 0,46$) порівняно з ваготоніками на 2,95 % менше ($P \leq 0,001$). Арахінова кислота має менше відсоткове співвідношення у нормотоніків ($0,21 \pm 0,01$) порівняно з симпатотоніками на 0,08 % менше ($P \leq 0,001$). Корови, які належать до групи нормотоніків, мають найбільше насичених жирних кислот: капронової ($1,19 \pm 0,05$), лауринової ($0,54 \pm 0,03$); та найменше міристинової ($2,62 \pm 0,08$) і арахінової ($0,21 \pm 0,01$). Тварини, що належать до групи симпатотоніків, мають найбільше насичених жирних кислот: капронової ($1,18 \pm 0,04$), міристинової ($2,92 \pm 0,03$) та арахінової ($0,29 \pm 0,01$). Корови, що належать до групи ваготоніків, мають найменше насичених жирних кислот: капронової ($0,88 \pm 0,01$), капринової ($0,82 \pm 0,03$) та лауринової ($0,41 \pm 0,01$); найбільше пальмітинової кислоти ($20,54 \pm 0,16$). З урахуванням всіх факторів можна зробити висновок, що тонус автономної нервової системи в організмі корів відіграє опосередковану роль у метаболізмі насичених жирних кислот в плазмі крові. Цьому можуть сприяти вплив відділів даної нервової системи, а саме симпатична та парасимпатична нервова система, що залежно від особливостей фізіологічного стану тварини впливають на організм загалом.

Ключові слова: корови, автономна нервова система, насичені жирні кислоти, метаболізм, плазма крові.

Вступ

Вітчизняне тваринництво нині являє собою важливу галузь національної економіки, яка забезпечує задоволення потреб населення в продуктах харчування і переробну промисловість в сировині, створення необхідних державних резервів тваринницької продукції. Розглядаючи сучасне сільськогосподарське підприємство з виготовлення тваринної продукції, можна зробити висновок, що за тривалий час їх розвиток набув вагомих результатів. На продуктивність тварин впливає багато факторів, що сприяє своєю чергою формуванню питань щодо їх вивчення та запобігання негативних ефектів від них (Acharya et al., 2022).

Одним з таких питань є розгляд автономної нервової системи як фактора, що відіграє роль у метаболічних процесах в організмі тварини. Автономна нервова система, як вже нам відомо, поділяється на симпатичну та парасимпатичну нервову систему, які впливають на внутрішні процеси організму: кров'яний тиск, частоту серцевих скорочень та дихання, температуру тіла, процеси травлення, баланс води та електролітів, утворення біологічних речовин (піт, слина, слюзи), дефекацію та ін. (Stanković et al., 2021; Valensi, 2021). Парасимпатичний відділ нервової системи в організмі тварини переважає в період спокою, коли тварина перебуває у фізіологічно сталому положенні. В організмі протікають процеси відновлення та зберігання, накопичення і засвоєння енергії та утворення резервів. У серцево-судинній системі зменшується частота серцевих скорочень, знижується кров'яний тиск. У травній системі стимулюються процеси травлення поживних субстратів, з яких енергетичні продукти використовуються на живлення тканин і запасання (Messina et al., 2017; Kitajima et al., 2022).

Варто зауважити, що симпатична нервова система переважає в період впливу стресових факторів, що підготує тварину до дії надзвичайних обставин. В організмі підвищуються частота серцевих скорочень, підвищується кров'яний тиск, вивільняються енергетичні резерви, розширюються дихальні шляхи (Erdmann et al., 2018; Duan et al., 2021).

Як відомо, жирні кислоти є невід'ємною частиною організму людини і тварини. Завдяки даним сполукам

є можливість передачі нервових імпульсів, енергетичне живлення клітин, синтез певних гормонів і ліпідів, синтез модифікованих білків, запасання енергетичних резервів за допомогою синтезу триацилгліцеридів. Споживаючи поживні субстрати, в організм вивільняється певна кількість вільних жирних кислот (Cheng et al., 2021; Mlynec et al., 2021; Tilahun et al., 2022). В кровотоці вони захоплюються білками та надходять у клітину. В плазмі активується ацил-КоА, жирні кислоти надходять в мітохондрії, де перетворюються в АТФ. Надмірне накопичення вільних жирних кислот токсичне для організму, для запобігання цьому вони зв'язуються з гліцерином з утворенням триацилгліцериду, який потім використовується як енергетичний резерв (Tessari et al., 2020; Mylostyvyi et al., 2021; Kra et al., 2021).

Переважно жирні кислоти розщеплюються для живлення та функціонування організму. Підвищення використання жирних кислот пропорційно впливу навантаження, стресу та ін. Сталість вільних жирних кислот в організмі постійно коливається (Lymperopoulos et al., 2022; Vanacker et al., 2022). Цьому може посприяти вплив автономної нервової системи, що буде розглянуто в даній статті.

Метою дослідження було визначити вплив тонусу автономної нервової системи на вміст насичених жирних кислот в плазмі крові корів у зимовий період залежно від автономної нервової регуляції.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на коровах української чорно-рябої породи 3–4 лактації. Типи автономної регуляції визначали за рахунок визначення стану серцево-судинної системи за Баєвським. Суть методу полягає у тому, що тварині проводять електрокардіограму (ЕКГ), після цього визначають моду в діапазоні значень кардіоінтервалу, потім формують групи тварин (3 групи): нормотоніки – тип нервової діяльності з урівноваженою дією симпатичної і парасимпатичної нервової систем; симпатотоніки – тип нервової діяльності, де симпатична нервова система переважає над парасимпатичною; ваготоніки – тип нервової діяльно-

сті, де парасимпатична нервова діяльність переважає над симпатичною.

Матеріалом для дослідження слугували зразки крові, отримані з яремної вени зранку перед годівлею. Кров стабілізували гепарином, плазму отримували центрифугуванням.

Екстракцію ліпідів з плазми крові проводили за методом Фолча (Folch et al., 1957). Наступним етапом підготовки проб було проведення гідролізу та метилювання жирних кислот ліпідів, отриманих з плазми крові. Для цього до 100 мг отриманого жиру додавали 4 см³ метилового розчину гідроксиду натрію, приєднували зворотний холодильник до колби з вмістом і кип'ятили до зникнення крапель жиру, помішуючи вміст колби з інтервалом 30–60 секунд. До вмісту колби додавали 5 см³ метилового розчину трифториду бору, продовжуючи кип'ятіння до 1 год. У киплячу суміш через верхню частину зворотного холодильника додавали 3 см³ гексану та знімали з елемента нагрівання. До ще гарячого розчину додавали 20 см³ насиченого розчину хлориду натрію і перемішували 15 секунд. Відбирали верхній (гексановий) шар для дослідження (Sinyak et al., 1976).

Аналіз метилових ефірів жирних кислот проводили на газовому хроматографі Trace GC Ultra (США) з полум'яно-іонізаційним детектором. Умови хроматографування: температура колонки – 140–240 °С, температура детектора – 260 °С. Проба у хроматограф вводилася за допомогою автосамплера TriPlus в дозі

1 мкл. Тривалість аналізу складала 65 хв. Ідентифікування жирних кислот проводили за допомогою стандартного зразка Supelco 37 Component FAME Mix. Кількісну оцінку спектру жирних кислот ліпідів жовтків здійснювали методом внутрішньої нормалізації, визначаючи їх вміст у відсотках. Дослідження проводили у 3-х паралелях.

Експериментальні дослідження узгоджуються з основними принципами “Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1986) та декларації “Про гуманне ставлення до тварин” (Гельсінкі, 2000).

Статистичну обробку експериментальних даних проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Вірогідність різниці показників оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Відмінності між показниками, що порівнювались, вважали вірогідними за рівня значущості $P \leq 0,05$, $P \leq 0,01$, $P \leq 0,001$.

Результати досліджень

Показники плазми крові насичених жирних кислот, отримані за допомогою хроматографічного дослідження, були в межах норми. Серед отриманих результатів дослідних груп корів коливалися показники капронової, капринової, лауринової, міристинової, пальмітинової та арахінової кислот (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст насичених жирних кислот у плазмі крові корів у зимовий період ($M \pm m$)

НЖК	Нормотонік	Симпатотонік	Ваготонік
Капронова C6:0	1,03 $\pm$ 0,01	1,18 $\pm$ 0,04**	0,88 $\pm$ 0,01***
Каприлова C8:0	0,78 $\pm$ 0,13	0,80 $\pm$ 0,01	0,65 $\pm$ 0,01
Капринова C10:0	1,19 $\pm$ 0,05	0,91 $\pm$ 0,01***	0,82 $\pm$ 0,03***
Лауринова C12:0	0,54 $\pm$ 0,03	0,51 $\pm$ 0,01	0,41 $\pm$ 0,01**
Міристинова C14:0	2,62 $\pm$ 0,08	2,92 $\pm$ 0,03**	2,75 $\pm$ 0,01
Пентадеканова C15:0	0,33 $\pm$ 0,03	0,31 $\pm$ 0,01	0,33 $\pm$ 0,01
Пальмітинова C16:0	17,59 $\pm$ 0,46	18,04 $\pm$ 0,16	20,54 $\pm$ 0,16***
Арахінова C20:0	0,21 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,01***	0,22 $\pm$ 0,01

Примітка: * $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$ – щодо даних групи нормотоніків; дані представлено як масова частка жирної кислоти у % від суми жирних кислот

Порівняння отриманих результатів виконувалося на основі дослідної групи нормотоніків, оскільки у даних тварин відділи автономної нервової системи (симпатична та парасимпатична) впливають рівномірно на організм. З урахуванням цього було проаналізовано дані хроматографічного дослідження, на основі яких було виявлено:

- Капронової кислоти у нормотоніків (1,19 $\pm$ 0,01) на 0,15 % менше порівняно з симпатотоніками ($P \leq 0,01$) та на 0,15 % більше порівняно з ваготоніками ($P \leq 0,001$).
- Каприлової кислоти у нормотоніків (1,19 $\pm$ 0,05) порівняно з симпатотоніками на 0,28 % більше

($P \leq 0,001$) та зіставляючи показники із третьою групою – на 0,37 % більше, ніж у ваготоніків ($P \leq 0,001$).

- Лауринової кислоти у нормотоніків (0,54 $\pm$ 0,03) більше, ніж у ваго тоніків, на 0,13% ($P \leq 0,01$).
- Міристинова кислота має менше відсоткове відношення у нормотоніків (2,62 $\pm$ 0,08) порівняно з симпатотоніками на 0,30 % ($P \leq 0,001$).
- Пальмітинової кислоти у нормотоніків (17,59 $\pm$ 0,46) порівняно з ваготоніками на 2,95 % менше ($P \leq 0,001$).
- Арахінова кислота має менше відсоткове співвідношення у нормотоніків (0,21 $\pm$ 0,01) порівняно з симпатотоніками на 0,08 % менше ($P \leq 0,001$).

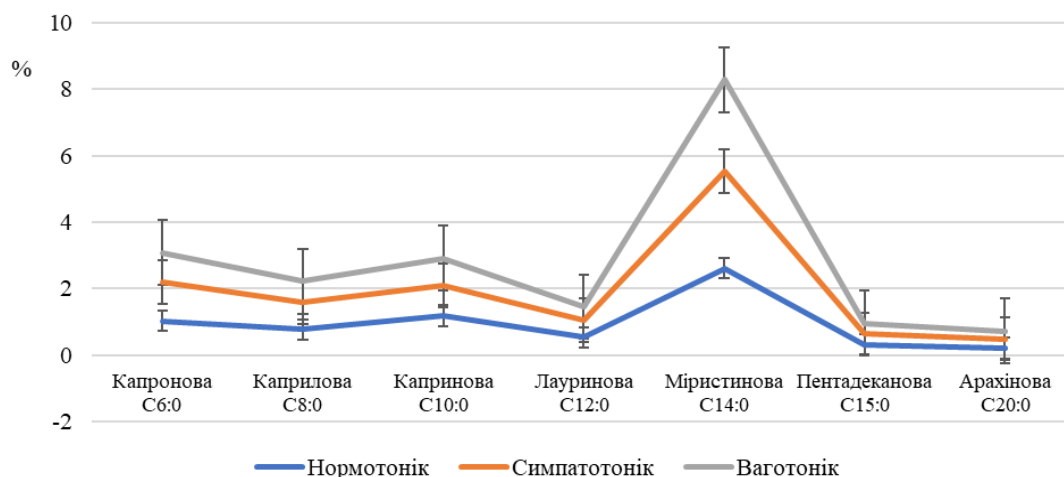


Рис. 1. Вміст насичених жирних кислот у плазмі крові корів за різного тонусу автономної нервової системи

Також варто зазначити, що нормотоніки мають найбільші показники насичених жирних кислот, таких як капринова ($1,19 \pm 0,05$), лауринова ($0,54 \pm 0,03$) та найменшу кількість міристинової ($2,62 \pm 0,08$) та арахінової ($0,21 \pm 0,01$). Симпатотоніки мають найбільше капронової ($1,18 \pm 0,04$), міристинової ($2,92 \pm 0,03$) та арахінової кислот ($0,29 \pm 0,01$). Ваготоніки мають найменше капронової ($0,88 \pm 0,01$), капринової ($0,82 \pm 0,03$), лауринової ($0,41 \pm 0,01$) та найбільше пальмітинової кислоти ($20,54 \pm 0,16$).

Обговорення

Автономна нервова система в організмі людини і тварини має певний вплив у регулюванні метаболічних процесів. Пояснити це можна на прикладі передачі нервового імпульсу від шлунково-кишкового тракту до ядра одинокого шляху довгастого мозку. Наприклад, описати опосередковану дію на метаболізм глюкози за рахунок іннервації аферентними волокнами воротної вени печінки, що вчені називають “гепатопортальним датчиком глюкози” (Imai et al., 2022).

Залежно від фізіологічного стану тварини в її організмі переважають процеси симпатичної або парасимпатичної нервової системи. Це своєю чергою несе певний вплив на процеси енергетичного обміну, синтезу та розщеплення речовин. Аналізуючи попередні дослідження, встановили, що одним з ключових механізмів в опосередкованому впливі на метаболізм глюкози і ліпідів є відділи автономної нервової системи. З боку симпатичної нервової системи здійснюється за рахунок іннервації печінки, жирової тканини, скелетних м’язів, виділення адреналіну та глюкагону. З боку парасимпатичної нервової системи – за рахунок виділення інсуліну та іннервації печінки (Straznicky et al., 2009).

На показники жирних кислот, в тому числі й насичених жирних кислот, в організмі корови впливають досить багато факторів, до яких можна зарахувати вік, період лактації, раціон, умови утримання, фізіологічні показники та ін. Це своєю чергою викликає багато питань і спонукає до вивчення даних процесів (Piccioli-Cappelli et al., 2022; Grille et al., 2022). В на-

шому випадку ми розглядаємо, яку роль тону автономної нервової системи відіграє в показниках насичених жирних кислот.

Проаналізувавши отримані дані щодо вмісту насичених жирних кислот у плазмі крові корів, спостерігаємо певну відмінність, а саме у капроновій, каприновій, лауриновій, міристиновій, пальмітиновій та арахіновій ($P \leq 0,05$, $P \leq 0,01$, $P \leq 0,001$). На основі цього можна сказати, що у даних дослідних групах корів тону автономної нервової системи може опосередковано впливати на вміст насичених жирних кислот, що відображається в отриманих результатах хроматографічного дослідження.

Висновки

За даними дослідженнями було встановлено, що нормотоніки мають найбільші показники насичених жирних кислот, таких як капринова ($1,19 \pm 0,05$), лауринова ($0,54 \pm 0,03$) та найменшу кількість міристинової ($2,62 \pm 0,08$) та арахінової ($0,21 \pm 0,01$); симпатотоніки – капронової ($1,18 \pm 0,04$), міристинової ($2,92 \pm 0,03$) та арахінової кислот ($0,29 \pm 0,01$), ваготоніки – капронової ($0,88 \pm 0,01$), капринової ($0,82 \pm 0,03$), лауринової ($0,41 \pm 0,01$) та найбільше пальмітинової кислоти ($20,54 \pm 0,16$).

Перспективи подальших досліджень. У перспективі планується провести дослідження вмісту насичених жирних кислот в плазмі крові корів у літній період залежно від автономної нервової регуляції.

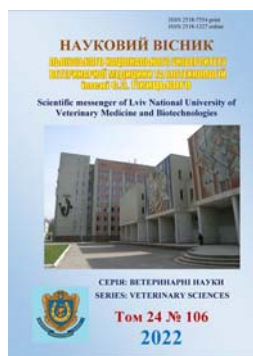
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Acharya, R. Y., Hemsworth, P. H., Coleman, G. J., & Kinder, J. E. (2022). The Animal-Human Interface in Farm Animal Production: Animal Fear, Stress, Reproduction and Welfare. *Animals*, 12(4), 487. DOI: 10.3390/ani12040487.

- Cheng, Z., Wylie, A., Ferris, C., Ingvarsen, K. L., Wathes, D. C., & GplusE Consortium. (2021). Effect of diet and nonesterified fatty acid levels on global transcriptomic profiles in circulating peripheral blood mononuclear cells in early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104(9), 10059–10075. DOI: 10.3168/jds.2021-20136.
- Duan, H., Cai, X., Luan, Y., Yang, S., Yang, J., Dong, H., ... & Shao, L. (2021). Regulation of the autonomic nervous system on intestine. *Frontiers in Physiology*, 12, 700129. DOI: 10.3389/fphys.2021.700129.
- Erdmann, S., Mohr, E., Derno, M., Tuchscherer, A., Schäff, C., Börner, S., ... & Röntgen, M. (2018). Indices of heart rate variability as potential early markers of metabolic stress and compromised regulatory capacity in dried-off high-yielding dairy cows. *Animal*, 12(7), 1451–1461. DOI: 10.1017/S1751731117002725.
- Folch, J., Leez, M., & Stanley, G. A. (1957). Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues. *J. Biol. Chem*, 226(2), 497–501. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13428781>.
- Grille, L., Adrien, M. L., Méndez, M. N., Chilbroste, P., Olazabal, L., & Damián, J. P. (2022). Milk Fatty Acid Profile of Holstein Cows When Changed from a Mixed System to a Confinement System or Mixed System with Overnight Grazing. *International journal of food science*, 2022, 5610079. DOI: 10.1155/2022/5610079.
- Imai, J., & Katagiri, H. (2022). Regulation of systemic metabolism by the autonomic nervous system consisting of afferent and efferent innervation. *International immunology*, 34(2), 67–79. DOI: 10.1093/intimm/dxab023.
- Kitajima, K., Oishi, K., Kojima, T., Uenishi, S., Yasunaka, Y., Sakai, K., ... & Hirooka, H. (2022). An Assessment of Stress Status in Fattening Steers by Monitoring Heart Rate Variability: A Case of Dietary Vitamin A Restriction. *Frontiers in Animal Science*, 2, 799289. DOI: 10.3389/fanim.2021.799289.
- Kra, G., Nemes-Navon, N., Daddam, J. R., Livshits, L., Jacoby, S., Levin, Y., ... & Moallem, U. (2021). Proteomic analysis of peripheral blood mononuclear cells and inflammatory status in postpartum dairy cows supplemented with different sources of omega-3 fatty acids. *Journal of proteomics*, 246, 104313. DOI: 10.1016/j.jprot.2021.104313.
- Lymperopoulos, A., Suster, M. S., & Borges, J. I. (2022). Short-Chain Fatty Acid Receptors and Cardiovascular Function. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(6), 3303. DOI: 10.3390/ijms23063303.
- Messina, G., Valenzano, A., Moscatelli, F., Salerno, M., Lonigro, A., Esposito, T., ... & Cibelli, G. (2017). Role of autonomic nervous system and orexinergic system on adipose tissue. *Frontiers in physiology*, 8, 137. DOI: 10.3389/fphys.2017.00137.
- Młynek, K., Danielewicz, A., & Strączek, I. (2021). The effect of energy metabolism up to the peak of lactation on the main fractions of fatty acids in the milk of selected dairy cow breeds. *Animals*, 11(1), 112. DOI: 10.3390/ani11010112.
- Mylostvyi, R., Sejian, V., Izhboldina, O., Kalinichenko, O., Karlova, L., Lesnovskaya, O., ... & Midyk, S. (2021). Changes in the Spectrum of Free Fatty Acids in Blood Serum of Dairy Cows during a Prolonged Summer Heat Wave. *Animals*, 11, 3391. DOI: 10.3390/ani11123391.
- Piccioli-Cappelli, F., Seal, C. J., Parker, D. S., Loo, J. J., Minuti, A., Lopreiato, V., & Trevisi, E. (2022). Effect of stage of lactation and dietary starch content on endocrine-metabolic status, blood amino acid concentrations, milk yield, and composition in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 105(2), 1131–1149. DOI: 10.3168/jds.2021-20539.
- Sinyak, K. M., & Orgel, M. Ya. (1976). Method of preparation of blood lipids for gas chromatographic research. *Lab. case*, 1, 37–41.
- Stanković, I., Adamec, I., Kostić, V., & Habek, M. (2021). Autonomic nervous system—Anatomy, physiology, biochemistry. In *International Review of Movement Disorders*, 1, 1–17. DOI: 10.1016/bs.irmvd.2021.07.006.
- Straznicki, N. E., Nestel, P. J., & Esler, M. D. (2009). Autonomic Nervous System: Metabolic Function. *Encyclopedia of Neuroscience*, 2009, 951–959. DOI: 10.1016/B978-008045046-9.00638-0.
- Tessari, R., Berlanda, M., Morgante, M., Badon, T., Giancesella, M., Mazzotta, E., ... & Fiore, E. (2020). Changes of plasma fatty acids in four lipid classes to understand energy metabolism at different levels of non-esterified fatty acid (NEFA) in dairy cows. *Animals*, 10(8), 1410. DOI: 10.3390/ani10081410.
- Tilahun, M., Zhao, L., Sun, L., Shen, Y., Ma, L., Callaway, T. R., ... & Bu, D. (2022). Fresh *Phyllanthus emblica* (Amla) Fruit Supplementation Enhances Milk Fatty Acid Profiles and the Antioxidant Capacities of Milk and Blood in Dairy Cows. *Antioxidants*, 11(3), 485. DOI: 10.3390/antiox11030485.
- Valensi, P. (2021). Autonomic nervous system activity changes in patients with hypertension and overweight: role and therapeutic implications. *Cardiovascular Diabetology*, 20(1), 1–12. DOI: 10.1186/s12933-021-01356-w.
- Vanacker, N., Blouin, R., Ster, C., & Lacasse, P. (2022). Effect of different fatty acids on the proliferation and cytokine production of dairy cow peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Dairy Science*, 105(4), 3508–3517. DOI: 10.3168/jds.2021-21296.



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/nvlvet10619

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

UDC 636.592.09: 615.331

Slaughter condition, safety and quality of slaughter products of turkeys of meat productivity in the use of prebiotic drug Actigen

A. V. Konopelko, V. P. Lyasota✉

Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

Article info

Received 20.04.2022

Received in revised form

23.05.2022

Accepted 24.05.2022

Bila Tserkva National Agrarian
University, Soborna pl. 8/1,
Bila Tserkva, 09117, Ukraine.
Tel.: +38-098-334-63-91
E-mail: Lyasota777@gmail.com

Konopelko, A. V., & Lyasota, V. P. (2022). Slaughter condition, safety and quality of slaughter products of turkeys of meat productivity in the use of prebiotic drug Actigen. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 119–127. doi: 10.32718/nvlvet10619

Ukraine's food security is due to the production of a sufficient number of high-quality, environmentally friendly, high-quality food products of animal origin, including poultry products. The purpose and objectives of the study. To analyze the slaughter condition, safety, and quality of slaughter products of meat turkeys in the direction of productivity when using the prebiotic drug actigen. The object of study was turkeys of the BIG-6 breed. The prebiotic Actigen was added to the essential diet of turkeys in the following doses: from the 1st to the 21st day: 0.4; 0.8 and 1 g/kg of feed; from the 22nd to the 42nd day: 0.4; 0.6 and 0.8 g/kg of feed; from the 42nd to the 120th day: 0.2; 0.4 and 0.7 g/kg of feed. Mixing prebiotics with compound feed was performed with a feed mixer on the farm for compound feed production. The bird had free access to food and water throughout the fattening. According to DSTU 3143:2013, carcasses of broiler turkeys of experimental groups belong to the first category of fattening. The macrostructural characteristics of the organs of broiler turkeys in the experimental groups correspond to the age norm of the bird. Organomacrosopic characteristics of slaughter products of broiler turkeys of all experimental groups do not differ significantly. When determining the organoleptic characteristics of broiler turkey meat after using the prebiotic Actigen, it was established that Volodar LLC, Kyiv region, sells quality products that meet the requirements of the current National Standard. In the study of microbiological and microscopic indicators of broiler turkey meat after the use of the prebiotic Actigen, it was found that the microbiological indicators of MAFANM content in broiler turkey meat of Volodar LLC of the experimental group were $2.12 \pm 0.25 \times 10^3$ and control groups $2.98 \pm 1.07 \times 10^3$ according to the norms 1×10^6 CFU/g – fresh turkey, i.e., met the requirements of the current National Standard. It was found that the broiler turkeys' meat after using the prebiotic Actigen had a higher relative biological value – 100.0 %, compared with the control group of 95.0 % ($P < 0.05$). The number of *Tetrahymena pyriformis* cells grown on a nutrient medium with broiler turkey meat after three hours of incubation in the experimental group was 100.0 ± 5.3 – due only to motile cell forms. A similar trend remained after six hours of incubation. Infusoria had the shape of a regular shoe; they are mobile. Therefore, no adverse effect of samples of the meat of turkey broilers of Volodar LLC on the morphophysiological parameters of ciliates of *Tetrahymena pyriformis* was found, which indicates that the studied meat of the experimental groups is not toxic.

Key words: broiler turkeys, slaughter condition, slaughter products, safety, quality, poultry products.

Забійний стан, безпечність та якість продуктів забою індиків м'ясного напрямку продуктивності при застосуванні пребіотичного препарату Актиген

А. В. Конопелько, В. П. Лясота✉

Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна

Продовольча безпека України зумовлена виробництвом достатньої кількості якісних, екологічно нешкідливих, повноцінних продуктів харчування тваринного походження, серед яких продукція птахівництва. Мета та завдання дослідження: проаналізу-

вати забійний стан, безпечність та якість продуктів забою індиків м'ясного напрямку продуктивності при застосуванні пребіотичного препарату Актиген. Об'єктом вивчення були індиків породи БІГ-6. До основного раціону (ОР) індиків додавали пребіотик Актиген у таких дозах: з 1-ї до 21-ї доби: 0,4; 0,8 та 1 г/кг корму; з 22-ї до 42-ї доби: 0,4; 0,6 та 0,8 г/кг корму; з 42-ї до 120-ї доби: 0,2; 0,4 та 0,7 г/кг корму. Змішування пребіотика із комбікормом проводили кормозмішувачем у господарстві за виготовлення комбікорму. Птиця мала вільний доступ до корму та води протягом усієї відгодівлі. Під час проведення ветеринарно-санітарного інспектування продуктів забою птиці як контрольної, так і дослідних груп після застосування пребіотика Актиген патологічних змін не виявлено. Згідно з ДСТУ 3143:2013 тушки індиків-бройлерів піддослідних груп належать до першої категорії вгодованості. Макроструктурна характеристика органів індиків-бройлерів піддослідних груп відповідає віковій нормі птиці. Органомакроскопічні характеристики продуктів забою індиків-бройлерів всіх піддослідних груп не мають достовірної різниці. За встановлення органолептичних показників м'яса індиків-бройлерів після застосування пребіотика Актиген встановлено, що ТОВ "Володар" (Київська область) реалізує якісну та безпечну продукцію, яка відповідає вимогам чинного національного стандарту. При вивченні мікробіологічних та мікроскопічних показників м'яса індиків-бройлерів після застосування пребіотика Актиген встановлено, що вміст МАФАнМ у м'ясі індиків-бройлерів дослідної групи становив $-2,12 \pm 0,25 \times 10^3$ та контрольної групи $2,98 \pm 1,07 \times 10^3$ КУО/г за норми 1×10^6 КУО/г, що вказувало на безпечність продукції. Встановлено, що м'ясо індиків-бройлерів після застосування пребіотика Актиген мало вищу відносну біологічну цінність – 100,0 %, порівняно із контрольною групою – 95,0 % ($P < 0,05$). Кількість клітин *Tetrahymena pyriformis*, які вирости на живильному середовищі з м'ясом індиків-бройлерів, після трьох годин інкубації у дослідній групі складало $100,0 \pm 5,3$ – за рахунок тільки рухливих форм клітин. Аналогічна тенденція залишилася і через шість годин інкубації. Інфузорії мали форму правильної туфельки, вони рухливі. Змін морфологічних показників інфузорій *Tetrahymena pyriformis* не встановлено, що свідчить про нетоксичність досліджуваних груп м'яса індиків-бройлерів.

Ключові слова: індиків-бройлери, забійний стан, продукти забою, безпечність, якість, продукція птахівництва.

Вступ

Стратегічний розвиток вітчизняного птахівництва, що безпосередньо пов'язаний з інноваціями, можна розглядати як поступальний через удосконалення відтворювального процесу з використанням досягнень науки і техніки, технологій та як послідовно пов'язаний комплекс, складові якого набувають нової якості, що і приводить до підвищення економічної ефективності та конкурентоспроможності кінцевої продукції галузі. Інноваційна діяльність є однією з необхідних умов розвитку птахівництва України і виступає як найважливіша складова в науково-технічному прогресі, на що вказують (Bogatko & Bogatko, 2014; Kirilyuk, 2014).

Продовольча безпека України зумовлена виробництвом достатньої кількості якісних, екологічно нешкідливих, повноцінних продуктів харчування тваринного походження, серед яких продукція птахівництва (Fotina et al., 2016).

Впровадження інтенсивних технологій виробництва продукції птахівництва, в т. ч. бройлерного, передбачають застосування різноманітних, екологічно нешкідливих нутрієнтів, серед яких вітаміни, пробіотики, пребіотики, макро- і мікроелементи тощо (Berri, 2015; Baştürk et al., 2016; Podolyan, 2017; Şanlier et al., 2017; Kasyanenko et al., 2018; Rahimi et al., 2019; Lyasota & Kolodka, 2020; Karadag et al., 2020; Skvortsova, 2020; Konopelko & Lyasota, 2021; Areq Yahya, 2021; Karakan et al., 2021; Ciftciler & Ciftciler, 2021; Kaur et al., 2021; Fabiano et al., 2021; Sanlier & Kocabas, 2021).

Проте в сучасній науковій літературі вітчизняними дослідниками не достатньо описані оцінка безпечності та якості м'яса індиків-бройлерів за реалізації на агропромислових ринках, різних підприємств України (Polycarpo et al., 2014; Yakubchak et al., 2016; Al-Khalafah, 2018; Melekoglu et al., 2021).

Також недостатньо визначені показники безпечності та якості продуктів забою, не обґрунтовано їх санітарну оцінку (Orischuk & Tsap, 2020). Тому досліджуване питання є на часі.

Мета та завдання дослідження. Проаналізувати забійний стан, безпечність та якість продуктів забою індиків м'ясного напрямку продуктивності при застосуванні пребіотичного препарату Актиген.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження виконані впродовж 2020–2021 рр. на кафедрі ветеринарно-санітарної експертизи, гігієни продуктів тваринництва та патанатомії ім. Й. С. Загаєвського Білоцерківського НАУ. Експериментальні досліді та науково-практичні спостереження проводили в умовах ТОВ "Володар" Тетіївського району Київської області.

Дослідження матеріалів проводили в акредитованих лабораторіях: Ставищенській міжрайонній державній лабораторії Держпродспоживслужби України (Національне агентство з акредитації України ДСТУ ISO/IES 17025:2017) і на базі віварію факультету ветеринарної медицини Білоцерківського НАУ.

Об'єктом вивчення були індиків породи БІГ-6. До основного раціону (ОР) індиків додавали пребіотик Актиген у таких дозах: з 1-ї до 21-ї доби: 0,4; 0,8 та 1 г/кг корму; з 22-ї до 42-ї доби: 0,4; 0,6 та 0,8 г/кг корму; з 42-ї до 120-ї доби: 0,2; 0,4 та 0,7 г/кг корму. Змішування пребіотика із комбікормом проводили кормозмішувачем у господарстві за виготовлення комбікорму. Птиця мала вільний доступ до корму та води протягом усієї відгодівлі.

Актиген (ACTIGEN) – унікальна біологічна активна фракція другого покоління, отримана із зовнішньої стінки специфічного штаму дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, селекціонована компанією "Оллтек" (Alltech) США та виділена з метою створення більш ефективного продукту для оптимізації здоров'я сільськогосподарських тварин та птиці. Актиген являє собою форму дріжджового вуглеводу. Діюча речовина: 1 кг містить 280,0 г сирого протеїну. Фармацевтична форма порошок.

Фармакологічні властивості: дія кормової добавки ґрунтується на зв'язуванні патогонних мікроорганізмів через блокування специфічної до манози пектиноподібної субстанції, що знаходиться на їх повер-

хні, це сприяє росту корисної мікрофлори шлунка та підвищує імунітет тварин і птиці.

Реєстраційне посвідчення (REGISTRATIONCERT, IFICДГЕ): JF AA-01795-04-1 від 28.12. 2015 р. Власник реєстраційного посвідчення: “Оллтек” Інк.3031-І (Амніп Хілс Пайк, Ніколасбільп, штат Кентуккі, 40356), США).

Досліди проведені на 9 групах (по 300 гол. у кожній, всього 2700 голів птиці – піддослідні та 300 гол. контрольна група) індиків-бройлерів породи БП-6. Доступ до корму та води для птиці був вільним. Мікроклімат в пташнику регулювався автоматично (система клімат контроль). Годували індиків сухими повноцінними комбікормами (основний раціон – ОР) відповідно до норм ВНДП.

Матеріали дослідження. М'ясо індиків-бройлерів ТОВ “Володар” Тетіївського району Київської області.

Методи дослідження. Органолептичні (зовнішній вигляд поверхні тушки, колір шкіри, слизових та серозних оболонок, підшкірної та внутрішньої жирової тканини, м'язи на розрізі, консистенція, запах на поверхні тушок, прозорість і аромат бульйону за проби варіння) за (Vlizlo et al., 2012).

Фізико-хімічні (реакція на пероксидазу, реакція з міді сульфатом, визначення кількості аміно-аміачного азоту в м'ясі у мг на 10 см³, визначення аміаку і солей амонію за допомогою реактиву Неслера; визначення пероксидного та кислотного чисел жиру птиці) за ДСТУ 8253:2015; визначення рН у м'ясо-водній витяжці за ДСТУ ISO 2917–2001, та формольна реакція – за ветеринарними методиками (DSTU ISO 1442: 2005; DSTU ISO 1443: 2005; DSTU ISO 937: 2005; DSTU ISO 2917–2001).

Мікроскопічні, мікробіологічні (вміст МАФАНМ, патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів; бактеріоскопія мазків-відбитків із м'яса птиці за підрахунком кількості мікроорганізмів на 1 середнє поле зору за (DSTU 8381: 2015; DSTU 8381: 2015; DSTU ISO 6888–2: 2003).

Визначення відносної біологічної цінності та токсичності м'яса індиків-бройлерів. З метою дослідження токсико-біологічної оцінки збірного м'яса індиків-бройлерів контрольної і дослідних груп як тест-об'єкт використовували культуру інфузорії *Tetrahymena pyriformis* (Mykytyuk et al., 2004).

Варіаційно-статистичну обробку експериментальних даних проводили, використовуючи комп'ютерні програмні пакети “Microsoft Excel”, “Maple-12” (фірми Maplesoft, 2008) здійснювали варіаційно-статистичну обробку цифрових даних. Достовірність визначали за критерієм Ст'юдента з урахуванням межі достовірності: $P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$, $P \leq 0,001$. Цифрові фотознімки виконували за допомогою фотокамери “OlimpusC–5060 WideZoom”.

Результати та їх обговорення

В результаті експериментальних та науково-практичних досліджень проведених на базі ТОВ “Володар” Київської області було встановлено, що найвищі показники збереженості та приросту живої маси

індиків-бройлерів із 1-ї до 21-ї доби постнатального періоду онтогенезу отримані у дозі Актигену 0,8 г/кг корму, що становило 3,99 % ($P < 0,05$), вочевидь, це є оптимальним значенням.

У разі застосування пребіотики Актиген у дозі 0,6 г/кг корму, із 22-ї до 42-ї доби постнатального періоду онтогенезу встановлено, що показники збереженості та приросту живої маси індиків-бройлерів становили 9,50 % ($P < 0,05$) – оптимальна доза.

Використання пребіотики Актиген із 42-ї до 120-ї доби постнатального періоду онтогенезу у дозі 0,4 г/кг корму для індиків-бройлерів сприяло зростанню збереженості та приросту живої маси на 15,31 % ($P < 0,05$) – оптимальне значення (Konopelko & Lyasota, 2021).

При оцінці забійного стану, безпечності та якості продуктів забою індиків-бройлерів встановлено, що очна щілина закрита, виділення з неї відсутні.

Кон'юктива волога, блідо-рожевого кольору, гладенька, її судини помірно наповнені. Очне яблуко випукле, рогівка блискуча, гладенька, помірно волога, прозора, без пошкоджень. Дзьоб глясуватий, твердий, ротова щілина закрита (рис. 1; а). Ротова порожнина чиста, без відкладень та корму. Носові отвори вільно прохідні, виділення з них відсутні.

Язик клиноподібної форми, має природне топографічне положення – на дні ротової порожнини, щільної консистенції. В слизовій оболонці спинки язика добре розвинуті ниткоподібні сосочки. Глотка коротка. Слизова оболонка органів ротової порожнини блідо-рожева, помірно волога і блискуча (рис. 1; б, в).

Жирова тканина блідо-жовтого кольору, порівняно щільна. Відкладання підшкірного жиру реєстрували на вентральній поверхні тіла та на дорсальній поверхні у вигляді смужки. Значне скупчення жиру реєструється під серозною оболонкою в ділянці м'якої стінки грудо-черевної порожнини тіла, а також на кишечнику та шлунку.

Скелет не деформований. Кістки анатомічно цілі, природної конфігурації, тверді. Окістя блискуче. Грудна клітка округлої форми. Кіль м'який, легко згинається.

Суглоби мають природну конфігурацію і розміри. Суглобові поверхні кісток блискучі, вологі. Капсула суглобів і навколишні тканини не пошкоджені. Синовіальна рідина прозора, тягучої консистенції, без стороннього вмісту.

Грудні м'язи – блідо-рожевого кольору, а всі інші скелетні м'язи дещо більш інтенсивно-рожевого кольору, специфічного, приємного запаху, властивого свіжому м'ясу, пружної консистенції. Під час натискання утворюється ямка, яка швидко зникає. На розрізі скелетні м'язи помірно вологі, на фільтрованому папері не залишають вологої плями. Вони добре розвинуті відповідно до віку птиці. Міжм'язова сполучна тканина слабо розвинута, хоча порівняно рівномірніше розподілена в м'язовій тканині тушки і утворює тоненькі фасції. Міжм'язові жирові відкладення не реєструються.



а



б



в

Рис. 1. Зовнішній вигляд тушки (а), голова (б) та відкладання підшкірного жиру (в) індика-бройлера дослідної групи. Olympus C-5060. Макрофото

Сухожилки м'язів кінцівок довгі, добре розвинуті, міцні, твердої консистенції. Особливо добре розвинуте сухожилля стрункого м'яза. Їх пошкоджень не виявили.

Серозна оболонка грудочеревної порожнини тіла гладенька, блискуча. Її кровоносні судини помірно кровонаповнені. Під серозною оболонкою містяться доволі значні скупчення жиру, м'якої консистенції.

Під час проведення післязабійного інспектування тушок птиці особливу увагу звертали на внутрішні органи – їхню локалізацію, розміри, консистенцію, колір та наявність патологічних змін. Внутрішні органи в порожнині тіла розміщені топографічно (анатомічно) правильно.

Під час огляду печінки патологічних змін не виявлено (рис. 2). Вона темно-коричневого кольору, помірно пружної консистенції. Печінка складається з лівої латеральної та медіальної часток, а також правої частки. Краї органа гострі. На правій частці – жовчний міхур. Він видовжено-грушоподібної форми, тонкостінний, заповнений жовцю темно-зеленого кольору, водянистої консистенції. Слизова оболонка жовчного міхура сіро-зеленувата з природним рельєфом поверхні.



Рис. 2. Печінка індика-бройлера дослідної групи. Olympus C-5060

Селезінка розташована на межі залозистої і м'язової частин шлунка. Вона кулясто-овальної форми, рівномірно темно-червоного кольору. Краї заокруглені, капсула гладенька, блискуча. Орган помірно кровонаповнений, м'якої консистенції. Рисунок поверхні розрізу природний, зіскрібок дуже малий.

Серце конусоподібної форми, чотирикамерне, однорідного темно-червоного забарвлення, міститься в серцевій сумці (рис. 3).



Рис. 3. Серце індика-бройлера дослідної групи. Olympus C-5060. Макрофото: зовнішній вигляд

В ділянці вінцевої борозни – жирові скупчення. Кровонаповнення коронарних судин помірне. Камери серця природних розмірів. Перикард дещо матовий, прозорий, гладенький, вологий, легко відділяється від серця. Перикардiальна порожнина містить 1–2 краплі прозорої рідини. Кровоносні судини перикарда помірно кровонаповнені. Сторонній вміст у перикардi відсутній. Він червоно-коричневого кольору, пружної

консистенції. Патологічних змін та крововиливів на оболонках серця не виявлено.

Епікард гладенький, блискучий, тонкий. Його кровоносні судини помірно наповнені.

Міокард червоного кольору, помірно пружної консистенції. Порожнина лівого шлуночка згорток крові не містить, проте в порожнині правого шлуночка і правого передсердя спостерігаються пухкі згустки темно-червоного кольору. Вони легко витягуються, вологі.

Ендокард гладенький, вологий, блискучий. Клапани серця еластичні, сірого кольору, блискучі, їх краї рівні, тонкі.

Кров відсутня в порожнині лівого шлуночка. Невелика кількість згорнутої крові реєструється в порожнині правого шлуночка і правого передсердя.

Великі артеріальні судини трубчастої форми, жовтуватого забарвлення. Вміст в їх просвіті відсутній. В порожнистих венах міститься невелика кількість згорнутої крові.

Гортань і головні бронхи природної трубкоподібної форми, сірого кольору, вільно прохідні, без стороннього вмісту. Слизова оболонка помірно волога, гладенька.

Трахея – майже прямокутної форми. Її хрящові кільця еластичні. Слизова оболонка блискуча, помірно волога, блідо-рожева. Без деформацій та ушкоджень. Прокідність збережена.

Легені – яскраво-рожевого кольору, прямокутної форми, м'якої консистенції, помірно кровонаповнені, зі звичайною характеристикою поверхні розрізу.

Повітроносні мішки – мішкоподібні, парні вирости ектобронхів. Їх дев'ять. Вони мають дещо матову, помірно вологу, прозору, тоненьку стінку, без стороннього вмістимого.

Стравохід природної трубкоподібної форми, має топографічно правильне положення. В його просвіті корм відсутній, прохідність збережена. Слизова оболонка волога, вкрита невеликою кількістю слизу, блідо-рожевого кольору з сіруватим відтінком, чиста без патологічних змін.

Воно міститься поблизу входу в грудну клітку. Воно є мішкоподібним розширенням стравоходу, добре розвинуте, без кормових мас.

Шлунок складається із залозистої та м'язової частин. Залозиста частина шлунка лежить між частками печінки, має потовщену стінку. В ділянці переходу залозистої частини у м'язову просвіт звужується. Залозиста частина веретеноподібної форми. Ззовні вкрита серозною оболонкою, а з середини – слизовою. Вона покрита невеликою кількістю слизу. Має звичний рельєф – на поверхні її помітні характерні підвищення отворів травних залоз. В залозистій частині шлунка патологічних змін не виявлено, прохідність збережена.

М'язова частина шлунка не збільшена, добре розвинута, дископодібної форми зі щілиноподібною порожниною. Його стінка товста. М'язова оболонка дуже добре розвинута, має сухожилкові утворення, які чітко помітні. Слизова оболонка складчаста, кутикула жовтуватого кольору, прозора, щільна, порівняно легко відділяється від розташованого нижче підс-

лизового шару. На кутикулі, слизовій оболонці та м'язовій частині шлунка крововиливів та інших патологічних змін не виявляли.

Тонкий відділ кишечника займає природні топографічні межі, підвішений на довгій цілісній брижі. Стінка дванадцятипалої кишки з боку очередини червоно-рожева, а порожньої кишки – сіро-жовтого кольору. Патологічних змін в тонкому відділі кишечника не виявили, в хімусі гельмінти відсутні. Його прохідність збережена. Слизова оболонка тонкого відділу кишечника (дванадцятипалої, порожньої і клубової кишків) природного блідо-рожевого кольору, без крововиливів, помірно вкрита слизом, з характерним вмістом.

Підшлункова залоза видовженої форми, складається із дорсальної і вентральної часток. Вона світло-рожевого кольору, м'якої консистенції, міститься в брижі дванадцятипалої кишки та чітко підвищується над нею.

Товстий відділ кишечника розміщується в грудно-черевній порожнині птиці. Стінки сліпих кишків тонькі. Їх слизова оболонка блідо-рожевого кольору, вкрита тягучим слизом, гладенька. В просвіті сліпих кишків містяться напівсформовані калові маси.

Пряма кишка природної трубкоподібної форми. Її слизова оболонка злегка вкрита тягучим слизом. Калові маси в просвіті прямої кишки сформовані, сіро-коричневого кольору, їх незначна кількість (рис. 4).



Рис. 4. Органи травлення індики-бройлера дослідної групи. Olympus C-5060

Клоака – видовжено-воронкоподібної форми, на тушці – закрита. Пір'я навколо клоаки чисте. Її слизова оболонка природного кольору, формує поздовжні й поперечні складки, вкрита прозорим слизом. В порожнині клоаки вміст відсутній.

Клоакальна сумка є дорсальним кишеньоподібним випиним проктодеума, добре розвинута, має округлу

форму, сірого кольору, в розмірах не збільшена. Слизова оболонка складчаста, без патологічних змін. Внутрішній просвіт клоакальної сумки вільний.

Нирки – парні (ліва і права), розташовуються в заглибинах попереково-крижової та клубової кісток. Краніально нирки сягають легень, каудально – прямої кишки, оточені повітряноносними мішками. Їх жирова капсула відсутня. Нирки курчат-бройлерів складаються із передньої, середньої і задньої часток, вкритих фіброзною капсулою і серозною оболонкою. Вони бурого-червоного кольору, порівняно великі, пружної консистенції, гладенькі, помірно кровонаповнені, без крововиливів. Ниркова миска відсутня. У розрізі нирок характерний рисунок, кіркова і мозкова зони виражені не чітко. Їх розмір не збільшений.

Сечоводи (лівий і правий) виходять за межі нирки в ділянці середньої частки. Їого довжина становить 3–4 см. Вони проходять по дорсальній стінці порожнини тіла і відкриваються в урдеум. Їх прохідність збережена.

Яєчник розташований біля краніального краю нирок. Він гроноподібний. На 120-ту добу (на момент забою птиці) вони невеликих розмірів. Яйцепровід трубкоподібної форми, світло-рожевого кольору, тонкий, слабо розвинений.

Сім'яники (лівий і правий) і їхні придатки розташовуються краніо-вентрально нирок. Краніальним

кінцем вони досягають легень, а каудальним – черевного повітряноносного мішка, а також прилягають до вентральної поверхні краніальної частки нирок. Вони видовжено-овальної форми, білого кольору, не збільшені в розмірі. Лівий сім'яник дещо більший за правий. Сім'явиносні протоки розташовані з боку сечоводів, мають форму покруглених тяжів, білого кольору. Їх прохідність збережена. Вони відкриваються в клоаку.

Отже, під час проведення ветеринарно-санітарного інспектування продуктів забою птиці як контрольної, так і дослідних груп патологічних змін не виявлено. Згідно з ДСТУ 3143:2013 тушки індиків-бройлерів піддослідних груп належать до першої категорії вгодності.

Отже, макроструктурна характеристика органів індиків-бройлерів піддослідних груп відповідають віковій нормі птиці. Органомакроскопічні характеристики продуктів забою індиків-бройлерів всіх піддослідних груп не мають достовірної різниці.

Результати досліджень органолептичних показників м'яса індиків-бройлерів (зовнішній вигляд поверхні тушки, колір шкіри, слизових та серозних оболонок, підшкірної та внутрішньої жирової тканини, м'язи на розрізі, консистенція, запах на поверхні тушок, прозорість і аромат бульйону за проби варіння) відображено у табл. 1.

Таблиця 1

Органолептичні показники м'яса індиків-бройлерів (n = 36)

Показники	Дослідна група	Контрольна група
Зовнішній вигляд поверхні тушки	Без пошкоджень	Без пошкоджень
Колір шкіри	Глянсовий	Глянсовий
Колір слизових оболонок	Блискучий	Блискучий
Колір серозних оболонок	Волога, блискуча	Волога, блискуча
Колір підшкірної та внутрішньої жирової тканини	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий
Колір м'язів на розрізі	Ледь вологі, блідо-рожевого кольору	Ледь вологі, блідо-рожевого кольору
Консистенція	М'язи пружні, ямка при натисканні шпателем вирівнюється швидко	М'язи пружні, ямка при натисканні шпателем вирівнюється швидко
Запах	Специфічний, свіжий	Специфічний, свіжий
Прозорість і аромат бульйону	Прозорий, ароматний	Блідо-жовтий
	За варіння м'яса бульйон прозорий, приємного запаху і смаку	За варіння м'яса бульйон прозорий, приємного запаху і смаку

Отже, при визначенні органолептичних показників м'яса індиків-бройлерів (зовнішній вигляд поверхні тушки, колір шкіри, слизових та серозних оболонок, підшкірної та внутрішньої жирової тканини, м'язи на розрізі, консистенція, запах на поверхні тушок, прозорість і аромат бульйону за проби варіння) установлено, що ТОВ “Володар” (Київська область) реалізує якісну продукцію, яка відповідає вимогам чинного Національного стандарту.

Результати досліджень фізико-хімічних показників м'яса індиків-бройлерів наведено у табл. 2. За проведення фізико-хімічних досліджень м'яса індиків-бройлерів: визначення рН у м'ясо-водній витяжці, отриманої з м'яса птиці, визначення аміаку і солей амонію за допомогою реактиву Неслера, реакція на

пероксидазу, реакція з міді сульфатом, визначення кількості аміно-аміачного азоту в м'ясі у мг на 10 см³, визначення свіжості жиру за встановлення кислотного і пероксидного чисел жиру установлено, що ТОВ “Володар” (Київська область) реалізує доброякісну та безпечну продукцію. За проведення формольної реакції на м'ясі індиків-бройлерів було встановлено, що птиця була здоровою, тобто індичатина відповідала вимогам чинним нормативним документам.

Результати визначення мікробіологічних та мікроскопічних показників м'яса індиків-бройлерів наведено у табл. 3. При проведенні мікробіологічних та мікроскопічних показників м'яса індиків-бройлерів установлено, що за мікробіологічними показниками вміст МАФАНМ в м'ясі індиків-бройлерів ТОВ “Володар”

дослідної групи становив $2,12 \pm 0,25 \times 10^3$ та контрольної групи $2,98 \pm 1,07 \times 10^3$ КУО/г за норми 1×10^6 КУО/г – індичатина свіжа, що відповідало вимогам чинного Національного стандарту.

Результати визначення відносної біологічної цінності м'яса індиків-бройлерів відображено у табл. 4.

Встановлено, що м'ясо індиків-бройлерів, після застосування пребіотику Актиген мало вищу відносну біологічну цінність – 100,0 %, порівняно із контрольною групою 95,0 % ($P \leq 0,05$).

Таблиця 2

Фізико-хімічні показники м'яса індиків-бройлерів ($M \pm m$, $n = 36$)

Показники	Дослідна група	Контрольна група
Вміст аміно-аміачного азоту у м'ясі (мг у 10 см ³)	$1,03 \pm 0,03$	$1,09 \pm 0,02$
Величина рН м'ясо-водної витяжки	$6,30 \pm 0,03$	$6,40 \pm 0,04$
Вміст АМІАКУ і солей амонію за застосування реактиву Неслера	Зелено-жовтий колір, прозорий	Зелено-жовтий колір, прозорий
Реакція міді з сульфатом	Фільтрат бульйону без змін кольору, без осаду	Фільтрат бульйону без змін кольору, без осаду
Реакція на пероксидазу	Блакитно-зелений колір	Блакитно-зелений колір
Формольна реакція	Витяжка прозора, без осаду (м'ясо отримане від здорової птиці)	Витяжка прозора, без осаду (м'ясо отримане від здорової птиці)
Кислотне число жиру птиці, мг КОН	$0,82 \pm 0,03$	$0,83 \pm 0,05$
Пероксидне числа жиру птиці, % J (у % йоду)	0,005 %	0,006 %

Примітка: $P > 0,5$ до контролю

Таблиця 3

Мікробіологічні та мікроскопічні показники м'яса індиків-бройлерів ($M \pm m$, $n = 36$)

Показники	Дослідна група	Контрольна група
Кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів, КУО/г	$(2,12 \pm 0,25) \times 10^3$	$(2,98 \pm 1,07) \times 10^3$
Патогенні мікроорганізми:		
Бактерії роду Сальмонелла, у 25 г	Не виявлено	Не виявлено
Лістерій, у 25 г	Не виявлено	Не виявлено
Мікроскопія мазків-відбитків, кількість мікробних клітин у 1 середньому полі зору	$5 \pm 1,5$	7 ± 2 (паличкоподібні мікроорганізми)

Примітка: $P > 0,5$ до контролю

Таблиця 4

Біологічна цінність м'яса індиків-бройлерів після застосування пребіотику Актиген ($M \pm m$, $n = 12$)

Показники	Дослідна група	Контрольна група
Число клітин $10^4 \times$ у 1 см ³ середовища	$34,66 \pm 1,17$ *	$30,14 \pm 2,63$
Відносна біологічна цінність м'яса індиків, %	100,0*	95,0

Примітка: $P > 0,5$ до контролю

Результати токсико-біологічної оцінки м'яса індиків-бройлерів наведені у табл. 5. Кількість клітин *Tetrahymena pyriformis*, які вирости на живильному середовищі з м'ясом індиків-бройлерів, після трьох годин інкубації у дослідній групі складало $100,0 \pm 5,3$ – за рахунок тільки рухливих форм клітин. Аналогічна тенденція залишилася і через шість годин інкубації. Інфузорії мали форму правильної туфельки, вони рухливі.

Проте на 9-ту годину інкубації окремі інфузорії, особливо у контрольній групі були малорухливі – $21,0 \pm 2,1$ %, при відсутності загинувих форм клітин.

На 12-у годину інкубації окремі інфузорії, особливо у контрольній групі були малорухливі – $24,0 \pm$

$1,3$ %, при наявності загинувих форм клітин $3,9 \pm 0,35$ %.

У результаті проведених досліджень, щодо визначення відносної біологічної цінності та токсичності м'яса індиків-бройлерів встановлено, що продукція ТОВ “Володар” доброї якості та не токсична - культура інфузорії *Tetrahymena pyriformis* чиста, її ріст активний. Інфузорії мали форму правильної туфельки, вони рухливі..

На 3-тю та 10-ту хвилини інкубації в термостаті за температури (+27 °C) у дослідних та контрольних зразках спостерігається 100 % активний рух всіх інфузорій.

Таблиця 5

Токсико-біологічна оцінка м'яса індиків-бройлерів ($M \pm m$, $n = 12$)

Термін інкубації, годин	Рухливість інфузорій	Дослідна група	Контрольна група
		Показник рухливості інфузорій, %	
3	Рухливі, %	100,0 $\pm$ 5,3	100 $\pm$ 4,7
	Малорухливі, %	—	—
	Загиблі, %	—	—
6	Рухливі, %	100,0 $\pm$ 6,3	100,0 $\pm$ 5,2
	Малорухливі, %	—	—
	Загиблі, %	—	—
9	Рухливі, %	86,0 $\pm$ 3,1*	79,0 $\pm$ 5,9
	Малорухливі, %	14,0 $\pm$ 2,8*	21,0 $\pm$ 2,1
	Загиблі, %	—	—
12	Рухливі, %	78,0 $\pm$ 3,4*	72,1 $\pm$ 4,7
	Малорухливі, %	20,0 $\pm$ 1,8*	24,0 $\pm$ 1,3
	Загиблі, %	2,0 $\pm$ 0,28	3,9 $\pm$ 0,35

Примітка: * $P \leq 0,05$ порівняно з показниками контрольної групи

Отже, негативного впливу зразків м'яса індиків-бройлерів ТОВ “Володар” на морфологічні показники інфузорій *Tetrahymena pyriformis* не встановлено, що свідчить про те, що досліджене м'ясо піддослідних груп не токсичне.

Дослідження ступеня уварювання м'яса було обумовлене необхідністю з'ясувати, чи впливає воно на якість готової продукції індиків-бройлерів. В результаті проведених досліджень щодо уварювання м'яса індиків-бройлерів піддослідних груп було встановлено, що показник уварювання грудних м'язів індиків становить $46,35 \pm 1,68$ %, що має тенденцію до зменшення на 2,11 % проти контрольної аналога ($44,24 \pm 1,07$ %). Проте уварювання м'язів стегна індиків-бройлерів дослідної групи становить $42,13 \pm 3,27$ %, що має тенденцію до збільшення на 4,18 % щодо контролю ($37,95 \pm 1,78$ %).

Отже, уварювання грудних м'язів та м'язів стегна індиків-бройлерів піддослідних груп не має достовірної різниці порівняно з контрольними зразками.

Висновки

1. Під час проведення ветеринарно-санітарного інспектування продуктів забою птиці як контрольної, так і дослідних груп після застосування пребіотику Актиген патологічних змін не виявлено. Згідно з ДСТУ 3143:2013 тушки індиків-бройлерів піддослідних груп належать до першої категорії вгодованості. Макроструктурна характеристика органів індиків-бройлерів піддослідних груп відповідають віковій нормі птиці. Органомакроскопічні характеристики продуктів забою індиків-бройлерів всіх піддослідних груп не мають достовірної різниці.

2. За органолептичними та фізико-хімічними показниками (величина рН у м'ясо-водній витяжці, отриманій з м'яса птиці, вміст аміаку і солей амонію за допомогою реактиву Неслера, реакцією на пероксидазу, реакцією з міді сульфатом, вмісту аміно-аміачного азоту в м'ясі у мг на 10 см³, кислотного і пероксидного чисел жиру птиці) м'ясо індиків-бройлерів після застосування пребіотику Актиген було свіжим і доброякісним; за формольної реакцією встановлено, що птиця була здоровою.

3. У м'ясі індиків-бройлерів дослідної групи за застосування пребіотику Актиген встановлено нормований вміст МАФАНМ – $2,12 \pm 0,25 \times 10^3$ та контрольної групи ($2,98 \pm 1,07$) $\times 10^3$ КУО/г за норми 1×10^6 КУО/г. Встановлено, що м'ясо індиків-бройлерів після застосування пребіотику Актиген мало вищу відносну біологічну цінність – 100,0 % порівняно із контрольною групою 95,0 % ($P \leq 0,05$). Змін морфологічних показників інфузорій *Tetrahymena pyriformis* не встановлено, що свідчить про нетоксичність досліджуваних груп м'яса індиків-бройлерів.

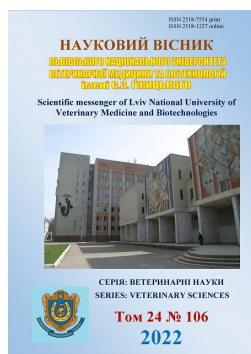
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Al-Khalaifah, H. S. (2018). Benefits of probiotics and/or prebiotics for antibiotic-reduced poultry. *Poult Sci.*, 97(11), 3807–3815. DOI: 10.3382/ps/pey160.
- Areq Yahya, A.-B. (2021). Influence of spore-lex and analcim-si on the microflora of the bird's gastrointestinal tract. *Scientific and Technical Bulletin of the State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and the Institute of Animal Biology*, 22(2), 25–32. DOI: 10.36359/scivp.2021-22-2.02.
- Baştürk, A., Artan, R., & Yılmaz, A. (2016). Efficacy of synbiotic, probiotic, and prebiotic treatments for irritable bowel syndrome in children: A randomized controlled trial. *Turk J Gastroenterol*, 27(5), 439–443. DOI: 10.5152/tjg.2016.16301.
- Berri, C. (2000). Variability of Sensory and Processing Qualities of Poultry Meat. *World's Poultry Science*, 56(3), 209–224. DOI: 10.1079/WPS20000016.
- Bogatko, N. M., & Bogatko, D. L. (2014). Features of HACCP system implementation at meat processing enterprises of Ukraine. *Collection of sciences. Proceedings of the Kharkiv State Veterinary Academy. Problems of zooengineering and veterinary medicine*, 28(2), 49–55 (in Ukrainian).
- Bogatko, N. M., Bukalova, N. V., Shchurevich, G. P., & Bogatko, L. M. (2014). *Veterinary and sanitary*

- examination of poultry slaughter products: methodological recommendations for students of IPNKSVM, students and undergraduates of FVM. Bila Tserkva (in Ukrainian).
- Ciftciler, R., & Ciftciler, A. E. (2021). The importance of microbiota in hematology. *Transfusion and Apheresis Science*, 17,(2) 103320. DOI: 10.1016/j.transci.2021.103320.
- Fabiano, V., Indrio, F., Verduci, E., Calcaterra, V., Pop, T. L., Mari, A., Zuccotti, G. V., Cullu Cokugras, F., Pettoello-Mantovani, M., & Goulet, O. (2021). Term Infant Formulas Influencing Gut Microbiota: An Overview. *Nutrients*, 13(12), 4200. DOI: 10.3390/nu13124200.
- Fotina, T. I., Zapara, S. I., Fotina, H. A., & Fotin, A. V. (2016). HACCP system as pass for quality and safety products, *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 2(3), 19–22. URL: http://jvmbbs.kharkov.ua/archive/2016/volume2/issue3/oJvmbbs_2016023_019-022.pdf.
- Karadag, A. S., Kayran, M. A., & Parish, L. C. (2020). Probiotics and Prebiotics-The Good Germs: A Dermatologic Perspective. *Skinmed*, 18(1), 10–13. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32167449>.
- Karakan, T., Tuohy, K. M., & Janssen-van Solingen, G. (2021). Low-Dose Lactulose as a Prebiotic for Improved Gut Health and Enhanced Mineral Absorption. *Front Nutr*, 8, 672925. DOI: 10.3389/fnut.2021.672925.
- Kasyanenko, O. I., Nagornaya, L. V., & Kasyanenko, S. M. (2018). The effectiveness of the use of actigen in the cultivation of ducks. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. Veterinary Medicine Series*, 11(43), 57–61 (in Ukrainian).
- Kaur, A. P., Bhardwaj, S., Dhanjal, D. S., Nepovimova, E., Cruz-Martins, N., Kuca, K., Chopra, C., Singh, R., Kumar, H., Şen, F., Kumar, V., Verma, R., & Kumar, D. (2021). Plant Prebiotics and Their Role in the Amelioration of Diseases. *Biomolecules*, 11(3), 440. DOI: 10.3390/biom11030440.
- Kirilyuk, D. O. (2014). Analysis of the current state of the poultry market in Ukraine. *Economics of agro-industrial complex*, 2, 116–119 (in Ukrainian).
- Konopelko, A. V., & Lyasota V. P. (2021). The effectiveness of the prebiotic drug Actigen in the cultivation of meat turkeys. *Scientific Bulletin of Veterinary Medicine*, 2, 37–48 (in Ukrainian).
- Lyasota, V., & Kolodka, A. (2020). Hygiene-biotic factors on the application of modern pre-and probiotics in poultry. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(98), 88–93. DOI: 10.32718/nvlvet9816.
- Meat and meat products. Determination of nitrogen content (control method) (2005). DSTU ISO 937: 2005. (ISO 937: 1978, IDT). [Valid 2007-07-01]. Kyiv, 2007. 8 p. (National Standards of Ukraine) (in Ukrainian).
- Meat and meat products. Determination of pH (control method) (2002). DSTU ISO 2917–2001 (ISO 2917: 1999, IDT). [Current 2003-10-01]. K.: State Committee of Ukraine for Technical Regulation and Consumer Policy (in Ukrainian).
- Meat and meat products. Method for determining total fat content (2005). DSTU ISO 1443: 2005 (ISO 1443: 1973, IDT). [Valid 2007-04-01]. Kyiv, 2007. 4 p. (National Standards of Ukraine) (in Ukrainian).
- Meat and meat products. Method of determining the moisture content (2007). DSTU ISO 1442: 2005 (ISO 1442: 1973, IDT). [Effective 2007-04-01]. Kyiv, 8 p. (National Standards of Ukraine) (in Ukrainian).
- Meat and meat products. Organization and methods of microbiological research (2017). DSTU 8381: 2015. K.: SE “UkrNDNC”. 45 p. (National Standard) (in Ukrainian).
- Melekoglu, E., Cetinkaya, M. A., Kepekci-Tekkeli, S. E., Kul, O., & Samur, G. (2021). Effects of prebiotic oligofructose-enriched inulin on gut-derived uremic toxins and disease progression in rats with adenine-induced chronic kidney disease. *PLoS One*, 16(10), e0258145. DOI: 10.1371/journal.pone.0258145.
- Microbiology of food and animal feed. Horizontal method of counting coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). Part 2. Method using rabbit blood plasma fibrinogen for agar medium: DSTU ISO 6888–2: 2003. (2003) [Valid from 2004-01-01]. Kyiv: State Standard of Ukraine, 2004. 29 p. (National Standards of Ukraine) (in Ukrainian).
- Mykytyuk, P. V. (2004). Methodical recommendations (micromethod) for determining the toxic and biological assessment of fish and other aquatic organisms. Kyiv (in Ukrainian).
- Orischuk, O. S., & Tsap, S. V. (2020). Scientific and practical substantiation of the use of probiotics to improve the quality of poultry products. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 8(4), 241–245. DOI: 10.32819/2020.84034 (in Ukrainian).
- Podolyan, Yu. M. (2017). Influence of probiotics on the quality of broiler chickens. *Collection of scientific works of Vinnytsia National Agrarian University*, 6(46), 63–66 (in Ukrainian).
- Polycarpo, G. V., Cruz, V. C., Alexandre, N. C. et al. (2014). Effect of lipid sources and inclusion levels in diets for broiler chickens. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 66(2), 519–528. URL: <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v66n2/28.pdf>.
- Rahimi, S., Kathariou, S., Fletcher, O., & Grimes, J. (2019). Effect of a direct-fed microbial and prebiotic on performance and intestinal histomorphology of turkey poults challenged with *Salmonella* and *Campylobacter*. *Poultry Science*, 98(12), 6572–6578. DOI: 10.3382/ps/pez436.
- Sanlier, N., & Kocabas, Yu. (2021). The effect of probiotic, prebiotic and gut microbiota on ASD: A review and future perspectives. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1–12. DOI: 10.1080/10408398.2021.1973957.
- Şanlier, N., Gökçen, B. B., & Sezgin, A. C. (2017). Health benefits of fermented foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 59(3), 506–527. DOI: 10.1080/10408398.2017.1383355.
- Skvortsova L.N. (2020). The use of prebiotic drugs – a real way to raise young birds. *Poultry of Ukraine*, 2(26), 23–25. (in Ukrainian).
- Vlizlo, V., Fedorchuk, R. S., & Ratych, I. B. (2012). Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine: handbook. Lviv: SPOLOM (in Ukrainian).
- Yakubchak, O. M., Kozlovskaya, G. V., & Bilyk, R. I. (2016). Poultry meat: features of morphological and chemical composition. *Modern poultry farming*, 2, 6–7 (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/nvlvet10620

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

UDC 591.434:615.28

Results of monitoring studies of caecal samples with animal contents for antimicrobial resistance in 2021

O. M. Chechet¹, O. S. Haidei^{1✉}, V. O. Andriashchuk¹, O. I. Horbatiuk¹, V. L. Kovalenko¹, I. V. Musiiets¹,
D. O. Ordynska¹, V. V. Skliar¹, B. V. Gutyj², O. V. Krushelnyska²

¹State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

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

Article info

Received 18.04.2022

Received in revised form

18.05.2022

Accepted 19.05.2022

State Scientific and Research
Institute of Laboratory Diagnostics
and Veterinary and Sanitary
Expertise, Donetsk Str., 30,
Kyiv, 03151, Ukraine.
Tel.: +38-067-171-15-58
E-mail: olga.gaidei@gmail.com

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

Chechet, O. M., Haidei, O. S., Andriashchuk, V. O., Horbatiuk, O. I., Kovalenko, V. L., Musiiets, I. V., Ordynska, D. O., Skliar, V. V., Gutyj, B. V., & Krushelnyska, O. V. (2022). Results of monitoring studies of caecal samples with animal contents for antimicrobial resistance in 2021. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 128–135. doi: 10.32718/nvlvet10620

The article presents the results of studies of caecum samples (cecal appendages) with contents from cattle, pigs, and poultry following the State Monitoring Plan for Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine for 2021, isolated and identified isolates of zoonoses and commensal microorganisms, namely: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp. The disk diffusion method conducted a study on determining antimicrobial sensitivity to antibacterial drugs. The results of studies on identifying acquired resistance mechanisms to antibacterial drugs are also presented. Interpretation of growth retardation zones was carried out following EUCAST requirements. As a result of the obtained data, 448 isolates were isolated and identified among 2120 samples submitted for research: *E. coli* accounted for 37.7 %, *Salmonella* spp. – 4.24 %, *Enterococcus faecium* – 12.7 %, *Enterococcus faecalis* – 37.9 %, *Campylobacter* spp. – 7.4 % of all isolated isolates. When determining the sensitivity to antibacterial drugs, eight sensitive isolates were found. 237 isolates were monoresistant (sensitive to 1–2 ABP), and 203 were polyresistant (sensitive to 3 or more ABP). As a result of the research, production (ESBL) was detected and confirmed in ten *Escherichia coli* strains. Three vancomycin-resistant strains of *Enterococcus faecium*, and *Enterococcus faecalis* were identified. Study the prevalence of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp. circulating in Ukraine. will promote a standardized approach to data collection, analysis, and sharing on a global scale and will ensure the fulfillment of the National Action Plan for Combating Antibiotic Resistance to Antimicrobial Drugs tasks. Ukraine has developed a National Action Plan to combat antimicrobial resistance. In the countries of the European Union, there is constant monitoring for *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp. The prospect of further research is to continue monitoring antimicrobial resistance against zoonoses and commensal bacteria, namely: isolates of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp., as they play an important epidemiological role among infectious diseases common to humans and animals, determining their sensitivity and identifying acquired mechanisms of resistance to antibacterial drugs.

Key words: antibiotic resistance, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus* spp., *Campylobacter* spp., state monitoring, antibacterial drugs.

Результати моніторингових досліджень зразків сліпої кишки з вмістом від тварин щодо протимікробної резистентності за 2021 рік

О. М. Чечет¹, О. С. Гайдей^{1✉}, В. О. Андріяшук¹, О. І. Горбатюк¹, В. Л. Коваленко¹, І. В. Мусієць¹, Д. О. Ординська¹, В. В. Скляр¹, Б. В. Гутій², О. В. Крушельницька²

¹Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

У статті наведено результати досліджень зразків сліпої кишки (сліпих відростків) з вмістом від великої рогатої худоби, свиней та птиці згідно з Планом державного моніторингу щодо протимікробної резистентності у ветеринарній медицині на 2021 рік, виділено та ідентифіковано ізоляти зоонозів та комменсальних мікроорганізмів, а саме: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp. Проведено дослідження з визначення протимікробної чутливості диско-дифузійним методом до антибактеріальних препаратів. Також подані результати досліджень з виявлення набутих механізмів резистентності до антибактеріальних препаратів. Інтерпретацію зон затримки росту здійснювали відповідно до вимог EUCAST. В результаті отриманих даних серед 2120 зразків, які надходили на дослідження, виділено та ідентифіковано 448 ізолятів, серед яких: *E. coli* складала 37,7 %, *Salmonella* spp. – 4,24 %, *Enterococcus faecium* – 12,7 %, *Enterococcus faecalis* – 37,9%, *Campylobacter* spp. – 7,4 % від усіх виділених ізолятів. При визначенні чутливості до антибактеріальних препаратів виявлено 8 чутливих ізолятів, 237 ізолятів були монорезистентними (чутливість до 1-2 АБП), 203 – полірезистентними (чутливими до 3 і більше АБП). В результаті досліджень виявлено та підтверджено продукцію (ESBL) у десяти штамів *Escherichia coli*. Виявлені три ванкомицинорезистентні штами *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*. Вивчення рівня поширеності циркулюючих на території України *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp. сприятиме стандартизованому підходу до збору, аналізу і обміну даними в глобальному масштабі та забезпечить виконання завдань Національного плану дій боротьби з антибіотикорезистентністю до протимікробних препаратів. В Україні розроблений Національний план дій щодо боротьби зі стійкістю до протимікробних препаратів. У країнах Європейського Союзу постійно проводиться моніторинг до *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp. Перспективою подальших досліджень є продовження проведення моніторингу протимікробної резистентності щодо зоонозів та комменсальних бактерій, а саме: ізолятів *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp., оскільки вони відіграють важливе епідеміологічне значення серед інфекційних захворювань, спільних для людей і тварин, визначенням їхньої чутливості та виявлення набутих механізмів резистентності до антибактеріальних препаратів.

Ключові слова: антибіотикорезистентність, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus* spp., *Campylobacter* spp., державний моніторинг, антибактеріальні препарати.

Вступ

У багатьох країнах світу для вирішення проблеми антимікробної резистентності впроваджено моніторинг за стійкістю до антибіотиків зоонозних і сапрофітних бактерій, виділених від різних видів сільськогосподарських тварин. Він включає безперервний збір інформації про частоту виділення резистентних штамів, аналіз та публікацію результатів.

Антибіотики широко застосовують не тільки в медицині, а й у тваринництві для лікування хвороб, часто з метою профілактики та стимулювання росту тварин (Bao et al., 2013; Kotzuba et al., 2014). Хоча повну заборону на використання стимуляторів росту було затверджено в ЄС у 2003 році, та набула чинності у 2006 році (European Union, 2003). Антибактеріальні препарати порушують баланс мікрофлори кишечника, зумовлюють розвиток алергічних реакцій, негативно впливають на функції печінки та нирок. Надмірне і неправильне застосування антибіотиків тривалий період часу призвело до розвитку у збудників зоонозних та комменсальних захворювань стійкості до антибактеріальних препаратів (АБП) (Gnanadhas & Marathe, 2013; Van Boeckel et al., 2015; Garkavenko & Bergilevich, 2017; Kasjanchuk et al., 2018). В останні роки тестування ізолятів із США та інших країн показало, що все більша їх частка є мультирезистентними (Pfaller et al., 2014). Внаслідок цього інфекції, які у

звичайних умовах піддавалися лікуванню антибіотиками, стало важко лікувати або часто вони взагалі не піддаються лікуванню. Такі умови сприяють росту рівня захворюваності та смертності серед тварин і людей (Vose et al., 2001; Garkavenko et al., 2015). Все частіше реєструють збільшення кількості резистентних штамів мікроорганізмів, виділених від тварин та із продуктів тваринного походження. Постає необхідність розробки заходів щодо протидії подальшому формуванню і поширенню у мікроорганізмів стійкості до антибіотиків (Salmanov et al., 2010; Salmanov & Muzyka, 2017). Всесвітня організація охорони здоров'я у галузі антибіотикорезистентності рекомендує розробку і впровадження ефективних підходів з подолання цього небезпечного явища шляхом проведення комплексних моніторингових досліджень стійкості мікроорганізмів до антимікробних препаратів. Проблема антибіотикорезистентності мікроорганізмів визнана глобальною, й у даний час є одним зі стратегічних завдань у світі є стримування розвитку і розповсюдження антибіотикостійких мікроорганізмів (Livermore, 2005; Pitout & Laupland, 2008; Smet et al., 2010; Lee et al., 2013; Nilsen et al., 2013; de Sousa et al., 2017). Проведення моніторингу чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів надасть необхідну інформацію про поточний стан резистентності збудників зоонозів у конкретному господарстві, регіоні та країні загалом, допоможуть ветеринарним

лікарям у виборі ефективного антимікробного засобу лікування бактеріальних інфекцій у тварин та сприятимуть більш розсудливому використанню антибактеріальних препаратів у ветеринарній медицині (Salmanov & Muzyka, 2017; Fotina et al., 2018; Garkavenko et al., 2020; Rublenko & Holovko, 2020). Збільшення кількості стійких збудників, таких як *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp., відіграють важливе епідеміологічне значення серед інфекційних захворювань, спільних для людей і тварин (Brtkova et al., 2010; Garmasheva & Kovalenko, 2010; Byappanahalli et al., 2012; Valyshev & Gercen, 2012; Jiménez et al., 2013; Liu et al., 2014; Chung et al., 2014; Dworniczek et al., 2014; Kryvda et al., 2014; Yuen & Ausubel, 2014; Kim et al., 2018; Mughini-Gras et al., 2019). У багатьох країнах світу виявлено збільшення кількості резистентних штамів мікроорганізмів, виділених від тварин (Alekhun & Levy, 2007; Schane et al., 2017; Kasjanchuk et al., 2018; Chen et al., 2020). Зібрані дані країнами-членами Європейського Союзу використовуються для проведення більш широких аналізів про споживання антимікробних препаратів та антибіотикорезистентності у тварин, харчових продуктах тваринного походження та людей, створені EFSA та ECDC (EFSA).

Бактерії роду *Campylobacter* поширені повсюдно в природі, вони присутні в організмі свійської птиці або теплокровних тварин і можуть персистувати тривалий час у навколишньому середовищі за несприятливих умов. Кампілобактеріоз у більшості випадків протікає з симптомами ентероколіту та гастроентериту, тривалість захворювання становить від 2–3 днів до 2 тижнів і більше, людина також може бути безсимптомним носієм протягом тривалого часу. Враховуючи значну поширеність та циркуляцію кампілобактерів у природі, дослідники приділяють велику увагу частоті виявлення цих мікроорганізмів у різних об'єктах. Вони присутні в навколишньому середовищі як комменсали чи патогени в організмі свійської птиці чи тварин і можуть персистувати тривалий час за несприятливих умов. Насамперед *C. jejuni* розглядається як нормальний мешканець кишечника птахів. Ступінь бактеріоносійства у свійської птиці дуже високий і сягає 90 %. У вмісті кишечника курей кількість *C. jejuni* може досягати 10^6 КОЕ/г.

В даний час в Україні проводиться незначна кількість досліджень в цьому напрямку і, враховуючи актуальність проведення моніторингу антибіотикорезистентності у світі, метою нашої роботи було провести дослідження зразків сліпої кишки (сліпих відростків) з вмістом від великої рогатої худоби, свиней, птиці згідно з планом державного моніторингу щодо протимікробної резистентності в Україні, виділення та ідентифікації, отримання детальної інформації циркуляції антибіотикорезистентних ізолятів збудників зоонозів та коменсальних бактерій, а саме: ізолятів *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp., визначенням їхньої чутливості та виявлення набутих механізмів резистентності до антибактеріальних препаратів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження були проведені в Державному науково-дослідному інституті з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи у 2021 року з використанням мікробіологічного та статистичного методів.

Відповідно до плану державного моніторингу щодо протимікробної резистентності у ветеринарній медицині проведено дослідження 2120 зразків сліпої кишки (сліпого відростка) з вмістом від великої рогатої худоби, свиней та птиці на наявність представників коменсальної та патогенної мікрофлори, таких як *E. coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus* spp., *Campylobacter* spp. Дослідження проводились відповідно до міжнародних нормативних документів та включали в себе селективне накопичування шляхом висіву зразків на рідкі селективні середовища з подальшим пересівом на тверді диференційно-діагностичні середовища. Надалі проводився відбір окремих колоній та ідентифікація культур за допомогою діагностичних тестів. Усі дослідження виконувались стандартизованими методами згідно з чинними нормативними документами: ДСТУ 4769:2007 “Бактеріологічні дослідження патологічного матеріалу від тварин. Методи виявлення сальмонел”; ПВ.7-9/1 Лабораторна діагностика колібактеріозу (ешеріхіозу) тварин. Бактеріологічні дослідження патологічного та біологічного матеріалу; Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення і підрахунку кампілобактерій (*Campylobacter* spp.). Частина 1. Метод виявлення (ISO 10272-1:2006), IDT: ДСТУ ISO 10272-1:2007.

Ідентифіковані культури піддавалися тестуванню на чутливість до антибіотиків диско-дифузійним методом, методом визначення мінімальних інгібуючих концентрацій та виявленням набутих механізмів резистентності до антибактеріальних препаратів. Для досліджень використовувались середовища та діагностичні тести виробництва Himedia. Всі середовища та діагностичні тести попередньо були перевірені за показниками: продуктивність, селективність, специфічність та мали задовільні результати. Рісткові властивості середовищ перевіряли за допомогою тест-культур з колекції ATCC.

Дослідження з визначення чутливості дослідних ізолятів проводили диско-дифузійним методом (ДДМ) на агарі Мюллера-Хінтона (МХ). Виготовлення бактеріальної суспензії здійснювали суспензійним методом, для цього у стерильному фізіологічному розчині суспендувати добові колонії *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp. до оптичної щільності 0,5 одиниць за МакФарландом (McF). Виготовлену суспензію ретельно гомогенізувати. Наносили 0,5 см³ суспензії бактеріальної культури на поверхню агара МХ, після чого на поверхні агару розміщували диски з антибіотиками. В досліді використовували диски із антибіотиками до таких препаратів: ампіцилін (AMP¹⁰), амікацин (AMK³⁰), азитроміцин (AZM), хлорамфенікол (C³⁰), ципрофлоксацин (CIP⁵), колістин (C), меропенем (MRP¹⁰), гентаміцин (GEN¹⁰), налідік-

сова кислота (NA²⁰), сульфаметоксазол (SM²⁵), тетрациклін (TET³⁰), триметопрім (TR⁵), тігекілін (TIG¹⁵), цефтазидим (CAZ¹⁰), еритроміцин (E¹⁵), ванкоміцин (VAN⁵), тейкопланін (TPL³⁰), лінезолід (LZ¹⁰). Інкубували в термостаті за температури 37 °C протягом 18–22 год. Проведення контролю якості досліджень здійснювали з тестовою культурою *Escherichia coli* ATCC 25922. Для проведення контролю якості у *Enterococcus* spp. застосовували контрольні штами: як позитивні контролю використовували *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 і *Enterococcus faecium* NCTC 12202, резистентні до ванкоміцину. Як негативний контроль використовували тест-культуру *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, чутливу до дії ванкоміцину

(Garkavenko et al., 2020). Оцінку чутливості штамів до антибактеріальних препаратів проводили відповідно до рекомендацій Європейського Комітету з дослідження протимікробної чутливості EUCAST (EUCAST, 2017).

Результати досліджень

Згідно з планом державного моніторингу антимікробної резистентності в Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи надійшло 2120 зразків сліпої кишки (сліпого відростка) з вмістом від великої рогатої худоби, свиней

Таблиця 1

Кількість зразків сліпої кишки з вмістом, які надійшли на дослідження в розрізі областей

Назва областей	Всього надійшло зразків	Виділено та ідентифіковано ізолятів зоонозів та коменсальних мікроорганізмів, з них:			
		<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Campylobacter</i> spp.
Вінницька	110	6	0	6	0
Волинська	110	6	0	13	0
Дніпропетровська	120	12	2	19	0
Донецька	20	2	1	7	0
Житомирська	110	6	0	7	0
Закарпатська	85	7	0	6	0
Запорізька	110	1	0	2	0
Івано-франківська	110	0	0	0	0
Київська	40	7	1	12	0
Кіровоградська	60	2	1	9	0
Луганська	60	8	0	6	0
Львівська	65	14	0	15	2
Миколаївська	60	15	0	5	0
Одеська	60	9	0	5	0
Полтавська	60	4	0	2	0
Рівненська	110	8	0	16	0
Сумська	12	1	0	1	0
Тернопіль	110	18	2	14	0
Харківська	98	13	4	12	0
Херсонська	110	10	1	19	2
Хмельницька	110	0	0	0	0
Черкаська	165	7	4	19	10
Чернівецька	110	7	0	9	0
Чернігівська	115	6	3	18	2
ВСЬОГО	2120	169	19	227	33

Таблиця 2

Результати досліджень зразків сліпої кишки (сліпого відростка) з вмістом від великої рогатої худоби, свиней та птиці щодо протимікробної резистентності у ветеринарній медицині за 2021 рік

№ п/п	Об'єкти досліджень	Кількісні показники, шт. / відсоток до досліджених %		Примітки
1.	Всього: Досліджено: зразків сліпої кишки (сліпих відростків) з вмістом від великої рогатої худоби, свиней та птиці	2120		
2.	Всього: Виділено та ідентифіковано ізолятів зоонозів та коменсальних мікроорганізмів, з них:	448/21,1		
	<i>E. coli</i>	169/8,0	37,7 % від усіх виділених ізолятів	
	<i>Salmonella</i> spp.	19/0,9	4,24 % від усіх виділених ізолятів	
	<i>Enterococcus faecium</i>	57/2,8	12,7 % від усіх виділених ізолятів	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	170/8,0	37,9 % від усіх виділених ізолятів	
	<i>Campylobacter</i> spp.	33/15,6	7,4 % від усіх виділених ізолятів	

У результаті проведених досліджень було виділено та ідентифіковано 448 ізолятів зоонозів та коменсальних мікроорганізмів, а саме: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp. що становило 21,1 % від усіх досліджених, як показано на табл. 2.

У 169 ізолятах виділено *E.coli*, що складало 8,0 % від досліджених. *Salmonella* spp. виділили в 19 пробах, або 0,9 %. Серед 448 ізолятів у 57 ідентифіковано *Enterococcus faecium*, у 170 – *Enterococcus faecalis*, що становило 2,8 та 8,0 % від усіх досліджених відповідно. *Campylobacter* spp. виділено у 33 випадках – 15,6 % (рис. 1).

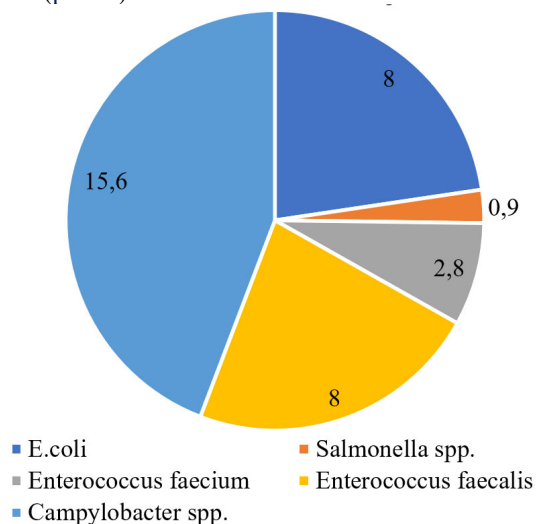


Рис. 1. Результати досліджень виділених та ідентифікованих ізолятів зоонозів та коменсальних мікроорганізмів у відсотках до досліджених ізолятів

Варто зазначити, що у відсотковому еквіваленті частка *E. coli* складала 37,7 %, *Salmonella* spp. – 4,24 %, *Enterococcus faecium* – 12,7 %, *Enterococcus*

faecalis – 37,9 %, *Campylobacter* spp. – 7,4 % від усіх виділених ізолятів (рис. 2).

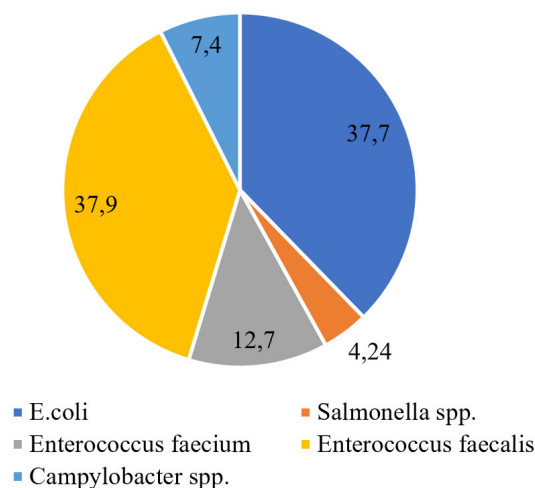


Рис. 2. Результати досліджень виділених та ідентифікованих ізолятів зоонозів та коменсальних мікроорганізмів у відсотках від усіх виділених ізолятів

Аналіз отриманих результатів досліджень з визначення чутливості до антибактеріальних препаратів (АБП) показав, що у 8 ізолятах виявлена чутливість до АБП, що становило 0,4 % від усіх досліджених та 1,8 % від усіх виділених ізолятів. Серед досліджених ізолятів виявили 237 монорезистентних, чутливих до 1–2 антибактеріальних препаратів, що склало 11,2 % від усіх досліджених. Відсоток від усіх виділених ізолятів складав 52,9 %. Варто зазначити, що серед досліджених ізолятів виявили 203 полі- (мультирезистентних) чутливих до 3 і більше антибактеріальних препаратів, що становило 9,6 % від усіх досліджених та 45,3 % від усіх виділених ізолятів (табл. 2).

Таблиця 3

Результати досліджень з визначення чутливості до антибактеріальних препаратів у виділених ізолятах

№ п/п	Об'єкти досліджень	Кількісні показники, шт. / відсоток до досліджених %	Примітки
1	Всього:		
	Виявлено чутливих до антибактеріальних препаратів (АБП) ізолятів	8/0,4	1,8 %
2	Монорезистентних (до 1-2 АБП) Ізолятів	237/11,2	52,9 %
3	Полі- (мультирезистентних) – більше ніж 3 АБП	203/9,6	45,3%

Враховуючи отримані результати щодо виявлення набутих бета-лактамаз розширеного спектру (ESBL) у 10 ізолятів ентеробактерій – штамів *E. coli* виявлено та підтверджено їх продукцію за постановки диско-дифузійного методу із застосуванням маркерів цефалоспоринов, що доводять присутність антибіотикорезистентних штамів ешерихій. У відсотках це становило 5,9 %. Серед великої рогатої худоби виявлено 3 (0,7 %) ізоляти, свиней – 4 (0,9 %), птиці (курчат і курей-бройлерів) – 2 (0,4 %) та птиці (курей) – 0,2 %.

Щодо виявлення та підтвердження продукції набутих бета-лактамаз розширеного спектру (ESBL) серед

штамів *Salmonella* spp. за проведення досліджень диско-дифузійного методу із застосуванням маркерів цефалоспоринов, продукція ESBL не була підтверджена.

Результати досліджень з вивчення антибіотикочутливості *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, виділених із зразків сліпої кишки (сліпого відростка) з вмістом від великої рогатої худоби, свиней та птиці, виявлені 3 ванкоміцинорезистентні штами *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, що підтверджувала набути механізми резистентності. Серед свиней виявлено – 1 (0,2 %), птиці (курчат і курей-бройлерів) – 2 (0,4 %) (табл. 3).

Таблиця 4

Результати досліджень з виявлення набутих механізмів резистентності до антибактеріальних препаратів

№ п/п	Об'єкти досліджень	Кількісні показники, шт. / відсоток до досліджених %	Примітки
1.	Всього:		
1.1.	Виявлено набутих бета-лактамаз розширеного спектру (ESBL) у ізолятів: ентеробактерій та підтверджено їх продукцію		
	- <i>E.coli</i>	10/0,5	5,9 %
	- <i>Salmonella</i> spp.	0	-
	Зокрема:		
	- Серед великої рогатої худоби	3/0,1	0,7 %
	- Свиней	4/0,2	0,9 %
	- Птиці курчат і курей-бройлерів	2/0,09	0,4 %
	- Птиці (курей)	1/0,05	0,2 %
1.2.	Всього:		
	Виявлено ванкомицинорезистентних <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	3,0	1,3 %
	Зокрема:		
	- Свиней	1/0,05	0,2 %
	- Птиці (курчат і курей-бройлерів)	2/0,09	0,4 %

Таким чином, отримана детальна інформація циркуляції антибіотикорезистентних ізолятів збудників зоонозів та коменсальних бактерій, а саме: ізолятів *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter* spp.

Обговорення

Стійкість мікроорганізмів зоонозних та коменсальних бактерій до антибактеріальних препаратів – це зростаюча проблема громадського здоров'я, яка потребує невідкладних дій. На сесії Генеральної Асамблеї Організації Об'єднаних націй у Нью-Йорку (2016 р.) главами держав були прийняті зобов'язання щодо розгортання широкої і координованої діяльності стосовно боротьби з глибинними причинами стійкості до антибіотиків, особливо в секторах охорони здоров'я людини і тварин та сільського господарства шляхом проведення комплексних моніторингових досліджень стійкості мікроорганізмів до антимікробних препаратів з подальшою розробкою національного плану дій щодо вирішення проблеми стійкості до антибактеріальних препаратів.

Оскільки високу резистентність збудників бактеріальних інфекцій реєструють у всьому світі, існує потреба постійного моніторингу чутливості бактерій до антибактеріальних препаратів.

Отримані дані щодо стійкості збудників зоонозних та коменсальних інфекцій, одержаних в результаті проведених мікробіологічних досліджень, є актуальною проблемою сьогодення. Протягом двох останніх десятиліть у деяких країнах, таких як США та Великобританія, спостерігається різке зростання випадків захворюваності на кампілобактеріоз, число яких перевищує над іншими поширеними харчовими інфекціями – сальмонельозом і шигельозом. Широке поширення кампілобактеріозного ентериту в різних країнах світу та великі соціально-економічні збитки від цього захворювання пояснюють його включення Всесвітньою Організацією охорони здоров'я (ВООЗ) до списку емерджентних харчових інфекцій.

Епідеміологія кампілобактеріозу в даний час є об'єктом пильної уваги та детального вивчення у більшості розвинених країн світу, оскільки бактерії роду *Campylobacter* все частіше реєструються як етіологічний агент при харчових спалахах, а також у спорадичних випадках бактеріальних гастроентеритів та діарейних захворювань. ВООЗ визнає, що близько 1 % населення Західної Європи щорічно інфікується кампілобактерами, тому *Campylobacter* вважається одним з найбільш значущих “нових” зоонозних патогенів, здатних викликати захворювання людини і тварин. У 2019 році сальмонельоз був другим за поширеністю зоонозом у Європейському Союзі – цей показник становив 87923 підтверджених випадків у людей, а також найчастішою причиною спалахів харчового отруєння, що становило 17,9 % усіх випадків, зареєстрованих у 2019 році (EFSA). В Україні (за даними Центру громадського здоров'я) показник захворюваності людей на сальмонельоз складав 8586 випадків, що становило 20,3 % (Garkavenko et al., 2021).

Таким чином, моніторинг антимікробної резистентності у зоонозних та коменсальних бактерій у тварин та харчової продукції тваринного походження передбачає специфічний і безперервний збір, аналіз і звітність даних, дає змогу зрозуміти розвиток та поширення резистентності, стежити за тимчасовими тенденціями у виникненні та поширенні антимікробної резистентності, ідентифікації нових або специфічних моделей резистентності, а також надає відповідні дані оцінки ризику та оцінює цілеспрямовані втручання.

Висновки

Отже, задля зменшення поширення антибіотикорезистентності необхідно проводити постійний моніторинг чутливості патогенних бактерій до антибактеріальних препаратів, а особливо ізолятів бактерій, виділених під час відбору зразків відповідно до державного моніторингу щодо протимікробної резистентності

від сільськогосподарських тварин у тваринницьких господарствах України.

В результаті проведених досліджень 2120 зразків сліпої кишки (сліпого відростка) з вмістом від великої рогатої худоби, свиней та птиці було виділено та ідентифіковано 448 ізолятів, серед яких: *E.coli* складала 37,7 %, *Salmonella* spp. – 4,24 %, *Enterococcus faecium* – 12,7 %, *Enterococcus faecalis* – 37,9 %, *Campylobacter* spp. – 7,4 % від усіх виділених ізолятів.

При визначенні чутливості до антибактеріальних препаратів виявлено 8 чутливих ізолятів, 237 ізолятів були монорезистентними (чутливість до 1–2 АБП), 203 – полірезистентними (чутливими до 3 і більше АБП).

В результаті досліджень виявлено та підтверджено продукцію (ESBL) у десяти штамів *Escherichia coli*.

Виявлені три ванкомицинорезистентні штами *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*.

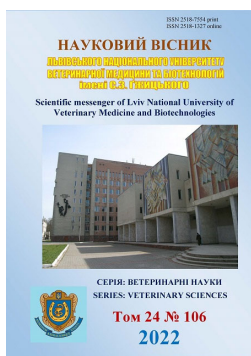
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Alekshun, M. N., & Levy, S. B. (2007). Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128(6), 1037–1050. DOI: 10.1016/j.cell.03.004.
- Bao, L., Peng, R., Ren, X., Ma, R., Li, J., & Wang, Y. (2013). Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics. *Pak. J. Med. Sci.*, 29(1), 135–139. DOI: 10.12669/pjms.291.2744.
- Brtkova, A., Filipova, M., Drahovska, H., et al. (2010). Characterization of enterococci of animal and environmental origin using phe-notypic methods and comparison with PCR based methods. *Veterinari Medicina*, 55(3), 97–105. URL: https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/159_2009-VETMED.pdf.
- Byappanahalli, M. N., Nevers, M. B., & Korajkic, A. et al. (2012). Enterococci in the environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(4), 685–706. DOI: 10.1128/MMBR.00023-12.
- Chen, S., Zhao, S., White, D. G., Schroeder, C. M., Lu, R., Jang, H., McDermott, P. F., Ayers, S., & Meng, J. (2020). Characterization of Multiple – Antimicrobial – Resistant *Salmonella* Serovars isolated from Retail Meats. *Appl Environ Microbiol*, 70(1), 1–7. DOI: 10.1128/AEM.70.1.1-7.2004.
- Chung, Y. S., Kwon, K. H., Shin, S., et al. (2014). Characterization of Veterinary Hospital-Associated Isolates of *Enterococcus* Species in Korea. *J. Microbiol. Biotechnol*, 24(3), 386–393. DOI: 10.4014/jmb.1310.10088.
- de Sousa, J. M., Balboutin, R., Durao, P., & Gordo, I. (2017). Multidrug – resistant bacteria compensate for the epistasis between resistances. *PLoS Biol*, 15(4), e2001741. DOI: 10.1371/journal.pbio.2001741.
- Dworniczek, E., Piwowarczyk, J., Seniuk, A., & Gościński, G. (2014). Enterococcus – virulence and susceptibility to photodynamic therapy of clinical isolates from Lower Silesia, Poland. *Scand. J. Infect. Dis.*, 46(12), 846–853. DOI: 10.3109/00365548.2014.952244.
- EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2021. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2018/2019. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6490.
- EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance Version 2.01 Juli 2017-43p. <https://www.eucast.org>.
- European Union (2003). Regulation (EC) № 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Off J Eur Union*, 50.
- Fotina, T. I., Fotina, G. A., Klischova, G. E., Arefjev, V. L. & Chemich, J. M. (2018). Rol monitoring ta kontrolyu za toksykoinfekcijamy ta toksykozamy u zabezpechnni biobezpeky naselennja Ukrainy. *Veterinarna biotechnologia*, 32(2), 585–592 (in Ukrainian).
- Garkavenko, T. A., Gorbatiuk, O. I., Kozitska, T. G., Andriashchuk, V. O., & Dibkova, S. M. (2020). Bio-risks for animals and humans for the promise of enterococcal infections. *Veterinary biotechnology*, 36, 21–33 (in Ukrainian).
- Garkavenko, T. O., & Bergilevich, O. M. (2017). Vychennia antybiotykorezistentnosti osnovnykh zbudnykiv bacterialnykh zachvorum tvaryn ta ptytsi do β -lactamiv v Ukraini. *Veterynarna biotechnologia – Veterinary biotechnology*, 34, 33–45 (in Ukrainian).
- Garkavenko, T. O., Andriashchuk, V. O., Gorbatiuk, O. I., Kozitska, T. G., & Garkavenko, V. M. (2021). Rezultaty bakteriologichnykh doslidzen ta spectr serologichnykh variantiv salmonel, vydilyenyh iz harchovykh productiv tvarynnogo pohodzhennya v Ukraini za 2016–2020 rr. [The results of bacteriological research and the range of serological variants of *Salmonella* isolated from food products of animal origin in Ukraine for the period 2016–2020]. *Veterynarna biotechnologia*, 39, 29–43. DOI: 10.31073/vet_biotech39-03 (in Ukrainian).
- Garkavenko, T. O., Nevolko, O. M., Ordynska, D. O., Mezhenka, N. A., & Kozitska, T. G. (2015). Antybiotykoresistentnist mikroorganizmiv [Antibiotic resistance of microorganisms]. *Veterynarna medycyna Ukrainy*, 3(229), 13–16. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetm_2015_3_7 (in Ukrainian).
- Garmasheva, I. L., & Kovalenko, N. K. (2010). Identifikacija i taksonomija jenterokokkov. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunologii*, 5, 49–54 (in Ukrainian).
- Gnanadhas, D. P., & Marathe, S. A. (2013). Biocides – resistance, cross-resistance mechanisms and assessment. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 22 (2), 191–206. DOI: 10.1517/13543784.2013.748035.
- Jiménez, E., Ladero, V., Chico, I. et al. (2013). Antibiotic resistance, virulence determinants and production of biogenic amines among enterococci from ovine, feline, canine, porcine and human milk. *BMC Microbiology*, 13, 288–300. DOI: 10.1186/1471-2180-13-288.
- Kasjanuchuk, V. V., Bergilevich, O. M., Kusturov, V. B., & Derjabin, O. M. (2018). Resistentnist isolyatuv *Escherichia coli*, vydilyenyh z poverhni tusch svynej do antybiotikalnykh preparativ [Resistance of *Escherichia*

- coli isolates isolated from the surface of pig carcasses to antibacterial drugs]. *Veterynarna biotechnologiya*, 32(2), 219–229. DOI: 10.31073/vet_biotech32(2)-26 (in Ukrainian).
- Kim, Y.-J., Park, J.-H., & Seo, K.-H. (2018). Comparison of the loads and antibiotic resistance profiles of *Enterococcus* species from conventional and organic chicken carcasses in South Korea. *Poultry Science*, 97(1), 271–278. DOI: 10.3382/ps/pex275.
- Kotzuba, K. R., Voronkova, O. S., Vinnikov, A. I., & Schevchenko, T. M. (2014). *Mehanizmy stiykosti do antybiotykyk predstavnyky rodyny Enterobacteriaceae* [Mechanisms of resistance to antibiotics of the family Enterobacteriaceae]. *Visnyk Dnipropetrovskogo universytetu. Biologia, medicina*, 5(1), 33–38. DOI: 10.15421/021407 (in Ukrainian).
- Kryvda, M. I., Galatiuk, O. E., & Solodka, L. O. (2014). Problemy identyfikatsii enterobakterij pry doslidzheni klinichnogo materialu. *Visnyk Zhytomyrskogo natsionalnogo argoekologichnogo universytetu*, 1(1), 125–130 (in Ukrainian).
- Lee, B., Kang, S. Y., Kang, H. M., Yang, N. R., Kang, H. G., Ha, I. S., Cheong, H. I., Lee, H. J., & Choi, E. H. (2013). Outcome of antimicrobial therapy of pediatric urinary tract infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Infect. Chemother*, 45(4), 415–421. DOI: 10.3947/ic.2013.45.4.415.
- Liu, P. Y., Shi, Z. Y., Tung, K. C., Shyu, C. L., Chan, K. W., Liu, J. W., Wu, Z. Y., Kao, C. C., Huang, Y. C., & Lin, C. F. (2014). Antimicrobial resistance to cefotaxime and ertapenem in Enterobacteriaceae: The effects of altering clinical breakpoints. *J. Infect. Dev. Ctries*, 8(3), 289–296. DOI: 10.3855/jidc.3335.
- Livermore, D. M. (2005). β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin. Microbiol. Rev*, 8(4), 557–584. DOI: 10.1128/CMR.8.4.557.
- Mughini-Gras, L., Dorado-García, A., van Duinkerken, E., van den Bunt, G., Dierikx, C. M., Bonten, M. J. M., Bootsma, M. C. J., Schmitt, H., Hald, T., Evers, E. G., de Koeijer, A., van Pelt, W., Franz, E., Mevius, D. J., & Heederik, D. J. J. (2019). Attributable sources of community-acquired carriage of *Escherichia coli* containing β -lactam antibiotic resistance genes: a population-based modelling study. *The Lancet Planetary Health*, 3(8), e357–e369. DOI: 10.1016/S2542-5196(19)30130-5.
- Nilsen, E., Haldorsen, B. C., Sundsfjord, A., Simonsen, G. S., Ingebretsen, A., Naseer, U., & Samuelsen, O. (2013). Large IncHI2-plasmids encode extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in *Enterobacter* spp. bloodstream isolates, and support ESBL-transfer to *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Infect*, 19(11), E516–518. DOI: 10.1111/1469-0691.12274.
- Pfaller, M. A., Flamm, R. K., Sader, H. S., & Jones, R. N. (2014). Ceftaroline activity against bacterial organisms isolated from acute bacterial skin and skin structure infections in United States medical centers (2009–2011). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*, 78(4), 422–428. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.08.027.
- Pitout, J. D., & Laupland, K. B. (2008). Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*, 8(3), 159–166. DOI: 10.1016/S1473-3099(08)70041-0.
- Rublenko, N., & Holovko, A. (2020). Antimicrobial susceptibility of isolates of *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* isolated in Ukraine during the period of 2014–2017. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(97), 58–68. DOI: 10.32718/nvlvet9711.
- Salmanov, A. G., & Muzyka, V. P. (2017). Borotba z rezystentnistiu do antybiotykyk na pryntsyphakh kotseptsii “Edyne zdorovya” [Combating antibiotic resistance on One Health catsepsia prints]. *Mizhnarodnyj zhurnal antybiotyky ta probiotyky*, 1(2), 8–29. DOI: 10.31405/ijap.1-2.17.01.
- Salmanov, A. G., Marievskij, V. F., & Nalapko, U. I. (2010). Analiz etiologii i antybiotykoresistentnosti osnovnykh zbudnykyk vnutrishnolikarnyanyh infektsij u hirurgichnyh statsionarah. *Ukrainsryj zhurnal ekstremalnoi medytsyny imeni G. O. Mozhaeva*, 11(3), 48–55 (in Ukrainian).
- Schane, A. L., Mody, R. K., Crump, L. A., Tarr, P. I., Steiner, T. S., Kotloff, K., & Cantey, J. (2017). Infections Diseases Sotiy of America clinical practice guidelines for the diagnosis and management of infectious diarrhea. *Clinical Infections Diseases*, 65(12), e45–e80. DOI: 10.1093/cid/cix669.
- Smet, A., Martel, A., Persoons, D., Dewulf, J., Heyndrickx, M., Herman, L., Haesebrouk, F., & Butaye, P. (2010). Broad-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. *FEMS Microbiol Rev*, 34, 295–316. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00198.x.
- Stetsko, T. I. (2018). Monitorynh antybiotykohezystentnosti zoonoznykh bakteriy v Yevropeyskomu spivtovarystvi. [Monitoring of antibiotic resistance of zoonotic bacteria in the European community]. *Veterinary biotechnology*, 32(2), 504–515. DOI: 10.31073/vet_biotech32(2)-61 (in Ukrainian).
- Valyshev, A. V., & Gercen, N. V. (2012). Faktory patogenosti jenterokokkov kishhechnoj mikro-flory cheloveka. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunologii*, 4, 41–44 (in Ukrainian).
- Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., & Grenfel, B. T., et al. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(18), 5649–5654. DOI: 10.1073/pnas.1503141112.
- Vose, D., Acar, J., Anthony, F., Franklin, A., Gupta, R., et al. (2001). Antimicrobial resistans: risk analysis methodology for the potential impact on public health of antimicrobial resistant bacteria of animal origin. *Review of Science and Technology*, 20(3), 811–827. DOI: 10.20506/rst.20.3.1319.
- Yuen, G. J., & Ausubel, F. M. (2014). *Enterococcus* infection biology: Lessons from invertebrate host models. *J. Microbiol*, 52(3), 200–210. DOI: 10.1007/s12275-014-4011-6.



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/nvlvet10621

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

UDC 619: 661.164.2:616-085:616-084:636.03:636.5

Determination of acute toxicity of antiprotozoal drug “Avizuril”

O. A. Hunko✉, T. I. Fotina

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Article info

Received 20.04.2022

Received in revised form

23.05.2022

Accepted 24.05.2022

Sumy National Agrarian
University, G. Kondrat'eva, 160,
Sumy, Ukraine.

Tel.: +38-095-785-91-27

E-mail: gunko_doc@ukr.net

Hunko, O. A., & Fotina, T. I. (2022). Determination of acute toxicity of antiprotozoal drug “Avizuril”. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 136–141. doi: 10.32718/nvlvet10621

Chickenpox is an intestinal disease that disrupts growth and suppresses the immune system, leading to high mortality, which researchers estimate is more than \$ 3 billion annually in poultry. However, a significant problem of modern animal husbandry and especially poultry farming is the emergence of resistance in *Eimeria* to almost all coccidiostats. It is possible to prevent and prevent the emergence of drug resistance only by rotating the drugs with different active substances. For this purpose, 3–4 different drugs are used in the cultivation of animals and poultry. The goal of the work. In connection with the above purpose of the study was to determine the toxicity of the new antiprotozoal drug “Avizuril”. Depending on the amount of Avizuril administered, the mean lethal dose (DL_{50}) and the main parameters of acute toxicity were determined using the methods of G. Kerber (1931) and G. Pershin (1939, 1950). To determine the toxicity of the drug used male and female white rats aged three months, weighing 180 ± 9.0 g. For feeding animals used feed according to a unified diet. Toxic effect of the drug “Avizuril” on experimental rats is observed at a dose of 1200 mg/kg. Based on the data on the calculation of the average lethal dose of the drug “Avizuril” when administered into the stomach by G. Kerber (1931), it was found that the DL_{50} for white rats is 1570 mg per 1 kg of animal weight. At autopsy, rats that died from acute poisoning were noted hyperemia and edema of the mucous membrane of the stomach and intestines, congestion in the lungs, heart and liver, enlargement of the spleen. At the next stage of research, the subtoxic dose of Avizuril was determined. Observations of animals showed that 1–3 hours after oral administration of the drug in a subtoxic dose in laboratory animals showed suffocation and depression of the central nervous system. Most of them died during the first day. Subsequent observations of the surviving animals showed that their motor response was suppressed for the next 24–72 hours. In studies of acute toxicity of the drug “Avizuril” it was found that when administered intragastrically to white rats DL_{50} for white rats is 1570 mg per 1 kg of animal weight. Studies of the effect of the subtoxic dose of the drug “Avizuril” when administered orally on the general functional parameters of experimental rats noted suffocation and depression of the central nervous system, the death of most animals during the first day. Subsequently, the behavior of the surviving animals was characterized by suppression of motor reactions during the next 24–72 hours, decreased motor activity, agitation, reactivity and aggression, movement disorders, decreased response to touch and pain. According to the Sanitary and hygienic norms and SOU 85.2-37-736: 2011 according to the toxicity class the drug “Avizuril” in the concentration of 2.5 % when administered to the stomach of white rats belongs to the third class of danger (moderately dangerous compounds). In the future, it is planned to study the allergic properties of the drug “Avizuril”.

Key words: poultry, eimeriosis, Avizuril, toltrazuril, acute toxicity, prevention, coccidiostats.

Визначення параметрів гострої токсичності протипротозойного препарату “Авізурил”

О. А. Гунько✉, Т. І. Фотіна

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

Промислове птахівництво відіграє вирішальну роль у забезпеченні населення висококалорійними, високоякісними та екологічно безпечними продуктами харчування, а саме м'ясом та яйцями. Підвищена концентрація поголів'я птиці на обмеженій території створює сприятливі фактори для розповсюдження хвороб заразної етіології. Еймеріоз є однією з нагальних проблем сучасного промислового птахівництва. У збудників цього захворювання протягом 3–4 місяців виробляється резистентність до препаратів проти еймерій, тому вони потребують постійного оновлення та ротації. При розробці нового протипротозойного препарату важливим є визначення гострої та хронічної токсичності. При проведенні досліджень щодо визначення гострої токсичності препарату “Авізуріл” встановлено, що при внутрішньошлунковому введенні білим щурам DL_{50} для білих щурів становить 1570 мг засобу на 1 кг маси тварини. При дослідженні впливу субтоксичної дози препарату “Авізуріл” при оральному виявляли задуху й пригнічення центральної нервової системи, загинуло більшість тварин впродовж першої доби. Надалі поведінка тварин, що вижили, характеризувалася пригніченням рухових реакцій впродовж наступних 24–72 год, зниженням рухової активності, збудженістю, реактивністю та агресивністю, розладами руху, зниженням реакції на дотик і больові подразнення. Згідно з санітарно-гігієнічними нормами та СОУ 85.2-37-736:2011 за класом токсичності препарат “Авізуріл” у концентрації 2,5 % при введенні в шлунок білим щурам належить до третього класу небезпечності (помірно небезпечні сполуки).

Ключові слова: птахівництво, еймеріоз, Авізуріл, толтразурил, гостра токсичність, профілактика, кокцидіостатики.

Вступ

Птахівництво є однією з найбільш швидкозростаючих галузей сільського господарства, що сприяє забезпеченню глобального харчування і, таким чином, є однією з основних рушійних сил світової економіки (Mottet & Tempio, 2017). Серед багатьох захворювань, які уражають курей по всьому світі, зареєстрований еймеріоз, який пов'язаний з високим рівнем смертності в птахівництві (Blake & Tomley, 2014).

Еймеріоз курей – це кишкове захворювання, яке порушує ріст і пригнічує імунну систему, що призводить до високої смертності, яка, за оцінками дослідників, складає понад 3 мільярди доларів США щорічно у птахівництві (Blake & Tomley, 2014). Захворювання у промислової птиці викликають найпростіші апікомплексні паразити роду *Eimeria*, які налічують понад 1000 видів (Galat et al., 2014).

У курей було ідентифіковано сім видів *Eimeria*, серед яких *E. tenella*, *E. maxima* та *E. acervulina* які вважаються найбільш економічно значущими видами (Thenmozhi et al., 2014). Одночасне паразитування декількох видів збудників є поширеним явищем при еймеріозі, що сприяє не тільки підвищенню патогенності, а й призводить до встановлення помилкового або недостовірного діагнозу. Ідентифікація видів *Eimeria* є важливою, оскільки вона є основою для ефективного контролю за розповсюдженням і перебігом хвороби.

Ооцити еймерій спричиняють еймеріоз, коли вони потрапляють до курей через ковтання корму, води та підстилки, забрудненого ооцитами (Shivaramaiah et al., 2014). Також можливе поширення хвороби до благополучних пташників через ооцити, які містяться в фекаліях інфікованої птиці, через перенесення збудника за допомогою персоналу (Belli et al., 2006). Умови, за яких росте більшість бройлерів та іншої птиці, які вирощуються на м'ясо в комерційних цілях, також сприяють легкому поширенню хвороби.

Морфологічно ооцити еймерій мають товсту стінку, що стійка як до механічних, так і до хімічних факторів впливу (Mai et al., 2009). Інфекційна здатність ооцита обумовлена її здатністю спорулювати. Спорюльовані ооцити є інфекційними, а неспорюльовані ооцити – ні (Lal et al., 2009). Спорюльована ооциста може вижити за межами свого господаря протягом 602 діб, тимчасом як неспорюльовані ооцити можуть виживати близько 210 діб (Quiroz-Castañeda &

Dantán-González, 2015). Товста стінка ооцита пов'язана з її двошаровою структурою, яка складається з ліпідів і білків. Повідомляється, що білковий шар забезпечує ооциту високий рівень захисту при сильному холоді та спеці, тимчасом як ліпідний шар забезпечує захист проти хімічних факторів (Belli et al., 2006).

Згідно з даними директиви 81/852/ЄЕС зі змінами 1992 та 1993 років “Антикокцидні засоби, що використовуються для терапії кокцидіозу у курей, індичок та гусей та голубів”, протиеймеріозна дія кокцидіотиків, які застосовуються в Європейському Союзі повинна бути підтверджена щодо таких видів: кури: *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. brunetti*, *E. mitis*; індички: *E. adenoeides*, *E. meleagridis*, *E. galiopavonis*; гуси: *E. anseris*, *E. truncata* (еймеріоз нирок).

В Європі така дія забезпечується практично двома препаратами – Байкокс 2,5 %, виробництва фірми Байер, Німеччина та Севазуріл, виробництва фірми Сева, Франція, які в багатьох країнах зареєстровані під різними назвами, але всі вони являють собою 2,5 % розчин толтразурилу для перорального застосування з метою лікування птиці від еймеріозу.

Окрім кокцидіотиків, на сьогодні відома низка кокцидіостатиків, які умовно розподілені на 4 групи: хімічні, рослинні, іонофорні та комплексні.

Однак значною проблемою сучасного тваринництва та особливо птахівництва є виникнення резистентності у еймерій практично до всіх кокцидіостатиків. На сьогодні резистентність еймерій до ряду популярних кокцидіостатичних препаратів в окремих птахівничих господарствах може становити на рівні 10–60 %, а у країнах з розвиненим птахівництвом – на рівні 2480 % (Peek & Landman, 2011).

Запобігати виникненню резистентності до препаратів можливо лише за допомогою ротації препаратів з різними діючими речовинами. З цією метою при вирощуванні тварин та птиці застосовуються 3–4 різні препарати. У птахівничих господарствах не менше 1 разу в рік застосовуються хімічні кокцидіостатики.

Існує кілька варіантів програмного забезпечення зміни (ротації, шатл-програм) кокцидіостатичних препаратів з різними діючими речовинами. При застосуванні цих програм використовується 2–4 різних за структурою та дією кокцидіостатиків (Shkromada & Nedzheria, 2020).

У випадках масового виникнення еймеріозу в пта-хівничому господарстві проводять лікувальні заходи з використанням кокцидіотиків, до яких належить і толтразурил.

Незважаючи на те, що в останні роки вже виділя-лись окремі ізоляти еймерій, стійкі до толтразурилу від овець (Odden et al., 2018) та від свиней (Shrestha et al., 2017), дослідники повідомляють, що найголовні-шим є те, що толтразурил володіє вибірковою (дифе-ренційованою) дією. Він активний щодо всіх внутрі-шньоклітинних стадій розвитку еймерій, включаючи шизогонію, мікрогаметогонію, макрогаметогонію (статеве або безстатеве розмноження), але не діє на позаклітинні стадії розвитку (у вмісті кишківника), необхідні для формування імунітету. По суті ця тера-пія (препаратами на основі 2,5 % розчину толтразури-лу) спрямована на зменшення кількості пошкоджень (уражень) кишечника, пов'язаних з різними рівнями стійкості (резистентності) різних видів *Eimeria* до іонофорамних кокцидіостатиків. Це дозволяє віддали-ти процеси формування стійкості у еймерій до кокци-діостатичних препаратів та значно покращити вироб-ничі показники у птахівництві.

Мета і завдання дослідження. В зв'язку з вище-викладеним метою досліджень було визначення ток-сичності нового протипротозойного препарату “Аві-зурил”. Щоб досягти поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Встановити показники гострої токсичності на білих щурах.
2. Визначити зміни при застосуванні субтокси-чної дози на білих щурах.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на кафедрі вірусології, патанатомії та хвороб птиці, а також на кафедрі вет-санекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва факультету ветерина-рної медицини Сумського національного аграрного університету.

Дослідження фармако-токсикологічних властивос-тей нового протипротозойного препарату на основі 2,5 % розчину толтразурилу проводили відповідно до положень, викладених у посібнику “Доклінічні дослі-дження ветеринарних лікарських засобів” (Kotsyumbas et al., 2006). Залежно від кількості введе-ного препарату “Авізурил” визначали середньосмер-тельну дозу (DL_{50}) та визначали показники гострої

токсичності з використанням методів Г. Кербера (1931) та Г. Першина (1939, 1950) (Karpenko et al., 2022; Varkholiak et al., 2022).

Для визначення параметрів токсичності препарату використовували самців і самок білих щурів віком три місяці, які мали масу тіла $180 \pm 9,0$ г. Для годівлі тва-рин використовували корми згідно з уніфікованою дієтою. Годівлю білих щурів проводили у фіксовані години.

Після першого введення препарату визначення го-строї токсичності проводили протягом 14 діб. Нагляд за тваринами здійснювали щоденно, при цьому ви-значали такі параметри: масу тіла, поведінку, загаль-ний стан, реакцію на подразники, тонус скелетних м'язів, стан волосяного і шкірного покриву, колір слизових оболонок та шкіри, частоту і глибину диха-льних рухів, кількість та ритм серцевих скорочень, положення хвоста, розмір зіниць, консистенцію і кі-лькість фекальних мас, колір сечі, частоту сечовиді-лення, апетит та спрагу.

Для проведення дослідів було сформовано дослідні групи білих щурів, а також була сформована контро-льна група білих щурів по 5 голів в кожній. Об'єктам дослідних груп вводили препарат за допомогою зонда у терапевтичній, п'ятикратній та десятикратній дозі у визначений час. Тварин регулярно зважували, вели спостереження за поведінкою і клінічними станом.

При проведенні досліджень усіх дослідних тварин утримували у відповідних санітарно-гігієнічних умо-вах, а саме тварин перебували у віварії при темпера-турі 22–25 °C та відносній вологості 55–60 % в умовах природного світлового режиму “день–ніч” у метале-вих клітках. Усі дослідження проводили з обов'язковим дотриманням “Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей”.

Статистична обробка результатів досліджень про-водилась з використанням програмного забезпечення для Windows: Microsoft Excel.

Результати та їх обговорення

На першому етапі для отримання інформації про діапазон доз препарату сформували п'ять груп тварин по три голови в кожній. Введення препарату здійсню-вали, використовуючи широкий діапазон доз: 500, 1000, 2000, 3000 мг 2,5 % розчину препарату на 1 кг ваги (табл. 1).

Таблиця 1

Результати дослідження гострої токсичності препарату “Авізурил” при внутрішньошлунковому введенні білим щурам

№ групи досліду	Дози препарату “Авізурил”, мг/кг маси	Загинуло / вижило, тварин
1	500,0	0/3
2	1000,0	0/3
3	2000,0	3/0
4	3000,0	3/0

Надалі були проведені дослідження, враховуючи що препарат у дозі 1000 мг/кг не викликав загибелі тварин, а у дозі 2000 мг/кг викликав загибель усієї групи тварин. Щурам вводили препарат “Авізуріл” з кроком 100 мг/кг, починаючи з дози 1000 мг/кг до дози 2000 мг/кг маси тіла.

Для випробування кожного дозування використовували по 5 щурів (табл. 2).

За даними, наведеними в таблиці, встановлено, що токсичний вплив препарату “Авізуріл” на дослідних

щурів спостерігається при введенні в дозі від 1200 мг/кг. Загибель лабораторних щурів виявляли в кількості від однієї голови до п’яти залежно від дози.

Визначення середньосмертельних доз з методом Г. Першина (1939, 1950) (табл. 3).

Для визначення середньосмертельних доз препарату “Авізуріл” користувалися методом Г. Кербером (1931) (табл. 4).

Таблиця 2

Визначення гострої токсичності препарату “Авізуріл” при внутрішньошлунковому введенні білим мишам

Група тварин	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Доза препарату, мг/кг	1000	1100	1200	1300	1400	1500	1600	1700	1800	1900	2000
Загинуло тварин	0	1	1	1	1	2	2	3	3	4	5
Вижило тварин	5	4	4	4	4	3	3	2	2	1	0

Таблиця 3

Визначення гострої токсичності препарату “Авізуріл” при внутрішньошлунковому введенні щурам за Г. Першином

Дози засобу, мг/кг маси	1000	1100	1200	1300	1400	1500	1600	1700	1800	1900	2000
Загинуло /вижило тварин	0/5	1/4	1/4	1/4	1/4	2/3	2/3	3/2	4/1	4/1	5/0
Відсоток тварин, які загинули	0	20	20	20	20	40	40	60	80	80	100
a + b	1000	2100	2300	2500	2700	2900	3100	3300	3500	3700	3900
m – n	0	20	0	0	0	20	0	20	20	0	20
(a + b) • (m – n)	0	42000	0	0	0	58000	0	66000	70000	0	78000

$$DL_{50} = \frac{\Sigma[(a + b) \cdot (m - n)]}{200} = \frac{0 + 42000 + 0 + 0 + 0 + 58000 + 0 + 66000 + 70000 + 0 + 78000}{200} = \frac{314000}{200} = 1570$$

Таблиця 4

Визначення гострої токсичності препарату “Авізуріл” при внутрішньошлунковому введенні білим щурам за Г. Кербером

Дози засобу, мг/кг	1000	1100	1200	1300	1400	1500	1600	1700	1800	1900	2000
Вижило тварин	5	4	4	4	4	3	3	2	1	1	0
Загинуло тварин	0	1	1	1	1	2	2	3	4	4	5
Z	0	0,5	1,0	1,0	1,0	1,5	2,0	2,5	3,5	4,0	4,5
D	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
z d	0	50	100	100	100	150	200	250	350	400	450

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\Sigma(z d)}{m} = 2000 - \frac{0 + 50 + 100 + 100 + 100 + 150 + 200 + 250 + 350 + 400 + 450}{5} = 1570$$

Виходячи з даних про розрахунок середньосмертельної дози препарату “Авізуріл” при введенні в шлунок за Г. Кербером (1931), встановлено, що DL_{50} для білих щурів становить 1570 мг засобу на 1 кг маси тварини.

При розтині щурів, що загинули від гострого отруєння, виявляли гіперемію та набряк слизової оболонки шлунку й кишечника, застійні явища в легенях серці та печінці, збільшення селезінки.

На наступному етапі досліджень визначали субтоксичну дозу препарату “Авізуріл”. При спостереженні за білими щурами встановили, що після 3-х годин після введення препарату “Авізуріл” через зонд у шлунок в субтоксичній дозі у тварин спостерігали явища пригнічення центральної нервової системи й

задухи. Впродовж перших 24 годин більшість лабораторних тварин гинула. При подальшому спостереженні за живими білими щурами встановлено пригнічення рухової реакції протягом наступних 24–72 год. Також виявляли у дослідних тварин зниження реактивності та агресивності, рухової активності, збудженості, зменшення частоти дихання, знижену реакцію на дотик і больові подразнення (табл. 5).

Після розтину загиблих лабораторних тварин встановили такі зміни: печінка мала гладеньку й блискучу поверхню; черевна порожнина має гладенькі, блискучі, дещо зволожені стінки; парієтальна та вісцеральна плевро має гіперемійований вигляд; спайок та випотів на ній не виявлено; легенева тканина рожевого кольору, кровонаповнена, потовщення відсутні, еластичної

консистенції; змін у навколосерцевій сумці й серці не виявляли. Крім цього, виявляли розширення венозних синусів та коронарних судин, їх гіперемію; також помічали розширення піальних судин головного мозку, що відповідає гіпоксичному стану.

При проведенні подальших спостережень протягом 14 діб за лабораторними тваринами в них виявляли ознаки загальної інтоксикації (загальне пригнічення, тремор м'язів, скупченість). При застосуванні препарату “Авізуріл” в субтоксичній дозі такі ознаки отруєння зникали вже через добу.

Таблиця 5

Вплив субтоксичної дози препарату “Авізуріл” при внутрішньошлунковому введенні на загальні функціональні показники дослідних щурів

Показники	Час спостереження, год		
	6	24	72
Реакції в поведінці:			
агресивність	-2	-1	0
збудженість	-1	-1	0
реактивність	-1	-0	0
рухова активність	-2	-1	0
Нервово-м'язові реакції:			
реакція на больові подразнення	-1	0	0
сила хватки	-1	0	0
судоми при ході	-1	0	0
тремор	0	0	0
Вегетативні реакції:			
кількість фекальних мас	незначне збільшення		
колір сечі	без змін		
колір слизових оболонок	без змін		
консистенція фекальних мас	напіврідка		
розмір зіниці	без змін		
стан шерстяного покриву	без змін		
частота дихання	сповільнена		
частота сечовиділення	без змін		
частота скорочення серця	без змін		

Примітки: 0 – ефект відсутній; “-” – гальмування ефекту

Подібні дослідження щодо визначення токсичності препаратів проводили також інші вчені (Quiroz-Castañeda & Dantán-González, 2015; Shkromada & Nedzheria, 2020).

Таким чином, згідно з санітарно-гігієнічними нормами та СОУ 85.2-37-736:2011 за класом токсичності препарат “Авізуріл” у концентрації 2,5 % при введенні в шлунок білим щурам належить до третього класу небезпечності (помірно небезпечні сполуки).

білим щурам належить до третього класу небезпечності (помірно небезпечні сполуки).

Перспективи подальших досліджень. Надалі планується провести дослідження алергічних властивостей препарату “Авізуріл”.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

Висновки

1. При проведенні досліджень гострої токсичності препарату “Авізуріл” встановлено, що при внутрішньошлунковому введенні білим щурам DL₅₀ для білих щурів становить 1570 мг засобу на 1 кг маси тварини.

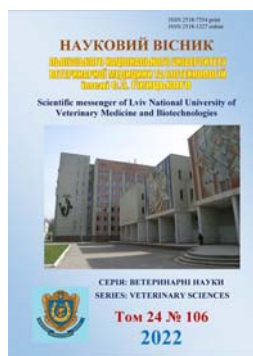
2. Дослідженнями впливу субтоксичної дози препарату “Авізуріл” при внутрішньошлунковому введенні на загальні показники дослідних тварин виявляли задуху й пригнічення центральної нервової системи, загинь більшої частини тварин впродовж першої доби. Надалі поведінка тварин, що вижили, характеризувалася пригніченням рухових реакцій впродовж наступних 24–72 год, зниженням рухової активності, збудженістю, реактивністю та агресивністю, розладами руху, зниженням реакції на дотик і больові подразнення.

3. Згідно з санітарно-гігієнічними нормами та СОУ 85.2-37-736:2011 за класом токсичності препарат “Авізуріл” у концентрації 2,5 % при введенні в шлу-

References

- Belli, S. I., Smith, N. C., & Ferguson, D. J. (2006). The coccidian oocyst: a tough nut to crack! Trends Parasitol., 22(9), 416–423. DOI: 10.1016/j.pt.2006.07.004.
- Blake, D. P., & Tomley, F. M. (2014). Securing poultry production from the ever-present Eimeria challenge. Trends Parasitol., 30(1), 12–19. DOI: 10.1016/j.pt.2013.10.003.
- Galat, V. F., Berezovsky, A. V., Soroka, N. M. et al. (2014). Global parasitology. Kyiv: DIA (in Ukrainian).
- Karpenko, Y., Hunchak, Y., Gutyj, B., Hunchak, A., Parchenko, M., & Parchenko, V. (2022). Advanced research for physico-chemical properties and parameters of toxicity piperazinium 2-((5-(furan-2-YL)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-YL)THIO)acetate. ScienceRise: Pharmaceutical Science, 2(36), 18–25. DOI: 10.15587/2519-4852.2022.255848.
- Kotsymbas, I. Ya., Malik, O. G., & Patereha, I. P., et al. (2006). Preclinical studies of veterinary drugs. Lviv: Triada Plus (in Ukrainian).

- Lal, K., Bromley, E., Oakes, R., Prieto, J. H., Sanderson, S. J., Kurian, D., et al. (2009). Proteomic comparison of four *Eimeria tenella* life-cycle stages: unsporulated oocyst, sporulated oocyst, sporozoite and second-generation merozoite. *Proteomics*, 9(19), 4566–4576. DOI: 10.1002/pmic.200900305.
- Mai, K., Sharman, P.A., Walker, R. A., Katrib, M., Souza, D. D., McConville, M. J., Wallach, M. G., Belli, S. I., Ferguson, D. J., & Smith, N. C. (2009). Oocyst wall formation and composition in coccidian parasites. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 104(2), 281–289. DOI: 10.1590/S0074-02762009000200022.
- Mottet, A., & Tempio, G. (2017). Global poultry production: current state and future outlook and challenges. *World's Poult Sci J.*, 73(2), 245–256. DOI: 10.1017/S0043933917000071.
- Odden, A., Enemark, H. L., Ruiz, A., Robertson, L. J., Ersdal, C., Nes, S. K., Tømmerberg, V., & Stuen, S. (2018). Controlled efficacy trial confirming toltrazuril resistance in a field isolate of ovine *Eimeria* spp. *Parasit Vectors*, 11, 394. DOI: 10.1186/s13071-018-2976-4.
- Peek, H. W., & Landman, W. J. (2011). Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. *Vet Q*, 31(3), 143–161. DOI: 10.1080/01652176.2011.605247.
- Quiroz-Castañeda, R. E., & Dantán-González, E. (2015). Control of avian coccidiosis: future and present natural alternatives. *BioMed Res Int*, 2015, 430610. DOI: 10.1155/2015/430610.
- Shivaramaiah, C., Barta, J. R., Hernandez-Velasco, X., Téllez, G., & Hargis, B. (2014). Coccidiosis: recent advancements in the immunobiology of *Eimeria* species, preventive measures, and the importance of vaccination as a control tool against these Apicomplexan parasites. *Vet Med*, 5(5), 23–34. DOI: 10.2147/vmrr.s57839.
- Shkromada, O., & Nedzheria, T. (2020). Intensity of invasion in emeriosis of rabbits in different methods of keeping. *Eureka: Health Sciences*, 5, 107–114. DOI: 10.21303/2504-5679.2020.001419.
- Shrestha, A., Palmieri, N., Abd-Elfattah, A., Rutkowski, B., Pagès, M., & Joachim, A. (2017). Cloning, expression and molecular characterization of a *Cystoisospora suis* specific uncharacterized merozoite protein. *Parasit Vectors*, 10, 68. DOI: 10.1186/s13071-017-2003-1.
- Thenmozhi, V., Veerakumari, L., & Raman, M. (2014). Preliminary genetic diversity study on different isolates of *Eimeria tenella* from South India. *Int J Adv Vet Sci Technol*, 3(1), 114–118. DOI: 10.23953/cloud.ijavst.194.
- 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.



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/nvlvet10622

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

UDC 543:544.6.076.326

A new spectrophotometric method analysis of adrenaline in pharmaceuticals based on laccase-like nanozymes

O. M. Demkiv^{1,2✉}, N. Ye. Stasyuk¹, G. Z. Gayda¹, N. M. Grynychshyn², O. T. Novikevuch²,
O. G. Demchuk², M. V. Gonchar¹

¹Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv, Ukraine

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

Article info

Received 22.04.2022

Received in revised form

23.05.2022

Accepted 24.05.2022

Institute of Cell Biology, National
Academy of Sciences of Ukraine,
Drahomanov Street 14/16,
Lviv 79005, Ukraine.
Tel.: +38-067-672-36-95
E-mail: olgademkiv81@gmail.com

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

Demkiv, O. M., Stasyuk, N. Ye., Gayda, G. Z., Grynychshyn, N. M., Novikevuch, O. T., Demchuk, O. G., & Gonchar, M. V. (2022). A new spectrophotometric method analysis of adrenaline in pharmaceuticals based on laccase-like nanozymes. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 142–148. doi: 10.32718/nvlvet10622

Nanozymes, which have high enzyme-like activity of natural enzymes, are very promising for analytical purposes, in particular, for the development of methods for sensitive, quantitative detection of practically important analytes – biomarkers of common diseases or pharmaceutical products. Recently, it has been reported that artificial enzymes with laccase-like activity or “nanolaccases (nLacs),” can serve as catalytic elements for the creation of sensitive methods for catecholamines. Our work aimed to obtain laccase-like nanozymes and characterize and demonstrate their suitability for spectrophotometric adrenaline (AD) analysis. In this article, we report on preparing five hexacyanoferrate nanoparticles (HCF NPs) that possess laccase-like activity, particularly, Co-HCF, Ni-HCF, Mn-HCF, Zn-HCF, and Cu-HCF. Among the investigated nLacs, Cu-HCF was selected and characterized. It was shown that Cu-HCF reveals the highest activities, is stable in various pH conditions in the range 3.0–6.5, and has satisfactory stored stability. A new spectrophotometric method for the quantitative detection of AD was created using the selected nLacs. The linearity of the proposed method is in the range from 5 μM to 50 μM (0.66–11 $\mu\text{g/ml}$), and the limit of detection is 1.5 μM (0.33 $\mu\text{g/ml}$), which is lower than that catalyzed by native laccase (1.15 $\mu\text{g/ml}$). The proposed method was tested on the real samples of pharmaceuticals, and the obtained data agree with the data declared by the producer. The resulting nLacs have great potential for use in catalysis of mimetics, environmental restoration, and sensor design. Thus methods, the obtained Cu-HCF has great potential application in spectrophotometric and biosensor method for analysis of biologically active toxic compounds in surface waters.

Key words: spectrophotometric method, laccase-like nanozymes, nanolaccase, adrenaline analysis, pharmaceuticals.

Новий спектрофотометричний метод за використання лакказних нанозимів для аналізу адреналіну в фармацевтичних препаратах

О. М. Демків^{1,2✉}, Н. Є. Стасюк¹, Г. З. Гайда¹, Н. М. Гринчишин², О. Т. Новікевич², О. Г. Демчук²,
М. В. Гончар¹

¹Інститут біології клітини НАН України, м. Львів, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Нанозими (НЗ), що володіють високою ферментоподібною активністю природних ензимів, є сьогодні дуже перспективними для аналітичних цілей, зокрема для розроблення методів високочутливої кількісної детекції практично важливих аналітів – біома-

ркерів поширених захворювань або фармацевтичних продуктів. Недавні дослідження повідомляють, що штучні ферменти з псевдолаказною активністю або “нанолакази” можуть служити каталітичним елементом для створення чутливих методів аналізу катехоламінів. Метою нашої роботи було отримати лакказоподібні-нанозими, охарактеризувати та продемонструвати їх придатність для спектрофотометричного методу аналізу адреналіну (АД). В цій статті ми повідомляємо про отримання п'яти типів гексаціанофератних наночастинок (HCF НЧ), які володіли лакказною активністю: Co-HCF, Ni-HCF, Mn-HCF, Zn-HCF та Cu-HCF. Серед досліджуваних “нанолаказ, нЛак” було відібрано Cu-HCF НЗ, які мали найвищу активність, були стійкі в різних умовах, таких як рН 3,0–6,5, висока солоність та зберігання активності протягом шести місяців. За використання відібраних нЛак, було створено новий спектрофотометричний метод кількісного визначення АД. Його лінійність зберігається в межах 5–50 мкмоль (0,66–11 мкг/мл), а порогова чутливість – 1,5 мкмоль (0,33 мкг/мл), що є нижче, ніж каталізується істиною лакказою (1,15 мкг/мл). Цей метод з Cu-HCF НЗ апробували на реальних фармацевтичних зразках, що містять АД, і одержані дані добре корелюють із результатами, заявленими виробником. Таким чином, отримані НЗ Cu-HCF мають великий потенціал до застосування спектрофотометричних та біосенсорних методах аналізу для виявлення біологічно активних токсичних сполук у поверхневих водах.

Ключові слова: спектрофотометричний метод, лакказні нанозими, нанолакази, аналіз адреналіну, фармацевтичні препарати.

Вступ

Виявлення біологічно активних токсичних фармацевтичних сполук та їх метаболітів у поверхневих водах викликає велике занепокоєння людства (Akerman-Sanchez & Rojas-Jimenez, 2021; Massima Mouele et al., 2021) та становить небезпеку для здоров'я (Rebollar-Pérez et al., 2016). Фармацевтичне виробництво стало значним джерелом шкідливих хімічних речовин як забруднювачів навколишнього середовища (Bradley et al., 2020). Навіть після очисних споруд концентрації токсичних речовин у стічних водах цих заводів можуть перевищувати безпечні значення в 10–1000 разів. Крім того, домогосподарства та лікарні причетні до викидів фармацевтичних препаратів у міські стічні води (Bradley et al., 2020).

Серед хімічних речовин, виявлених у стічних водах, найбільш небезпечними для людини є деякі анальгетики, катехоламіни та препарати, що застосовуються в неврології і психіатрії (Rana et al., 2017). В літературі описано про шкідливий вплив цих речовин на навколишнє середовище, тому виявлення та кількісна оцінка згаданих аналітів необхідні не лише для контролю якості води, особливо питної, а й для діагностики та моніторингу різних станів здоров'я (Taylor, 2015; Bradley et al., 2020).

Катехоламіни – норадреналін, адреналін (також званий епінефрином) і дофамін є ключовими нейромедіаторами в симпатичній нервовій системі, оскільки вони стимулюють адренергічні рецептори в найрізноманітніших клітинах (McCorry, 2017). Високі концентрації адреналіну (АД) добре корелюють з глікогенолізмом в печінці, гіпоглікемією, інфарктом міокарда, ліполізмом у жировій тканині та частотою серцевих скорочень (Peaston et al., 2004). Він є важливим біомаркером хвороби Паркінсона (Emamzadeh & Surguchov, 2018) та інших злоякісних новоутворень (Zuber et al., 2011). Так, АД та інші катехоламіни в надмірній кількості секретуються феохромоцитомами (пухлинами надниркових залоз) його рівень може досягати в плазмі 1000–10 000 нг/л. Концентрація ендogenous АД в плазмі в дорослих у стані спокою зазвичай становить менше 10 нг/л, але може збільшуватися в 10 разів під час фізичного навантаження і в 50 разів або більше під час стресу. Парентеральне його введення пацієнтам з невідкладною медичною допомогою може призвести до концентрації в плазмі 10 000–100 000 нг/л (Baselt & Cravey, 1989). Отже, АД

має потужний вплив на фізіологічні функції; високий рівень концентрації може викликати інтоксикацію, ураження печінки і навіть серцеві напади (Montaño Osorio et al., 2021), тому у фармацевтичних препаратах має бути вказана точна концентрація.

Повідомлялося про різноманітні аналітичні методи визначення АД, серед них рідинна хроматографія (Thomas et al., 2006), спектрофотометрія (Bibire et al., 2007), капілярний електрофорез (Liu et al., 2018), флуориметрія (Menon et al., 2016), рідинна хроматографія високого тиску та круговий дихроїзм (Kojlo & Calatayud, 1990) – які характеризуються низькою вибірковістю, високими витратами та затратами часу. На сьогодні є потреба в розробці селективних, чутливих і водночас недорогих методів аналізу практично важливих аналітів – біомаркерів найбільш поширених захворювань або в фармацевтичних продуктах. Соціально-економічна значущість розробки дешевших методів полягає у потребі заміни природних ферментів недорогими штучними каталізаторами в аналітичних наборах, що може привести до підвищення чутливості, спрощення процедури аналізу.

Природні ферменти, зокрема лакказа, є біокаталізатором і може ефективно каталізувати багато реакцій через широку субстратну специфічність органічних і неорганічних субстратів та каталітичну активність (Stasyuk et al., 2020). Завдяки тому, що природна лакказа має широку субстратну специфічність і високу каталітичну активність, вона здатна ефективно каталізувати реакції окиснення багатьох органічних та неорганічних сполук. Тому лакказу часто використовують в різних галузях промисловості, а саме для детоксикації та знебарвлення стічних вод і для біодеградації ксенобіотиків. Дуже часто вона є ключовий інструмент для розробки методів аналізу фенольних похідних.

Хоча природні ферменти широко використовуються, існують деякі недоліки, які необхідно усунути для практичного застосування, наприклад, такі як висока вартість, складна схема очищення, низька термічна стабільність, нестабільність в умовах навколишнього середовища.

Штучні нанорозмірні ферменти або нанозими (НЗ), мають кращі каталітичні властивості порівняно з природними ферментами та проявляють високу стійкість та нижчу собівартість (Stasyuk et al., 2020). Зокрема великий інтерес є до НЗ, які володіють лакказною активністю (“нанолаказ”), як каталітичних елементів для створення нових методів аналізу АД (Kojlo &

Calatayud, 1990; Menon et al., 2016), що є актуальним завданням на сьогодні.

Метою роботи було отримати стійкі до навколишнього середовища нанозими, які володіють лакказною активністю простим методом, та розробити новий спектрофотометричний метод з “нанолаказами” для аналізу АД.

Матеріал і методи досліджень

Для синтезу Fe-гексаціанофератних наночастинок (HCF НЧ) розчин $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10,84 г у 30 мл дистильованої води) додавали до розчину $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (12,7 г у 60 мл дистильованої води). Реакційну суміш інтенсивно перемішували протягом 5 хв. Блакитний осад центрифугували, тричі промивали водою та один раз етанолом, а потім сушили при кімнатній температурі.

Для синтезу Co-HCF НЧ розчин $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,59 г у 10 мл дистильованої води) додавали до розчину $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (1,10 г у 10 мл дистильованої води) та 0,4 мл розчину гідроксиду амонію (28 %). Реакційну суміш інтенсивно перемішували протягом 5 хв. Осаджені НЧ Co-ПС центрифугували, тричі промивали водою, один раз етанолом і сушили.

Синтез Ni-HCF НЧ здійснювали використовуючи розчин $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (8,43 г у 10 мл дистильованої води), до якого додавали розчин $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (2,20 г у 10 мл дистильованої води). Реакційну суміш інтенсивно перемішували протягом 5 хв. Осад NiHCF центрифугували, тричі промивали водою, один раз етанолом і сушили при кімнатній температурі.

Синтез Mn-HCF НЧ здійснювали, використовуючи розчин $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (10,23 г у 10 мл дистильованої води), до якого додавали розчин $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (2,20 г у 10 мл дистильованої води). Реакційну суміш інтенсивно перемішували протягом 5 хв. Осад Mn-HCF центрифугували, тричі промивали водою, один раз етанолом і сушили при кімнатній температурі.

Для синтезу Zn-HCF НЧ, розчин $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (12,13 г у 10 мл дистильованої води) додавали до розчину $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (2,20 г у 10 мл дистильованої води). Реакційну суміш інтенсивно перемішували протягом 5 хв. Осад Zn-HCF центрифугували, тричі промивали водою, один раз етанолом і сушили при кімнатній температурі.

Для синтезу Cu-HCF НЧ розчин $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (10,84 г у 30 мл дистильованої води) додавали до розчину $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (1,10 г у 10 мл дистильованої води). Реакційну суміш інтенсивно перемішували протягом 30 хв. Осад центрифугували, тричі промивали водою та один раз етанолом, а потім сушили при кімнатній температурі.

Визначення оксидоредуктазної активності та УФ-видиму спектроскопію проводили для всіх отриманих НЧ. Дослідження пероксидазної активності НЧ проводили у 50 мМ ацетатному буфері, pH 4,5, що містив 8,8 мМ H_2O_2 та 1 мМ 2,2-азино-біс(3-етилбензтіазолін-6-сульфонова) кислоту, діамонієву сіль (АБТС), в кінцевому об’ємі 1 мл, а лакказоподібну активність проводили за тих же умов, але без додавання H_2O_2 . У реакційну суміш вносили тестова-

ний зразок і аналізували кінетичним методом утворений продукт реакції при 420 нм. За одиницю активності (Од.) приймали таку кількість ензимоподібних НЧ, яка забезпечує утворення 1 мкмоль забарвленого продукту за 1 хв за описаних вище умов на спектрофотометрі SHIMADZU UV-1650 PC з використанням програмного забезпечення “UVProbe 2.20”, приймаючи для окисленого АБТС коефіцієнт мілімолярної екстинкції $\varepsilon = 36,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Оптичні властивості синтезованих гексаціанофератних НЧ характеризували УФ-видимою спектроскопією (200-800 нм) за допомогою спектрофотометра Shimadzu UV-1650 PC із використанням стандартного програмного забезпечення “UVProbe 2.20”.

Для морфологічного аналізу мікро/наночастинок використовували сканувальний електронний мікроскоп СЕМ-мікроаналізатор РЕММА-102-02 (Суми, Україна). Зразки із концентрацією 0,05 мг·мл⁻¹ наносили крапельним методом на кремнієву підкладку товщиною 0,05 см, діаметром 0,5 см. Після висихання, зразки фіксували плівкою, що формувалася розчином *Бутварної* смоли В-98 (Sigma, St. Louis, MO, USA) у 1,5 % хлороформі за дії ультразвуку частотою 24 кГц. В експериментах відстань від останньої лінзи мікроскопа до зразка (WD) становила від 24,4 мм до 24,7 мм; напруга прискорювача становила 20 еВ; використовували збільшення різної кратності: $\times 80$; $\times 200$; $\times 1200$; $\times 1500$.

Досліди проводились у трьох-чотирьох повторях. Для кожної вибірки показників визначали середнє арифметичне значення (М) та похибку середнього (М). Розрахунок статистичних показників і побудову графіків проводили за допомогою програми Origin 7.5. Лінеаризацію графіків проводили за рівнянням регресії $Y = A + BX$ (А і В – параметри рівняння), розраховували коефіцієнт кореляції R та рівень достовірності зв’язку p (для події $R = 0$).

Результати досліджень

Нами синтезовано НЧ Пруської блакиті (Fe(III)HCF) та п’ять різних типів гексаціанофератних (HCF) НЧ двовалентних іонів перехідних та благородних металів: Феруму, Мангану, Цинку, Кобальту, Нікелю та Купруму із загальною формулою $\text{M}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_z \cdot x\text{H}_2\text{O}$. НЧ формували при взаємодії солі гексаціаноферат(II) калію ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) або гексаціаноферат(III) калію ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) з відповідними солями різних перехідних чи благородних металів.

Для усіх отриманих HCF НЧ досліджували оксидоредуктазну активність в розчині ацетатного буфера pH 4,5 за використання як хромогену – АБТС. При аналізі псевдопероксидазної активності додатково використовували як субстрат Гідроген пероксиду. Як видно з наведених результатів у табл. 1, усі отримані НЧ володіли оксидоредуктазною активністю, з них Fe-HCF виявляли тільки пероксидазну активність, а п’ять інших типів гексаціанофератних НЧ: Co-HCF, Ni-HCF, Mn-HCF, Zn-HCF та Cu-HCF лише лакказну активність. Серед досліджуваних НЗ найвищу лакказоподібну активність мають Cu-HCF НЧ в діапазоні pH від 3,0–6,0.

Таблиця 1

Оксидоредуктазна активність в розчині гексаціанорфератних НЧ, отриманих хімічним синтезом

HCF НЧ	Активність, Од./мг	
	псевдолакказна	псевдопероксидазна
Co-HCF	0,075 ± 0,005	-
Ni-HCF	0,025 ± 0,005	-
Mn-HCF	0,5 ± 0,01	-
Zn-HCF	0,75 ± 0,02	-
Cu-HCF	0,86 ± 0,005	-
Fe-HCF	-	1,1 ± 0,01

Для отриманих НЧ досліджували спектральні властивості, знімаючи спектри в діапазоні 300-800 нм. Всі НЧ мали пік поглинання у видимій ділянці світла (рис. 1) у відповідному діапазоні, моно-НЧ (один метал у зовнішній сфері) мали чітко виражений один пік, Fe-HCF (710 нм), Cu-HCF (545 нм), Co-HCF (560 нм), Ni-HCF (570 нм), Mn-HCF (475 нм) та Zn-HCF (480 нм).

Для Cu-HCF та Zn-HCF НЧ, які володіли вищою лакказною активністю, досліджували структурно-морфологічну характеристику за використання СЕМ (надає інформацію про розмір, розподіл та форму частинок) та рентгено-спектральний мікроаналіз (XRM) (рис. 2).

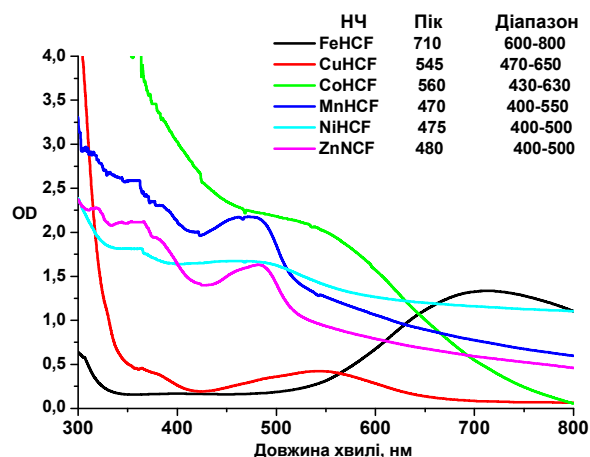
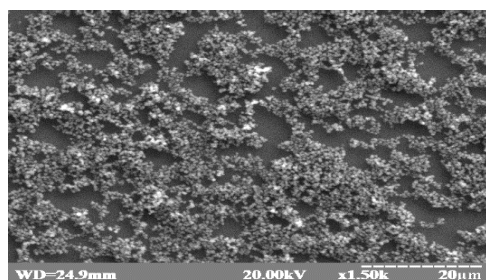
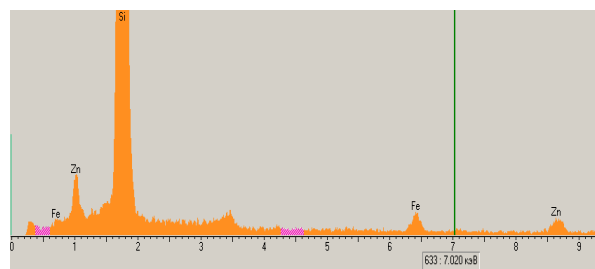


Рис 1. Ультрафіолетовий видимий спектральний аналіз HCF НЧ

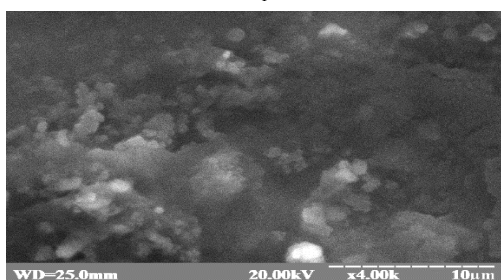
Як видно з рис. 2, Zn-HCF мають форму дрібних кульок з розміром менше ніж 2 мкм, Cu-HCF – неправильну форму кубів до 1 мкм. На XRM-зображеннях НЧ показано характерні піки, що відповідають електронним переходам відповідних перехідних металів, які входять до складу НЗ.



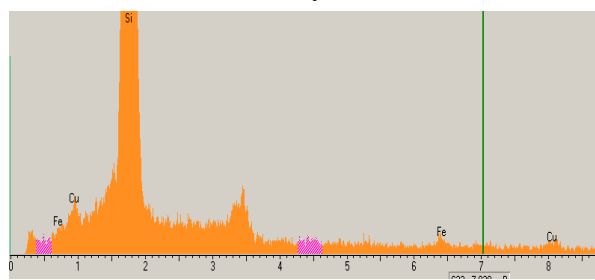
A₁



B₁



A₂



B₂

Рис. 2. Структурно-морфологічна характеристика Zn-HCF та Cu-HCF НЧ: зліва – СЕМ-зображення (А); справа – рентгеноспектральний мікроаналіз (Б)

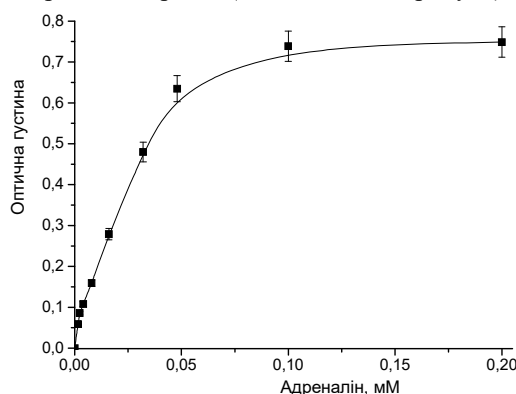
Відібрані Cu-HCF “нанолакази” є стійкими, не втрачають активності при підвищеній температурі до 40 °C чи в розчині 1 M NaCl та є стабільними, протягом половини року їхня активність знижується лише на 25 % при зберіганні за 4 °C. Отже, вони мають переваги порівняно з істинною лакказою, оскільки володіють підвищеною стабільністю та більшою доступністю завдяки більш простій та дешевій методиці приготування та можуть використовуватись для створення методів аналізу важливих аналітів.

Кількісне визначення АД є важливим для діагностики захворювання та фармацевтичного аналізу. Отримані нами “нанолакази” Cu-HCF є потенційними претендентами для розробки спектофотометричного методу (СФ) аналізу АД. Cu-HCF НЗ, як і лаккази здатні каталізувати окислення АД, утворюючи забарвлений окислений продукт – аденохром, який є основою для розробки методу визначення цільового аналіту. На рис. 3 показано схему реакції, що лежить в основі створеного методу.



Рис. 3. Схема реакцій, що лягла в основу методу визначення АД за використання Cu-HCF НЗ – міметика природної лаккази

Для дослідження залежності оптичної густини реакційної суміші від концентрації АД (0,66–10 мкг/мл), Cu-HCF в 50 мМ ацетатному буфері рН 4,5 змішували з АД та інкубували 10 хв. Після цього оптичну густину фотометрованої проби (окислюваний продукт)



вимірювали на спектрофотометрі при 475 нм проти “сліпої” проби (замість дослідного зразка додавали 0,2 мл дистильованої води). Будували калібрувальний графік залежності оптичної густини від концентрації АД в пробі, результати показано на рис. 4. Для створеного методу було підібрано оптимальну концентрацію НЗ (хемоміметика лаккази) в фотометрованої пробі – 0,25 мкг/мл, час інкубації – 10 хв, оптимальне значення рН – 4,5, за таких умов спостерігалась вища оптична густина та вищий кут нахилу калібрувальної прямої.

Лінійність калібрувальної кривої для аналізу АД зберігається в межах 5–50 мкмоль (0,66–11 мкг/мл). Порогова чутливість методу – 1,5 мкмоль (0,33 мкг/мл), що є нижче, ніж для методу за використання природної лаккази (1,15 мкг/мл) (Wang et al., 2019). Отже, метод із залученням “нанолакказ” Cu-HCF є більш чутливим, ніж з істинною лакказою, через їх більш високу каталітичну активність.

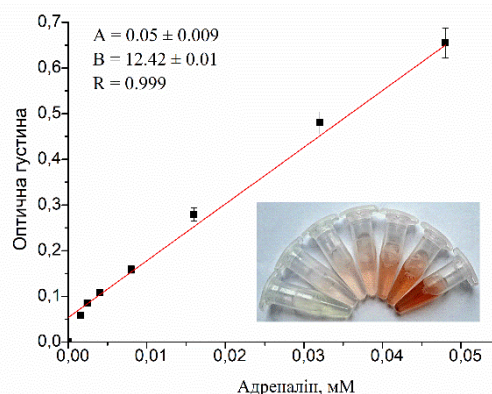


Рис. 4. Характеристика СФ методу за використання Cu-HCF НЗ: залежність оптичної густини реакційної суміші від концентрації АД (А) та діапазон лінійності методу (Б), час проведення реакції 10 хв

Розроблений метод апробовано на фармацевтичному зразку, яким служив розчин для ін'єкції в ампулах “Адреналін-Дарниця” (табл. 2), та проведене порівняння із результатами, заявленими виробником (ПрАТ “Фармацевтична фірма “Дарниця”). Було вказано такий склад цього фармацевтичного продукту: 1,82 мкг/мл епінефрину гідротартрату (адреналіну

тартрату). Досліджуваний розчин додатково містив метабісульфіт натрію (E223) і хлористий натрій.

Таким чином, значення концентрації АД у комерційному зразку, які були оцінені з використанням розробленого нами СФ методу за використання “нанолакказ” CuHCF і заявленого виробником, добре корелюють (табл. 2), з похибкою менше ніж 5 %.

Таблиця 2

Концентрація АД у фармацевтичному зразку “Адреналін-Дарниця”

Комерційний зразок	Концентрація АД, мМ		CV %	Виробник
	Заявлена виробником	Визначена методом		
Адреналін-Дарниця	$5,57 \pm 0,25$	$5,46 \pm 0,25$	2,01%	ПрАТ “Фармацевтична фірма “Дарниця”, Україна

Обговорення

АД, також епінефрин – гормон та медіатор мозкової речовини надниркових залоз, що входить до групи фізіологічно активних речовин – катехоламінів. Також це лікарський препарат “Адреналін/Епінефрин”, що належить до адренергічних препаратів (адреноміметиків), який використовують при глибоких розладах кровообігу (гемодинаміки), що бувають при за-

хворюваннях серцево-судинної системи, колапсі, деяких видах шоку (зокрема при анафілактичному), при алергічних захворюваннях, астматичних приступах, деяких отруєннях. Таким чином, простий, точний та високочутливий кількісний аналіз АД – один з важливих напрямків у сучасній аналітичній практиці, включаючи клінічні дослідження, є важливим для діагностики захворювання та фармацевтичного аналізу.

В літературі описано СФ метод аналізу АД за використання різних хромогенів. Перші спроби колориметричного визначення АД обмежувались реакцією взаємодії його з 1 мМ хлорамином в лужному середовищі при нагріванні (60 °C) та вимірюванні кінцевого кольорового продукту при 350 нм (Al-Abachi et al., 1989). Діапазон лінійності такого методу становив 0,4–28 мг/мл. Інший чутливий СФ метод базується на взаємодії АД з натрій нітритом та молібдатом амонію у кислому середовищі та вимірюванні кінцевого продукту при 475 нм (Kothari & Srinivasulu, 1989). В літературі описано метод за використання йодоформу в кислому середовищі (Rodriguez-Dopazo et al., 1989). Нещодавно запропоновано нові СФ методи визначення АД (Al-Ayash, 2008; Al-Ameri, 2016). Недоліком є чутливість до інтерферуючого впливу інших сполук.

Таким чином, недоліком усіх зазначених вище методів є низька селективність, використання неводних розчинників, тривалий час реакції, нагрівання тощо.

На сьогодні розвивається новий підхід для розробки СФ методів, зокрема, використання НЗ – міметиків природних ферментів (Wang et al., 2019; Demkiv et al., 2021). Нами отримано ефективні нанолаккази, а саме Cu-HCF і Zn-HCF, які володіють чудовою активністю, подібною до істинної лаккази, здатної окислювати ендокринний гормон АД. Нами також продемонстровано використання Cu-HCF НЗ з лакказною активністю для розроблення спектрофотометричного методу аналізу АД. Принцип методу ґрунтується на реакції окиснення АД НЗ Cu-HCF та утворенні забарвленого продукту аденохрому, який кількісно можна аналізувати при 475 нм. Лінійність зберігається в межах від 5 мкМ до 50 мкМ (0,66 – 11 мкг/мл). Порогова чутливість методу за використання природної лаккази – 1,5 мкМ (0,33 мкг/мл), що є нижче, ніж (1,15 мкг/мл). Розроблений нами метод за чутливістю є дуже близьким до описаного в літературі методу кількісного визначення АД за допомогою смартфона на основі НЗ Cu-HCF (Wang et al., 2019), де нижня межа визначення АД (0,31 мкг/мл) була майже така ж, як і для нашого методу, тільки методика приготування наночастинок є складнішою.

Розроблений нами метод визначення АД за використання міметиків лаккази є кращим серед СФ методів через простоту процедури аналізу, вищу чутливість та дешевим за собівартістю порівняно з ензиматичними методами за використання лаккази. Саме тому НЗ Cu-HCF з активністю, подібною до лаккази, має великий потенціал до застосування у біосенсорному аналізі для виявлення біологічно активних токсичних сполук у поверхневих водах.

Висновки

Здійснено синтез гексаціанофератних наночастинок (HCF НЧ), які володіють лакказною активністю: Co-HCF, Ni-HCF, Mn-HCF, Zn-HCF та Cu-HCF. Проведено структурну характеристику за допомогою фізичних методів – сканувальної електронної мікроскопії та рентгеноспектрального аналізу для двох типів “нанолакказ” Cu-HCF та Zn-HCF, які мали найвищу активність. Показано, що НЗ Cu-HCF мають кращу

стабільність порівняно з природним ферментом та є стійкими в широкому діапазоні рН від 3,0 до 6,5. Створено новий СФ метод кількісного визначення АД за використання НЗ міметиків лаккази в межах 5–50 мкМ (0,66 – 11 мкг/мл). Розроблений метод було апробовано на реальних зразках фармацевтичних препаратів. Отримані нами “нанолаккази” можуть бути використані як каталітичні елементи при конструюванні амперометричних сенсорів.

Подяка

Ця робота частково фінансувалася НАН України (програма “Розумні сенсорні пристрої нового покоління на основі сучасних матеріалів і технологій”, проект 0118U006260), Національним фондом досліджень України (проект 0100/02.2020 “Розробка нових нанозимів як біосенсорів каталітичних елементів для ферментних наборів та хіміо/біосенсорів”).

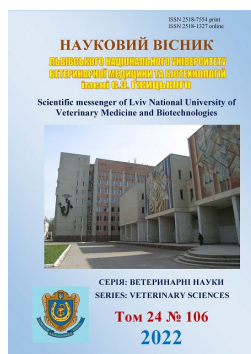
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Akerman-Sanchez, G., & Rojas-Jimenez, K. (2021). Fungi for the bioremediation of pharmaceutical-derived pollutants: A bioengineering approach to water treatment. *Environ. Adv.*, 4, 100071. DOI: 10.1016/j.envadv.2021.100071.
- Al-Abachi, M., Al-Ghabsha, M., & Shahbaz, N. A. (1989). Spectrophotometric Determination of microgram amounts of adrenaline with chloranil. *Microchemical Journal*, 31(3), 272–274. DOI: 10.1016/0026-265X(85)90113-4.
- Al-Ameri, S. A. H. (2016). Spectrophotometric determination of adrenaline in pharmaceutical preparations. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(2), S1000–S1004. DOI: 10.1016/j.arabjc.2011.10.001.
- Al-Ayash, A. S. (2008). A new sensitive spectrophotometric method for the determination of adrenaline in pharmaceutical preparations. *Journal of Al-Nahrain University*, 11(3), 46–54. DOI: 10.22401/JNUS.11.3.05.
- Arregui, L., Ayala, M., Gómez-Gil, X., Gutiérrez-Soto, G., Hernández-Luna, C. E., Santos, H. M., Levin, L., Rojo-Domínguez, A., Romero-Martínez, D., Saparrat, M. C. N., Trujillo-Roldán, M. A., & Valdez-Cruz, N. A. (2019). Laccases: structure, function, and potential application in water bioremediation. *Microb Cell Fact*, 18, 200. DOI: 10.1186/s12934-019-1248-0.
- Baselt, R. C., & Cravey, R. H. (1989). Disposition of toxic drugs and chemicals in man. Vol. 8. Davis, CA: Biomedical publications, 95–104.
- Bibire, N., Christopoulos, L., Apostu, M., & Dorneanu, V. (2007). Quantitative determination of adrenaline by visible spectrophotometric method. *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi.*, 111(3), 779–782. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18293717>.
- Bradley, P. M., Journey, C. A., Button, D. T., Carlisle, D. M., Huffman, B. J., Qi, S. L., Romanok, K. M., & Van Metre, P. C. (2020). Multi-region assessment of pharmaceutical exposures and predicted effects in USA

- wadeable urban-gradient streams. *PLoS One*, 15(1), e0228214. DOI: 10.1371/journal.pone.0228214.
- Demkiv, O., Stasyuk, N., Gayda, G., & Gonchar, M. (2021). Highly Sensitive amperometric sensor based on laccase-mimicking metal-based hybrid nanozymes for adrenaline analysis in pharmaceuticals. *Catalysts*, 11(12), 1510. DOI: 10.3390/catal11121510.
- Emamzadeh, F. N., & Surguchov, A. (2018). Parkinson's disease: Biomarkers, Treatment, and Risk Factors. *Front. Neurosci*, 12, 612. DOI: 10.3389/fnins.2018.00612.
- Kojlo, A., & Calatayud, J. M. (1990). Spectrophotometric determination of adrenaline with an oxidative column in a FIA assembly. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 8, 663–666. DOI: 10.1016/0731-7085(90)80098-a.
- Kothari, Y. K., & Srinivasulu, K. (1989). A New Spectrophotometric Determination of Adrenaline with CDTA. *Asian Journal of Chemistry*, 1(1), 42–46. URL: https://asianjournalofchemistry.co.in/User/ViewFreeArticle.aspx?ArticleID=1_1_7
- Liu, C., Zhang, J., Zhang, X., Zhao, L., & Shuang, L. (2018). Enantiomeric separation of adrenaline, noradrenaline, and isoprenaline by capillary electrophoresis using streptomycin-modified gold nanoparticles. *Mikrochim. Acta*, 185, 227. DOI: 10.1007/s00604-018-2758-x.
- Massima Mouele, E. S., Tijani, J. O., Badmus, K. O., Pereira, O., Babajide, O., Zhang, C., Shao, T., Sonin, E., Tarasenko, V., Fatoba, O. O., Laatikainen, K., & Petrik, L. F. (2021). Removal of Pharmaceutical Residues from Water and Wastewater Using Dielectric Barrier Discharge Methods—A Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 18, 1683. DOI: 10.3390/ijerph18041683.
- McCorry, L. K. (2007). Physiology of the Autonomic Nervous System. *Am. J. Pharm. Educ.*, 71, 78. DOI: 10.5688/aj710478.
- Menon, S., Jesny, S., Sivasankaran, U., & Girish, K. K. (2016). Fluorometric Determination of Epinephrine: A Green Approach. *Anal. Sci.*, 32, 999–1001. DOI: 10.2116/analsci.32.999.
- Montaño Osorio, C., Bonilla-Martínez, D., Villegas-González, M. A., & Obaya Valdivia, A. E. (2021). Validation of a Spectrophotometric Analytical Method for the Quantitative Determination of Adrenaline in Injectable Pharmaceutical Formulations. *American Journal of Pharmacological Sciences*, 9(1), 40–45. DOI: 10.12691/ajps-9-1-4.
- Peaston, A. E., Evsikov, A. V., Graber, J. H., Vries, W. N., Holbrook, A. E., Solter, D., & Knowles, B. B. (2004). Retrotransposons regulate host genes in mouse oocytes and preimplantation embryos. *Dev. Cell.*, 7, 597–606. DOI: 10.1016/j.devcel.2004.09.004.
- Rana, R. S., Singh, P., Kandari, V., Singh, R., Dobhal, R., Gupta, S. (2017). A review on characterization and bioremediation of pharmaceutical industries' wastewater: An Indian perspective. *Appl. Water Sci.*, 7, 1–12. DOI: 10.1007/s13201-014-0225-3.
- Rebollar-Pérez, G., Campos-Terán, J., Ornelas-Soto, N., Méndez-Albores, A., & Torres, E. (2016). Biosensors based on oxidative enzymes for detection of environmental pollutants. *Biocatalysis*, 1, 118–129. DOI: 10.1515/boca-2015-0010.
- Rodriguez-Dopazo, M. J., Silva, M., & Pérez-Bendito, D. (1989). Indirect kinetic method for the quantitative determination of catecholamines in pharmaceuticals. *J. Microchem*, 39(2), 235–240. DOI: 10.1016/0026-265X(89)90037-4.
- Stasyuk, N., Smutok, O., Demkiv, O., Prokopiv, T., Gayda, G., Nisnevitch, M., & Gonchar, M. (2020). Synthesis, Catalytic Properties and Application in Biosensorics of Nanozymes and Electronanocatalysts: A Review. *Sensors*. 20(16), 4509. DOI: 10.3390/s20164509.
- Taylor, D. (2015). The Pharmaceutical Industry and the Future of Drug Development. In *Pharmaceuticals in the Environment*, 41, 1–33. DOI: 10.1039/9781782622345-00001.
- Thomas, A., Geyer, H., Mester, H.J., Schänzer, W., Zimmermann, E., Thevis, M. (2006). Quantitative determination of Adrenaline and Noradrenaline in Urine Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Chromatographia*, 64, 587–591. DOI: 10.1365/s10337-006-0067-8.
- Wang, J., Huang, R., Qi, W., Su, R., Binks, B. P., & He, Z. (2019). Construction of a bioinspired laccase-mimicking nanozyme for the degradation and detection of phenolic pollutants. *Applied Catalysis B: Environmental*, 254, 452–462. DOI: 10.1016/j.apcatb.2019.05.012.
- Zuber, S. M., Kantorovich, V., & Pacak, K. (2011). Hypertension in Pheochromocytoma: Characteristics and Treatment. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am*, 40, 295–311. DOI: 10.1016/j.ecl.2011.02.002.



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/nvlvet10623
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.92.09:616-001.5/.073:666.3

X-ray macromorphological and biochemical assessment of consolidation of fractures of long tubular bones under conditions of osteoreplacement with calcium-phosphate ceramics doped with germanium for osteoporosis in rabbits

T. P. Todosiuk¹✉, M. V. Rublenko¹, V. M. Vlasenko¹, N. V. Ulanchych²

¹Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

²Institute for Problems in Material Science named after I.N. Frantsevich, National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine

Article info

Received 25.04.2022
Received in revised form
30.05.2022
Accepted 31.05.2022

Bila Tserkva National Agrarian
University, pl. Soborna 8/1, Bila
Tserkva, 09117 Ukraine.
Tel.: +38-096-757-71-75
E-mail: tatiana.todosiuk@gmail.com

Institute for Problems in Material
Science named after I.N. Frantse-
vich, National Academy of Scienc-
es, Krzhizhanovsky Str., 3, Kyiv,
03142, Ukraine.
E-mail: ulnata@ukr.net

Todosiuk, T. P., Rublenko, M.V., Vlasenko, V. M., & Ulanchych, N. V. (2022). X-ray macromorphological and biochemical assessment of consolidation of fractures of long tubular bones under conditions of osteoreplacement with calcium-phosphate ceramics doped with germanium for osteoporosis in rabbits. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 149–157. doi: 10.32718/nvlvet10623

Among several factors that can cause a violation of the course of reparative osteogenesis, previous diseases associated with a change in the structural and functional state of bone tissue and primarily osteoporosis are considered significant. Osteoporotic fractures are difficult to treat. Along with systemic therapy, locally applied bone substitute materials, particularly unalloyed and alloyed calcium phosphate ceramics with pronounced osteoconductive, osteoinductive, and osteointegration properties. The work aims to evaluate the effect of calcium-phosphate ceramics doped with germanium on post-traumatic bone regeneration in conditions of secondary osteoporosis in rabbits. Experimental osteoporosis in rabbits was induced by administration of 0.4 % dexamethasone solution (KRKA, Slovenia) for 21 days at a dose of 1.2 mg/kg of body weight. Experimental (n = 9) and control (n = 9) groups of animals were formed. Animals of the experimental group had defects replaced with granules of hydroxyapatite ceramics, synthesized based on hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate, doped with germanium. In rabbits of the control group, bone defects healed under a blood clot. Blood samples to determine the level of total calcium (Ca) and inorganic phosphorus (P) were taken before surgery and on 7-, 14th, 30th, and 60th day of the study. X-ray studies were performed on the RUM-20 X-ray machine on the 14th, 30th, and 60th day of reparative osteogenesis. Radiologically and macromorphologically, it was established that reparative osteogenesis in the experimental animals proceeds more dynamically compared to the control group and is characterized by a high density of bone tissue at the site of the defect already on the 14th day after the injury, a moderate periosteal and early appearance of the endosteal reaction. The content of total calcium in the animals of the experimental group on the 14th day after the injury was 1.3 times ($P < 0.001$) higher than that of the control and animals before the operation, and on the 30th day, it was 1.2 times ($P < 0.001$) in accordance. The concentration of inorganic phosphorus (P) on the 14th and 30th days of reparative osteogenesis in animals of the experimental group was 1.1 times ($P < 0.05$) lower than in control animals, and on the 60th day in 1.4 times ($P < 0.01$), respectively. Systemic osteoporosis in experimental animals causes a violation of reparative osteogenesis due to the prolongation of the inflammatory-resorptive stage and cartilaginous callus and complicated mineralization of bone regeneration. Calcium-phosphate ceramics is a promising material for replacing bone defects in animals with systemic secondary osteoporosis.

Key words: hydroxyapatite composite, bioceramics, bone fractures, compact and spongy bone tissue, rabbits.

Рентгено-макроморфологічна і біохімічна оцінка консолідації переломів довгих трубчастих кісток в умовах остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за остеопорозу в кролів

Т. П. Тодосюк^{1✉}, М. В. Рубленко¹, В. М. Власенко¹, Н. В. Ульянич²

¹Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна

²Інститут проблем матеріалознавства ім. І. Н. Францевича Національної академії наук України, м. Київ, Україна

Серед низки факторів, що можуть викликати порушення перебігу репаративного остеогенезу, вагомими вважають попередні захворювання, пов'язані зі зміною структурно-функціонального стану кісткової тканини і насамперед остеопороз. Остеопоротичні фрактури погано піддаються лікуванню. У зв'язку з цим, поряд із системною терапією, місцево застосовують остеозаміщувальні матеріали, зокрема нелеговану та леговану кальційфосфатну кераміку з вираженими остеокондуктивними, остеоіндуктивними та остеointegraційними властивостями. Мета роботи – оцінка впливу кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, на посттравматичну регенерацію кісток в умовах вторинного остеопорозу в кролів. Експериментальний остеопороз у кролів викликали введенням 0,4 % розчину дексаметазону (KRKA, Словенія) протягом 21 доби в дозі 1,2 мг/кг маси тіла. В подальшому прийом препарату відмінили. Було сформовано дослідну (n = 9) та контрольну (n = 9) групи тварин. Тваринам дослідної групи дефекти заміщували гранулами гідроксиапатитної кераміки, синтезованої на основі гідроксиапатиту і β-трикальційфосфату, легованої германієм. У кролів контрольної групи кісткові дефекти загоювалися під кров'яним згустком. Проби крові для визначення рівня загального кальцію (Ca) та неорганічного фосфору (P) відбирали до оперативного втручання та на 7-, 14-, 30-, 60-ту добу дослідження. Рентгенологічні дослідження проводили на рентгенапараті РУМ-20 на 14-, 30-, 60-ту добу репаративного остеогенезу. Рентгенологічно та макроморфологічно встановлено, що репаративний остеогенез у дослідних тварин протікає більш динамічно, порівняно з контрольною групою, і характеризується високою щільністю кісткової тканини в місці дефекту вже на 14-ту добу після травми, помірно періостальною та ранньою появою ендоостальної реакції. Вміст загального кальцію у тварин дослідної групи на 14-ту добу після травми був у 1,3 раза ($P < 0,001$) вищим за показник контрольних та тварин до операції, а на 30-ту добу в 1,2 раза ($P < 0,001$) відповідно. Концентрація неорганічного фосфору (P) на 14-ту і 30-ту добу репаративного остеогенезу в тварин дослідної групи була у 1,1 раза ($P < 0,05$) нижчою, ніж у контрольних тварин, а на 60-ту добу в 1,4 раза ($P < 0,01$) відповідно. Наявність системного остеопорозу у експериментальних тварин спричиняє порушення репаративного остеогенезу за рахунок подовження запально-резорбтивної стадії та хрящового мозоля і ускладненої мінералізації кісткового регенерата. Кальцій-фосфатна кераміка є перспективним матеріалом для заміщення кісткових дефектів у тварин із системним вторинним остеопорозом.

Ключові слова: гідроксиапатитний композит, біокераміка, переломи кісток, компактна і губчаста кісткова тканина, кролі.

Вступ

Кістковій тканині притаманна складна багаторівнева організація та генетично зумовлена особливість до повної регенерації (реституції), що є оптимальним для забезпечення метаболічної, захисної та опорно-рухової функції осьового скелету та кісток вільних кінцівок у тварин. За певних порушень загального стану організму (імунологічної реактивності, неспецифічних механізмів захисту, ендокринної системи) та місцевих механізмів (мікроциркуляції, трофічних розладів, інфекційних процесів) спостерігається її порушення (дисрегенерація), що зумовлює відхилення як фізіологічного відновлення структурної організації кісткової тканини, так і її біомеханічних властивостей після травми (Sturmer, 1996; Brusko & Haiko, 2005; Bumeister & Pohorelov, 2008; Podaropoulos et al., 2009; Rublenko et al., 2015; Chemerovskiy, 2020; Shevchenko, 2020).

Серед низки факторів, що можуть викликати порушення перебігу репаративного остеогенезу, вагомими вважають попередні захворювання, пов'язані зі зміною структурно-функціонального стану кісткової тканини і насамперед остеопороз.

Остеопороз – це системне захворювання скелета, що характеризується зниженням щільності та міцності кісток, причиною якого є порушення метаболізму кісткової тканини і, як наслідок, підвищення ризику низькоенергетичних переломів (Egermann &

Schneider, 2005; Raisz, 2005; Wang et al, 2005; Abu-Amer et al, 2007; Oheim, 2016).

Остеопороз зазвичай розвивається безсимптомно, але є певна клінічна картина, яка вказує на можливий розвиток даної патології.

Залежно від причини, як у гуманній, так і у ветеринарній медицині, розрізняють первинний та вторинний остеопороз. Первинний розвивається як самостійна патологія, коли втрата кісткової тканини та зменшення її маси пов'язані з природними змінами (постменопаузальний, сенільний, ювенальний). Вторинний – виникає внаслідок ряду основних захворювань органів і систем (ревматичних, гормональних, аутоімунних патологій, хвороб органів кровотворення), ранньої оваріоектомії, довготривалої імібілізації за високоенергетичних переломів кісток, дії токсичних речовин або ж під впливом тривалого застосування лікарських препаратів, зокрема глюкокортикоїдів (Goldhahn et al., 2005; Smith et al., 2009; Oheim et al, 2012a; Oheim et al., 2012b; Bonucci & Balanti, 2014; Słupski et al., 2021; Oheim et al., 2022).

Остеопоротичні переломи належать до тяжких наслідків системного остеопорозу. Такого роду фрактури, внаслідок порушення процесів регенерації кісткової тканини та ризиків нестабільної фіксації уламків, пов'язаних з порушенням структурно-функціонального стану кісткової тканини, погано піддаються лікуванню. Відхилення від механізмів відновлення цілісності пошкоджених кісток нерідко призводять до уповільненої консолідації або навіть до

зупинки репаративної регенерації з подальшим стійким незрощенням кісток, утворенням несправжнього суглоба тощо (Giannoudis et al., 2007; Haaland et al., 2009). У зв'язку з цим проблема репаративної регенерації кістки в умовах остеопорозу є однією з актуальних як у гуманній, так і у ветеринарній медицині.

За патологій кістково-суглобового апарату дуже важливим є визначення остеорепаративного потенціалу хворих на остеопороз тварин та створення оптимальних умов перебігу репаративного остеогенезу як у ранній післяопераційний період, так і під час подальшої реабілітації. З цією метою, поряд із системною терапією, місцево застосовують остеозаміщувальні матеріали, зокрема нелеговану та леговану кальцій-фосфатну кераміку з вираженими остеоіндуктивними, остеоіндуктивними та остеоінтеграційними властивостями (Rublenko et al., 2015; Rublenko & Semeniak, 2015; Shevchenko, 2020).

Біологічні процеси, які підвищують потенціал загоєння остеопоротичних переломів, також варто розглядати як доповнення до хірургічного втручання. Зокрема, іони мікроелементів, якими безпосередньо легують керамічні матеріали, впливають на структурно-функціональний зв'язок між материнською кісткою та імплантом.

Отже, остеоіндуктивні властивості кераміки забезпечуються безпосередньо гідроксиапатитом та β -трикальційфосфатом. Остеоіндуктивний ефект імплантанта може бути досягнутий за рахунок легування композитних матеріалів різноманітними мікроелементами (Si, Ge, Na, K, Zn, Al, Ag, Cu), що володіють вираженими остеоіндуктивними властивостями.

На даний час для гуманної медицини синтезовано значну кількість германійорганічних з'єднань та комплексів, що володіють низькою токсичністю, високою біологічною активністю та позитивно впливають на організм тварини загалом. Германій належить до рідкісних мікроелементів. Завдяки своїм властивостям має широкий спектр біологічної дії, а саме підвищує імунний статус організму, забезпечує перенесення кисню в тканинах, проявляє протипухлинну дію, володіє знеболювальним ефектом. Хоча біологічна роль германію та його сполук ще не досить вивчена, однак встановлено, що сполуки германію підсилюють процес кровотворення в кістковому мозку (Fujii et al., 1993; Bian et al., 2017; Li et al., 2017).

Таким чином, незважаючи на певні успіхи у розробленні матеріалів для остеозаміщення, які відрізняються за фізичними показниками, хімічною структурою та механізмом дії, проблема вибору засобів для забезпечення оптимального перебігу репаративного остеогенезу за системного остеопорозу вимагає подальшого вивчення, тому дослідження в цьому напрямку є актуальними.

Мета роботи – оцінка впливу кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, на посттравматичну регенерацію кісток в умовах вторинного остеопорозу в кролів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводилися на базі кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету згідно з Законом України “Про захист тварин від жорстокого поводження” від 28.03.2006 р., Правилами Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р., та Наказом МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. “Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах”. Проект виконання представлених досліджень схвалено Етичним комітетом БНАУ протокол № 1 від 23 січня 2019 року.

Дослідження проводили на клінічно здорових кролях породи Каліфорнійський білий, віком 3 міс., масою тіла 2,5 кг, яких утримували в умовах віварію Білоцерківського НАУ. Тварини перебували в індивідуальних клітках у кімнаті з примусовою вентиляцією, комбінованим освітленням і щоденним прибиранням. Годівлю забезпечували спеціалізованим комбікормом для кролів із розрахунку 200 г на одну голову за добу з вільним доступом до води.

Експериментальний остеопороз у кролів викликали введенням 0,4 % розчину дексаметазону (KRKA, Словенія) протягом 21 доби в дозі 1,2 мг/кг маси тіла (Waters et al., 2000; Povorozniuk et al., 2012). В подальшому прийом препарату відмінили.

Було сформовано дослідну ($n = 9$) та контрольну ($n = 9$) групи тварин. За оперативного втручання застосовували таке анестезіологічне забезпечення: 2 % розчин ацепромазину внутрішньом'язово (0,5–1,0 мг/кг), внутрішньовенно – розчин тіопенату із розрахунку 5–8 мг/кг та інфільтраційну анестезію на місці розрізу 0,5 % розчином лідокаїну (3–4 мг/кг). Також було сформовано групу із клінічно здорових кролів.

Моделльні дефекти формували з латеральної поверхні дистальної ділянки метафіза стегнової кістки (губчаста кісткова тканина) та дорсо-латеральної поверхні в ділянці діафізу променевої кістки (компактна кісткова тканина). Оперативний доступ проводили з дотриманням правил асептики та антисептики. Після розтину окістя формували дірчасті кісткові дефекти свердлом діаметром 3 мм та 4,2 мм на променевій та стегновій кістках відповідно. Тваринам дослідної групи (ГТлGe) дефекти заміщували гранулами гідроксиапатитної кераміки, синтезованої на основі гідроксиапатиту і β -трикальційфосфату, легованої германієм. У кролів контрольної групи кісткові дефекти загоювалися під кров'яним згустком. На рани м'яких тканин накладали вузлові шви із синтетичного шовного матеріалу поліпропілену.

Тваринам щоденно у післяопераційний період проводили загальне клінічне дослідження та візуальну оцінку ранового процесу. Загоєння ран відбувалося за первинним натягом, тому шви знімали на 7 добу.

Тварин виводили з дослідів на 14-ту, 30-ту, 60-ту добу шляхом внутрішньовенного введення тіопенату в дозі 50 мг/кг (тіопентал натрію, ООО Бровафарма, Україна).

Рентгенологічні дослідження виконували на рентгенапараті РУМ-20, отримані рентгензнімки відцифровували на електронний носій AGFA HEALTHCARE N.V. CR 10-X (Germany). При цьому проводили бальну оцінку консолидації перелому в умовах остеопорозу за розробленими нами рентгенологічними критеріями (табл. 1), яку сумували протягом всіх термінів дослідження.

Рівень загального кальцію (Ca) та неорганічного фосфору (P) в сироватці крові визначали наборами “Філісіт-Діагностика” (Україна) на 7-му, 14-ту, 30-ту, 60-ту добу.

Статистичну обробку результатів проводили за програмою Statistica 10 (StatSoft Inc, USA, 2011). Дані у таблицях подані у вигляді $x \pm SD$ ($x \pm$ відхилення). Між групами відмінності визначали за допомогою ANOVA, $P < 0,05$ вважались достовірними (з урахуванням поправки Бонферроні).

Таблиця 1

Бальна оцінка консолидації переломів довгих трубчастих кісток за остеопорозу в кролів

№ п/п	Показники	Кількість балів
<i>Рентгенодіагностика</i>		
<i>ступінь щільності кісткової тканини</i>		
1.	– 14 доба	3
	– 30 доба	2
	– 60 доба	1
<i>ступінь поширення періостальної реакції</i>		
2.	– в межах дефекту	3
	– за межами дефекту	2
	– зміни в суміжній (ліктьовій) кістці	1
<i>реакція ендоосту</i>		
3.	– 14 доба	3
	– 30 доба	2
	– 60 доба	1
	– реакція ендоосту відсутня	0

Результати дослідження

Наступної доби після відтворення модельного перелому порушень функції травмованої кінцівки не спостерігали. В ділянці травми виявляли незначні набряк, гіперемію та підвищення місцевої температури, що є ознаками розвитку запальної реакції. З країв рани були помітні виділення незначної кількості серозного ексудату, який з часом підсихав, утворюючи кірочки. На 3-тю добу ексудатія припинялася, підвищення місцевої температури не виявляли. На 7-му добу післяопераційного періоду набряк та болючість тканин в ділянці травми були відсутні. Виявляли з'єднання країв рани щільною сполучнотканинною спайкою, часткове відшарування струпа та процеси епітелізації, що свідчить про загоєння рани та є підставою для зняття швів.

Поряд з цим пальпаторно, починаючи з 14-ї доби репаративного остеогенезу у тварин обох груп як на діяфізах променевих кісток, так і на дистальних епіфізах стегнових кісток, виявляли не болюче ущільнення періосту, яке у дослідній групі повністю зникало до

30-ї доби. Проте у тварин контрольної групи ущільнення було дещо більше за розміром, порівняно з тваринами дослідної групи, та залишалося до завершення терміну спостережень.

За результатами рентгенологічного дослідження (рис. 1 а) на 14-ту добу репаративного остеогенезу в дослідних тварин у місці сформованого модельного дефекту візуалізувалися гранули кераміки, помірна періостальна реакція, обмежена безпосередньо навколо місця травми з помірно підвищеною рентгенологічною щільністю. За травми компактної кісткової тканини у тварин дослідної групи рентгенологічно встановлена більш виражена реакція ендоосту. Натомість реакція ендоосту у контрольних тварин виявилася незначною.

На рентгенограмах контрольних тварин чітко візуалізувалося місце дефекту та виявляли ущільнення періосту, яке значно поширюється проксимально та дистально від нього. Щодо діяфізу променевої кістки, то хмароподібна тінь поширювалася майже по всій його поверхні, що свідчить про інтенсивну запальну реакцію з утворенням масивного хрящово-кісткового мозоля.

На 30-ту добу на рентгенограмах дослідних тварин візуалізувалися незначні залишки періостальної реакції, місце дефекту характеризувалося підвищеною рентгенологічною щільністю. Гранули композитного матеріалу втратили свою структурованість і щільність, що свідчить про початок його резорбції.

Водночас у контрольних тварин рентгенологічно на 30-ту добу спостерігали ущільнення періосту майже по всій довжині променевої кістки з поширенням на ліктьову і утворенням масивного кісткового мозоля. У ділянці дистального метафізу стегнової кістки навколо дефекту виявляли явища остеосклерозу з точковими ділянками остеопорозу (рис. 1 б).

На 60-ту добу у тварин дослідної групи місце дефекту мало підвищену рентгенологічну щільність з незначними залишками композитного матеріалу, а реакція періосту була відсутня. Дистальний метафіз стегнової кістки набув шорсткого вигляду з ділянками остеопорозу, що може бути ознакою ремоделювання ділянки травми. На рентген знімках контрольних тварин ділянки сформованого дефекту мали низьку рентгенологічну щільність, натомість візуалізувався надмірний об'єм кісткового регенерату та періостальна реакція, яка все ще поширювалася як на променеву, так і на ліктьову кістки (рис. 1 в).

За бальної оцінки рентгенограм встановлено, що в тварин дослідної групи за імплантації гранул кераміки, легованої германієм, ступінь щільності кісткової тканини була вищою у 2,5 раза ($P < 0,001$) порівняно з показниками контрольної групи. За оцінки реакції пері- та ендоосту спостерігалася схожа динаміка. Отже, за проведення бальної оцінки встановлено, що репаративний остеогенез у дослідних тварин протікає більш динамічно, а саме в 2,7 раза ($P < 0,001$) порівняно з контрольною групою і характеризується високою щільністю кісткової тканини в місці дефекту вже на 14-ту добу після травми, помірно періостальною та ранньою появою ендоостальної реакції (табл. 2).

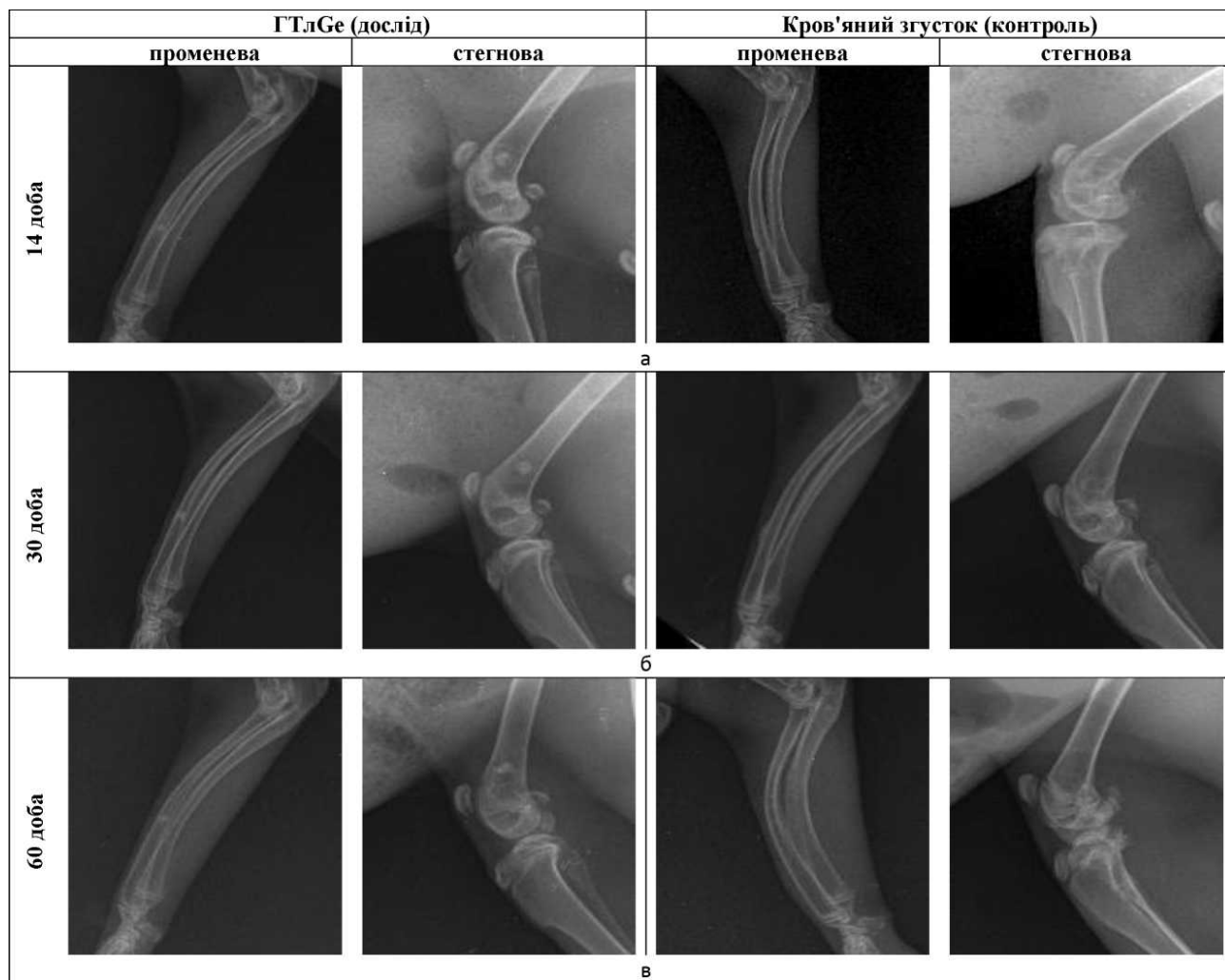


Рис. 1. Рентгенограми кісток кролів з остеопорозом за репаративного остеогенезу

Таблиця 2

Бальна оцінка репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом за рентгенологічного дослідження

№ п/п	Показники	Кількість балів	
		ТГлGe	Контроль
Рентгенодіагностика			
1	ступінь щільності кісткової тканини	2,78 ± 0,15***	1,11 ± 0,11
2	поширення періостальної реакції	2,89 ± 0,11***	1,22 ± 0,15
3	реакція ендоосту	2,67 ± 0,17***	0,78 ± 0,15
Загальна оцінка		2,78 ± 0,06***	1,03 ± 0,13

Примітка: *** – P < 0.001 порівняно з показниками контрольної групи

За макроморфологічного дослідження фрагментів променевих та стегнових кісток на 14-ту добу репаративного остеогенезу у тварин дослідної групи в місці дефекту виявляли гранули кераміки, повністю занурені у сформований фіброзно-хрящовий регенерат, який рівномірно заповнював ділянку дірчастого дефекту і лише незначно виступав над поверхнею кістки. Значного розростання періосту не спостерігали. У контрольній групі місце сформованого дефекту виявилось не повністю заміщеним новоутвореною тканиною, про що свідчила кратероподібна форма кісткового регенерату значного розміру. Проте виявляли масивні, зі значним поширенням за межі травмованої ділянки, розростання періосту (рис. 2 а).

На 30-ту добу репаративного остеогенезу макркартина кісткових фрагментів дослідних тварин була такою: кістковий дефект повністю заповнений новоутвореною тканиною, яка не підвищувалася щодо рівня площини кісткової поверхні, та щільно вкритий періостом без ознак його надмірних розростань. У товщі регенерату візуалізувалися фрагменти гранул композиту. У тварин контрольної групи ділянка дефекту не мала щільної консистенції, в її центрі візуалізувався кратероподібний кістковий мозоль, але значно меншого розміру порівняно з попереднім терміном дослідження. Розростання періосту залишалися досить масивними і значно поширювалися за межі травмованої ділянки (рис. 2 б).

На 60-ту добу репаративного остеогенезу в дослідних тварин виявляли сформовану кісткову тканину із залишками гранул композитного матеріалу, що міцно з'єднані з кісткою. Ознак періостальної реакції не спостерігали. У контрольних зразках на 60-ту добу досить значними залишалися розростання періосту.

Місце травми не повністю було виповнене новоутвореною кістковою тканиною, в його центрі все ще візуалізувався невеликого розміру кратероподібний дефект з ознаками резорбції кісткової тканини (рис. 2 в).

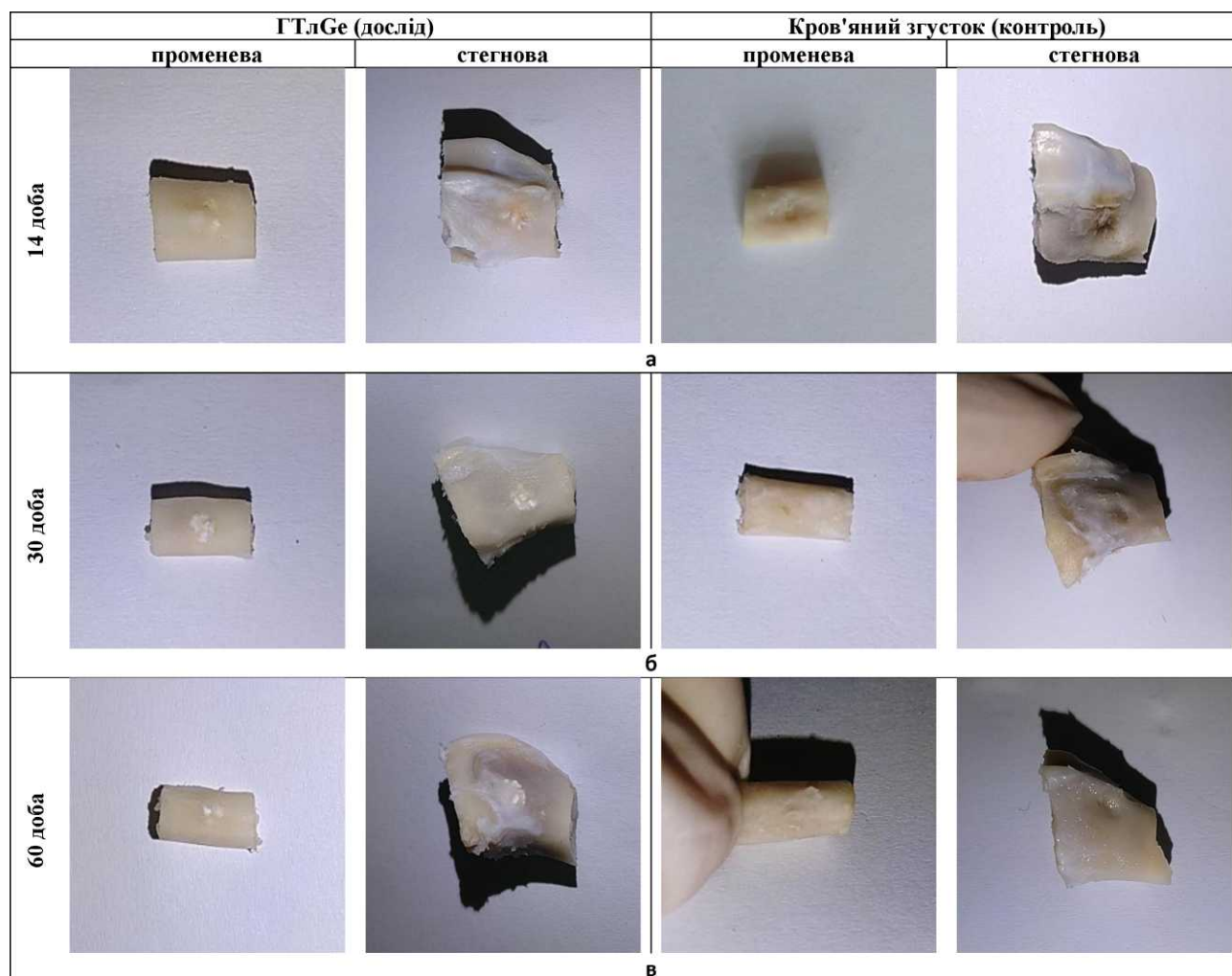


Рис. 2. Макроморфологічна оцінка фрагментів кісток кролів з остеопорозом за репаративного остеогенезу

Вміст загального кальцію у тварин дослідної групи протягом дослідження зазнав певних змін. Вже на 7 добу репаративного остеогенезу він становив $1,41 \pm 0,02$ ммоль/л, що в 1,1 раза ($P < 0,001$) вище за показник контрольних тварин. На 14-ту добу після травми рівень Са в сироватці крові дослідних тварин був у 1,3 раза ($P < 0,001$) вищим за показник контрольних та тварин до операції, а на 30-ту добу в 1,2 раза ($P < 0,001$) відповідно. На 60-ту добу репаративного остеогенезу вміст Са становив $1,5 \pm 0,04$ ммоль/л, що в 1,2 раза вище за показник контрольних тварин. Варто зазначити, що у тварин, яким дефект лишали загоюватися під кров'яним згустком, рівень загального Са суттєво не змінювався протягом усього періоду дослідження (табл. 3).

Концентрація неорганічного Р в сироватці крові на 7 добу репаративного остеогенезу в обох групах суттєво не змінилася. Проте, вже на 14-ту добу після

травми у тварин дослідної групи рівень Р був у 1,1 раза ($P < 0,05$) нижчим, ніж у контрольних тварин. На 30-ту добу концентрація Р у тварин дослідної групи складала $2,14 \pm 0,04$ ммоль/л, що 1,1 раза ($P < 0,01$) нижче за показник контрольних і в 1,2 раза – за показники тварин до операції. На 60-ту добу рівень неорганічного Р продовжував знижуватися і становив $1,7 \pm 0,03$ ммоль/л, що в 1,4 раза ($P < 0,01$) нижче за показники контрольних тварин (табл. 3).

Протягом дослідження значних змін кальцій-фосфорного індексу в тварин контрольної групи не виявляли. Проте в дослідній, починаючи з 7-ї доби, фіксували достовірну різницю показників щодо контрольних тварин. На 7-му добу Са:Р співвідношення було 1,2 : 1, на 14-ту та 30-ту добу – 1,4:1. На 60 добу репаративного остеогенезу Са:Р індекс дещо збільшився і склав 1,6:1 порівняно з контрольною групою тварин (табл. 3).

Таблиця 3

Динаміка біохімічних показників крові за репаративного остеогенезу у кролів з остеопорозом

Доба	Ca, ммоль/л	P, ммоль/л	Ca:P
Норма (n = 27)	2,57 ± 0,03	1,44 ± 0,04	1,82 ± 0,07
0			
до операції, (n = 18)	1,25 ± 0,04	2,52 ± 0,05	0,5 ± 0,02
7			
ГТлГе, (n = 9)	1,41 ± 0,02***	2,5 ± 0,05	0,57 ± 0,02**
Контроль, (n = 9)	1,25 ± 0,02	2,56 ± 0,05	0,49 ± 0,01
14			
ГТлГе, (n = 9)	1,68 ± 0,06***	2,3 ± 0,08*	0,74 ± 0,02***
Контроль, (n = 9)	1,3 ± 0,02	2,51 ± 0,03	0,52 ± 0,01
30			
ГТлГе, (n = 6)	1,57 ± 0,03***	2,14 ± 0,04**	0,74 ± 0,02***
Контроль, (n = 6)	1,26 ± 0,04	2,37 ± 0,04	0,53 ± 0,02
60			
ГТлГе, (n = 3)	1,5 ± 0,04**	1,7 ± 0,03**	0,88 ± 0,03***
Контроль, (n = 3)	1,26 ± 0,02	2,31 ± 0,03	0,54 ± 0,02

Примітка: значення P: * – <0,05; ** – <0,01; *** – < 0,001, порівняно з контрольною групою

Отже, зміни показників загального кальцію, неорганічного фосфору та їх співвідношення загалом відповідає рентгенографічним та макроморфологічним змінам, що характерні для репаративного остеогенезу за використання кальцій-фосфатної кераміки в умовах сформованого вторинного остеопорозу. При цьому результати досліджень підтверджують покращення перебігу регенерації кісткової тканини за використання гідроксиапатиту з β-трикальційфосфатом, легованого германієм.

Обговорення

Проблема остеопорозу у ветеринарній медицині може розглядатися з різних позицій, зокрема, з медико-біологічної точки зору та безпосередньо як проблематика тварин різних видів. Особливу увагу у вивченні даного захворювання приділяють дрібним домашнім тваринам. Це насамперед пов'язано з багатфакторністю етіології, подовженням віку тварин, порушеннями оптимальних процедур розведення, наслідком якого є недосконале генотипування нащадків, екологічними факторами і, що важливо для тварин-компаньйонів, умовами утримання та годівлі, оскільки у шкірі цих тварин не відбувається синтезу вітаміну D.

Щодо практичних питань дослідження тварин з остеопорозом – це складність клініко-діагностичних алгоритмів, низька доступність засобів і способів діагностики (денситометрія, магнітно-резонансна томографія, подвійна енергетична рентгенівська абсорбціометрія, комп'ютерна томографія) та недостатнє використання лабораторних методів дослідження крові при діагностиці тварин з підозрою на остеопороз, зокрема на вміст загального та іонізуючого кальцію, неорганічного фосфору та безпосередньо біохімічних маркерів кісткового метаболізму (лужної фосфатази та її кісткового ізоферменту, тартратрезистентної кислої фосфатази, остеокальцину, паратгормону, вітаміну D, карбокситермінального пропептиду колагену I типу, дезоксипіридиноліну).

У зв'язку з цим досить часто спочатку діагностують власне нозологічні форми, зумовлені остеопорозом, такі як деформації кісток кінцівок, дисплазії кульшового та ліктьового суглобів, асептичний некроз

головки стегнової кістки, переломи кісток і лише постфактум в процесі подальших досліджень виявляють їх причину, а саме системний остеопороз.

Остеопоротичні фрактури, внаслідок порушення структурно-функціонального стану кісткової тканини, погано піддаються лікуванню (Haaland et al., 2009). Тому є необхідність застосування додаткових засобів для створення оптимальних умов перебігу репаративного остеогенезу, а саме місцеве застосування остеозаміщувальних матеріалів, зокрема легованої іонами мікроелементів кальцій-фосфатної кераміки (Rublenko et al., 2015; Chemerovskiy, 2020).

На підставі раніше проведених досліджень (Rublenko et al., 2015; Chemerovskiy, 2020; Todosiuk, 2020) було розроблено композитний матеріал, до складу якого входить гідроксиапатит з β-трикальційфосфатом, легований германієм.

За результатами дослідження використання гідроксиапатитної кераміки, легованої германієм, зумовлює більш динамічний перебіг репаративного остеогенезу у тварин дослідної групи порівняно з контрольними. Так, вже на 14-ту добу після травми як за рентгенологічних, так і макроморфологічних досліджень ділянка дефекту характеризується підвищеною рентгенщільністю, помірною періостальною та ранньою ендоостальною реакцією.

Динаміка вмісту макроелементів у сироватці крові кролів і собак зазвичай, за репаративного остеогенезу не є показовою, оскільки зміни відбуваються в межах фізіологічної норми на підставі розподільного механізму їх у системі кісткового скелету (Chemerovskiy, 2020; Shevchenko, 2020). Натомість в умовах системного остеопорозу набувають розвитку гіпокальціємія і гіперфосфатемія, що ускладнюють репаративний остеогенез. Проте за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою, легованою германієм, достовірно відбувається процес поступового вирівнювання Ca:P індекса, що, найімовірніше, свідчить про задіявання для цього мікроелементів із композитного матеріалу.

Отже, гідроксиапатитний композит з β-трикальційфосфатом, легований германієм, може бути перспективним у травматології та ортопедії тварин-компаньйонів як за травматичних, так і за низькоенергетичних переломів кісток, зумовлених систе-

мними остеопоротичними змінами кісткової тканини безпосередньо у тварин-компаньйонів.

Висновки

1. Наявність системного остеопорозу в експериментальних тварин спричиняє порушення репаративного остеогенезу за рахунок подовження запально-резорбтивної стадії та хрящового мозоля і ускладненої мінералізації кісткового регенерата.

2. Кальцій-фосфатна кераміка є перспективним матеріалом для заміщення кісткових дефектів у тварин з системним вторинним остеопорозом.

Конфлікт інтересів

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів в даній роботі.

Подяка/фінансування

Дослідження виконані відповідно до затвердженої теми дисертаційної роботи “Застосування біоінженерних композитів на основі гідроксиапатиту, колагену і фібрину для оптимізації регенерації тканин опорно-рухового апарату в тварин” (протокол № 4 від 28 листопада 2019 року) та виконання Держбюджетної тематики “Доклінічні дослідження виробів із зроблених біоматеріалів” № 48/1 від 27.08.19 р. в рамках виконання науково-дослідної роботи “Розробка та доведення до впровадження в клінічну практику кісткових імплантів різного призначення з новітніх біоматеріалів для відновлення кісткової тканини та функції кісток після поранень в бойових діях” (Договір № 515 від 17 квітня 2019 р.) відповідно до цільової науково-технічної програми НАН України “Дослідження і розробки з проблем підвищення обороноздатності і безпеки держави” та Розпорядження Президії НАН України від 16.04.2019 № 255.

References

Abu-Amer, Y., & Darwech, I. & Otero, J. (2007). Osteoporosis and Osteopetrosis. DOI: 10.1002/9780470015902.a0006017.

Bian, D., Zhou, W., Den, J., & Li, Y. (2017). Development of magnesium-based biodegradable metals with dietary trace element germanium as orthopaedic implant applications. *Acta Biomaterialia*, 64, 421–436. DOI: 10.1016/j.actbio.2017.10.004.

Bonucci, E., & Ballanti, P. (2014). Osteoporosis-bone remodeling and animal models. *Toxicol Pathol*, 42(6), 957–969. DOI: 10.1177/0192623313512428.

Brusko, A. T., & Haiko, H. V. (2005). Funktsionalnaia perestroika kostei u ee klynycheskoe znachenye [Functional reconstruction of bones and its clinical significance]. *Luhansk, Luhanskyi hosudarstvennyy medytsynskiy unversytet* (in Russian).

Bumeister, V. I., & Pohorelov, M. V. (2008). Suchasnyi pohliad na reparaivnyi osteohenez. [A modern view of reparative osteogenesis]. *Svit medytsyny ta biolohii*, 4, 104–110 (in Ukrainian).

Chemervskiy, V. O. (2020). *Renthenohrafichna, makromorfolohichna i hematolohichna otsinka*

hidroksyapatytnoi keramiky z riznyimi fizyko-khimichnymi vlastyvostyami [Radiographic, macromorphological and hematological evaluation of hydroxyapatite ceramics with different physical and chemical properties]. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medytsyny*, 1, 140–152. DOI: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-140-152 (in Ukrainian)

Egermann, M. J., & Schneider, G. E. (2005). Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int*, 16, 129–138. DOI: 10.1007/s00198-005-1859-7.

Fujii, A., Kuboyama, N., Yamane, J., Nakao, S., & Furukawa, Y. (1993). Effect of organic germanium compound (Ge-132) on experimental osteoporosis in rats. *General Pharmacology: The Vascular System*, 24(6), 1527–1532. DOI: 10.1007/s10653-017-0061-0.

Giannoudis, P., Tzioupis, C., Almkali, T., & Buckley, R. (2007). Fracture healing in osteoporotic fractures: Is it really different?: A basic science perspective. *Injury*, 38(1), S90-S99. DOI: 10.1016/j.injury.2007.02.014.

Goldhahn, J., Jenet, A., Schneider, E., & Lill, C. A. (2005). Slow rebound of cancellous bone after mainly steroid-induced osteoporosis in ovariectomized sheep. *J Orthop.Trauma*, 19(1), 23–28. DOI: 10.1097/00005131-200501000-00005.

Haaland, P. J., Sjöström, L., Devor, M., & Haug, A. (2009). Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases. *Vet. Comp. Orthop Traumatol.*, 22(4), 309–315. DOI:10.3415/VCOT08-05-0044.

Li, L., Ruan, T., Lyu, Y., & Wu, B. (2017). Advances in Effect of Germanium or Germanium Compound on Animals. *Journal of Biosciences and Medicines*, 5(7), 56–73. DOI: 10.4236/jbm.2017.57006.

Oheim, R., Amling, M., Ignatius, A., & Pogoda, P. (2012a). Large animal model for osteoporosis in humans: the ewe. *Eur Cell Mater*, 24, 372–385. DOI: 10.22203/ecm.v024a27.

Oheim, R., Beil, F.T., Barvencik, F., Egermann, M., Amling, M., Clarke, I. J. et al. (2012b). Targeting the lateral but not the third ventricle induces bone loss in ewe: An experimental approach to generate an improved large animal model of osteoporosis. *Trauma Acute Care Surg*, 72(3), 720–726. DOI: 10.1097/TA.0b013e318238b3bd.

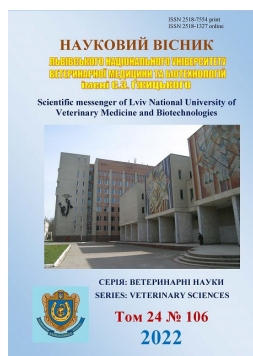
Oheim, R., Schinke, T., Amling, M., & Pogoda, P. (2016). Can we induce osteoporosis in animals comparable to the human situation? *Injury*, 47(1), S3–S9. DOI: 10.1016/S0020-1383(16)30002-X.

Oheim, R., Tsourdi, E., Seefried, L., Beller, G., Schubach, M., Vettorazzi, E. et al. (2022). Genetic Diagnostics in Routine Osteological Assessment of Adult Low Bone Mass Disorders. *J Clin Endocrinol Metab*, 107(7), e3048–e3057. DOI: 10.1210/clinem/dgac147.

Podaropoulos, L., Veis, A.A., Papadimitriou, S., Alexandridis, C., et al. (2009). Bone regeneration using b-tricalcium phosphate in a calcium sulfate matrix. *Implantol*, 35(1), 28–36. DOI: 10.1563/1548-1336-35.1.28.

Povorozniuk, V. V., Dedukh, N. V., Hryhoreva, N. V., & Hopkalova, Y. V. (2012). *Eksperymentalnyi osteoporoz*. [Experimental osteoporosis]. Kyiv (in Ukrainian).

- Raisz, L. G. (2005). Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest*, 115(12), 3318–3325. DOI: 10.1172/JCI27071.
- Rublenko, M. V., & Semeniak, S. A. (2015). Morfo-rentenolohichna i biokhimichna kharakterystyka reparatyvnoho osteohenezu za zamishchennia kistkovykh defektiv Biomin-HT u tvaryn. [Morpho-radiological and biochemical characteristics of reparative osteogenesis for replacing bone defects with Biomin-HT in animals]. *Nauk. visnyk vet. medytsyny: zb. nauk. prats. Bila Tserkva*, 1(118), 98–106 (in Ukrainian).
- Rublenko, M. V., Andriiets, V. H., Semeniak, S. A., & Ulianchych, N. V. (2015). Vykorystannia kompozytnykh materialiv za perelomiv trubchastykh kistok u tvaryn. [The use of composite materials for fractures of tubular bones in animals]. *Bila Tserkva* (in Ukrainian).
- Shevchenko, S. M. (2020). Dynamika hematolohichnykh pokaznykiv, makromorfolohichna i rentenolohichna kartyny reparatyvnoho osteohenezu v kroliv za vykorystannia trombocytnykh kontsentrativ ta hidroksyapatytoi keramiky. [Dynamics of hematological indicators, macromorphological and X-ray pictures of reparative osteogenesis in rabbits using platelet concentrates and hydroxyapatite ceramics]. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medytsyny*, 1, 153–164. URL: <https://nvvm.btsau.edu.ua/en/content/dynamics-hematological-parameters-macromorphological-and-radiological-results-reparative#bootstrap-fieldgroup-nav-item--annotation> (in Ukrainian).
- Słupski, W., Jawien, P., & Nowak, B. (2021). Botanicals in Postmenopausal Osteoporosis. *Nutrients*, 13(5), 1609. DOI: 10.3390/nu13051609.
- Smith, S. Y., Jollette, J., & Turner, C. H. (2009). Skeletal health: primate model of postmenopausal Osteoporosis. *Am J Primatol*, 71, 752–765. DOI: 10.1002/ajp.20715.
- Sturmer, K. M. (1996). Pathophysiology disrupted bone healing. *Orthopaede*, 25(5), 386–393. DOI: 10.1007/s001320050039.
- Todosiuk, T. P. (2020). Renteno- ta makromorfolohichna otsinka reparatyvnoho osteohenezu za implantatsii hidroksyapatytnoho kompozytu, lehovanoho hermaniiem [X-ray and macromorphological evaluation of reparative osteogenesis after implantation of hydroxyapatite composite doped with germanium]. *Nauk. visnyk vet. med., Bila Tserkva*, 2, 183–194. DOI: 10.33245/2310-4902-2020-160-2-183-194 (in Ukrainian).
- Wang, J. W., Li, W., Xu, S. W. et al. (2005). Osteoporosis influences the middle and late periods of fracture healing in a rat osteoporotic model. *Chin. J. Traumatol*, 8(2), 111–116. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15769311>.
- Waters, R. V., Gamradt, S. C., Asnis, P. et al. (2000). Systemic corticosteroids inhibit bone healing in a rabbit ulnar osteotomy model. *Acta Orthop. Scand*, 71(3), 316–321. DOI: 10.1080/000164700317411951.



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/nvlvet10624

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

UDC 619:615.9:636.085.34:579.843.4.083.13:546.19:546.47/.48:546.56:546.815

Toxicological evaluation of feeds with different levels of heavy metals using luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*

O. V. Kurbatska, O. L. Orobchenko✉

National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine

Article info

Received 28.04.2022

Received in revised form

30.05.2022

Accepted 31.05.2022

National Scientific Center
Institute of Experimental and
Clinical Veterinary Medicine,
Pushkinska Str., 83, Kharkiv,
61023, Ukraine.
Tel.: +38-097-379-72-13
E-mail: toxi-lab@ukr.net

Kurbatska, O. V., & Orobchenko, O. L. (2022). Toxicological evaluation of feeds with different levels of heavy metals using luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 158–167. doi: 10.32718/nvlvet10624

Assessment of the toxicity of pollutants is an integral part of the quality and safety control of the animal feed. Today, when determining the toxicity of a particular substance, alternative methods are increasingly being used, which involve using cell cultures, protozoa, and photobacteria in a toxicological experiment. The bioluminescence effect of bacteria makes it possible to use them as a substitute for laboratory animals or as an additional test to determine the effect of toxicants, which significantly reduces the cost of work due to the simplicity and speed of research, high sensitivity, and reproducibility. This work aimed to conduct a toxicological assessment of feeds with different levels of heavy metals using the luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*. Under the study of heavy metals, corn grits, which did not possess toxic properties, were used as a “matrix.” Heavy metals were used in the form of State standard samples: Arsenic, Cadmium, Lead, Mercury, Copper, and Zinc. Before adding heavy metals to the feed, the “matrix” was previously examined for their content (background). Toxicants were added to the “matrix” in different concentrations, taking into account the “background” indicators (5 series each), which were prepared by diluting in distilled water, depending on the maximum residue limits (MRL). As a result of the work, the possibility of using luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum* (strain IMV B-7071; Sq3) was established for rapid toxicological evaluation of feeds with different levels of heavy metals based on the decrease in the intensity of the glow. However, if for Cd, Hg, Zn, Cu under the conditions of the study of feed with the content of heavy metals at the MRL (0.4; 0.1; 25.0 and 120.0 mg/kg, respectively), the feed was characterized as “non-toxic,” then for Pb and As according to the MRL (5.0 and 0.5 mg/kg, respectively), the feed was characterized as “toxic,” which indicates the need for further studies on the toxicological characteristics of heavy metals in the body of laboratory and productive animals, possibly with a further revision (downward) of the MRL of the relevant pollutants in feed in Ukraine.

Key words: bioluminescence, feed, heavy metals, toxicity, *Photobacterium phosphoreum*.

Токсикологічна оцінка кормів із різними рівнями важких металів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*

О. В. Курбацька, О. Л. Оробченко✉

Національний науковий центр “Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини”, м. Харків, Україна

Оцінка токсичності забруднюючих речовин є невід’ємною частиною контролю якості та безпеки кормів тварин. На сьогодні у разі визначення токсичності тієї чи іншої речовини все частіше звертаються до альтернативних методів, що передбачає використання в токсикологічному експерименті культур клітин, найпростіших та фотобактерій. Ефект біоломінесценції бактерій дозволяє використовувати їх як заміну лабораторних тварин або як додатковий тест для визначення впливу токсикантів, що значно знижує вартість виконання робіт завдяки простоті та швидкості дослідження, високій чутливості та відтворюваності. Метою даної роботи стало провести токсикологічну оцінку кормів із різними рівнями важких металів з використанням люмінес-

центних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*. За умов дослідження важких металів як “матриці” було використано кукурудзяну крупу, що не володіла токсичними властивостями. Важкі метали використовували у формі Державних стандартних зразків, а саме: Арсен, Кадмій, Плюмбум, Меркурій, Купрум і Цинк. Перед внесенням важких металів у корм попередньо досліджували “матрицю” на їх вміст (фон). Токсиканти вносили в “матрицю” у різних концентраціях з урахуванням “фонових” показників (по 5 серій), що готували шляхом розведення в дистильованій воді, залежно від максимально допустимого рівня. В результаті виконання роботи встановлено можливість використання люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum* (штам ІМВ В-7071; Sq3) для експресної токсикологічної оцінки кормів з різними рівнями важких металів, що базується на зниженні інтенсивності світіння. Проте, якщо для Cd, Hg, Zn, Cu за умов дослідження корму з вмістом важких металів на рівні МДР (0,4; 0,1; 25,0 і 120,0 мг/кг відповідно) корм характеризувався як нетоксичний, то для Pb і As за МДР (5,0 і 0,5 мг/кг відповідно) корм характеризувався як токсичний, що свідчить про необхідність подальших досліджень з вивчення токсикологічної характеристики важких металів в організмі лабораторних і продуктивних тварин, можливо з подальшим переглядом (у бік зниження) максимально допустимих рівнів відповідних забруднювачів у кормах в Україні.

Ключові слова: біоломінесценція, комбікорми, важкі метали, токсичність, *Photobacterium phosphoreum*.

Вступ

У зв'язку з інтенсивним зростанням і розвитком промисловості, транспорту, індустріалізацією і хімізацією сільського господарства, прискоренням науково-технічного прогресу за останні роки значно збільшилось і продовжує наростати надходження в навколишнє середовище важких металів техногенного походження (Hrynova & Kryshchuk, 2021).

У наукових роботах, які присвячені проблемам забруднення природного довкілля і екологічного моніторингу, нині до важких металів зараховують більше ніж 40 металів періодичної системи Д. Менделєєва з атомною масою понад 50 атомних одиниць: V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Sn, Hg, Pb, Bi та ін. (Pourret et al., 2021). Проте, відповідно до міжнародних вимог, розроблених об'єднаною комісією ФАО/ВООЗ (CF/14 INF/1, 2021), необхідний насамперед контроль за вмістом в харчових продуктах важких металів – Pb, Cd, As, Hg, Zn, Cu. В даний час визначені допустимі рівні вмісту токсичних елементів в різних групах продовольчої сировини і харчових продуктів.

Тривалий токсичний вплив важких металів проявляється враженням травного тракту, серцево-судинної, ендокринної, нервової, репродуктивної, імунної систем, а також може призвести до віддалених ефектів, таких як канцерогенний та мутагенний, причому кожен важкий метал має свої особливості впливу на організм (Bashchenko et al., 2020; Lavryshyn & Guttyj, 2020; Dmukhalska & Korda 2021; Slobodian et al., 2021).

Як відомо, важкі метали здатні накопичуватися на всіх рівнях екологічної піраміди, що значно посилює проблему, а особливо гостро постає проблема їх накопичення у кормах для сільськогосподарських тварин (Zhang et al., 2012; Eskandari & Pakfetrat, 2014; Hejna et al., 2019; Kabeer et al., 2021). Виходячи з вищевказаного, контроль якості та безпеки кормів завжди був актуальним і залишається одним із напрямків роботи ветеринарної медицини України. Тому проведення досліджень в цьому напрямку актуальне в сучасних умовах, коли Україна вступила до Світової організації торгівлі та готується до входження у Європейський Союз.

Оцінка токсичності забруднюючих речовин є невід'ємною частиною контролю якості та безпеки кормів тварин. На сьогодні у разі визначення токсичності тієї чи іншої речовини все частіше звертаються до

альтернативних методів, що передбачає використання в токсикологічному експерименті культур клітин, найпростіших та фотобактерій. Ефект біоломінесценції бактерій дозволяє використовувати їх як заміну лабораторних тварин або як додатковий тест для визначення впливу токсикантів, що значно знижує вартість виконання робіт завдяки простоті та швидкості дослідження, високій чутливості та відтворюваності (Menz et al., 2013; Fernández-Piñas et al., 2014; Ma et al., 2014; Kurbatska & Orobchenko, 2021a).

Нашими попередніми дослідженнями така методика була розроблена, проте перед впровадженням у практику ветеринарної медицини необхідно було переконатися в можливості її застосування щодо кормів з різними рівнями токсикантів (в тому числі й важких металів), тому метою даної роботи стало провести токсикологічну оцінку кормів із різними рівнями важких металів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили у лабораторії токсикологічного моніторингу Національного наукового центру “Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини” (м. Харків).

Для виконання даного завдання як забруднювачі кормів були використані важкі метали, які регламентовані Переліком максимально допустимих рівнів небажаних речовин у кормах та кормовій сировині для тварин (Наказ №131 від 19.03.12 р.) зі змінами від 11.10.2017 Наказ № 550 (On approval of the List of maximum permissible levels..., 2017).

За умов дослідження важких металів як “матриці” було використано кукурудзяну крупу, що не володіла токсичними властивостями. Важкі метали використовували у формі Державних стандартних зразків (ДСЗ), а саме: Арсен, Кадмій, Плюмбум, Меркурій, Купрум і Цинк. Перед внесенням важких металів у корм попередньо досліджували “матрицю” на їх вміст (фон). Токсиканти вносили в “матрицю” у різних концентраціях з урахуванням “фонових” показників (по 5 серій), що готували шляхом розведення в дистильованій воді, залежно від максимально допустимого рівня (МДР) (таблиця 1).

Наважку контрольної і дослідних “матриць” масою 10,0 г вносили до скляних флаконів, у дослідні проби вносили відповідну кількість ДСЗ важких металів і додавали 96° етанол об'ємом 20,0 см³ та екст-

рагували, залишаючи на 24 години, потім центрифугували при (1,5–2,0) тис. об./хв 10 хв, після чого відбирали надосадову рідину, яку в об'ємі 0,02 см³ додавали до (попередньо підготовленої і внесеної у кювету люмінометра) культуральної рідини в об'ємі 1,0 см³.

Як тест-культуру використовували ліофілізовану культуру *Photobacterium phosphoreum* (штам ІМВ В-7071; Sq3) (*Ph. phosphoreum*), отриману із Депозита-

рію мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного Національної академії наук України (м. Київ). Культивування фотобактерій під час дослідів здійснювали у термостаті за температури (27 ± 1) °С у пробірках на рідкому та щільному поживному середовищі, розробленому на основі наших попередніх досліджень (Orobchenko et al., 2020), протягом (22 ± 2) год.

Таблиця 1

Важкі метали, які підлягали дослідженню щодо інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій

Назва забруднювача	Досліджувані рівні (دوزи), мг/кг корму	МДР, мг/кг корму*
Арсен	0,05; 0,1; 0,5; 2,5; 5,0	0,5
Кадмій	0,04; 0,08; 0,4; 2,00; 4,0	0,4
Плюмбум	0,5; 1,0; 5,0; 25,0; 50,0	5,0
Меркурій	0,01; 0,02; 0,1; 0,5; 1,0	0,1
Купрум	2,5; 5,0; 25,0; 125,0; 250,0	25,0
Цинк	12,0; 24,0; 120,0; 600,0; 1200,0	120,0

* – відповідно до (On approval of the List of maximum permissible levels..., 2017)

Інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* досліджували на люмінометрі ЕМІЛІТЕ – 1003 А (БіохімМак, російська федерація), спектральний діапазон люмінометра становив 350–950 нм. Під час тестування фіксували час експозиції та реєстрували зміни інтенсивності люмінесценції на приладі (через 20–25 хв). Вимірювання проводили парами контроль–дослід. Для отримання вірогідних значень досліджувати по 6 повторностей контрольних і дослідних проб.

Для кількісної оцінки ступеня токсичності зразка щодо впливу різних рівнів важких металів на люміне-

сценцію бактерій *Ph. phosphoreum* використовували індекс токсичності (Т) – безрозмірну величину, що дорівнює співвідношенню (формула 1):

$$T = \frac{I_0 - I}{I_0} \times 100, \quad (1)$$

де, I₀ та I – відповідно інтенсивність світіння контролю й досліді,

100 – коефіцієнт перерахунку.

Інтерпретували дані за трьома граничними рівнями індексу токсичності (таблиця 2).

Таблиця 2

Класифікація токсичності речовини за величиною Т

Рівень індексу токсичності	Значення Т	Висновок про ступінь токсичності
1	менше ніж 20	зразок нетоксичний
2	від 20 до 50	зразок токсичний
3	більше ніж 50	зразок сильно токсичний

Індекс токсичності “Т” відображає концентрацію важкого металу, яка викликає пригнічення світіння біосенсора (бактерії *Ph. phosphoreum*) за фіксованого часу експозиції досліджуваного зразка. Як верхній граничний показник визначено зниження інтенсивності світіння бактерій на 50 % порівняно з контролем, що відображається індексом токсичності 50 і дозволяє зарахувати зразки з індексом токсичності 50 і вище до категорії “високотоксичні”. Нижня межа індексу токсичності становить 20, що означає зниження світіння бактерій на 20 % порівняно з контролем і дозволяє зарахувати зразки з індексом токсичності 20 і нижче до “нетоксичних”. Усі значення “Т” від 20 до 50 дозволяють класифікувати зразки як “токсичні”, у яких, якщо правильно виконати розбавлення з нетоксичним аналогом, токсичність може бути зменшена.

Для отримання більш вірогідних даних дослідження були проведені у 6-ти повторностях. Результати даних досліджень дозволили розробити науково-методичні рекомендації (Kurbatska & Orobchenko, 2021b).

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакета програм дисперсійного аналізу (ANOVA) StatPlus 5(6.7.0.3) (AnalystSoft Inc., США). Вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Фішера за рівня вірогідності 95,0 % (P < 0,05).

Результати досліджень

Вплив Арсену на люмінесценцію *Ph. phosphoreum* залежно від концентрації відображено на [рисунку 1](#).

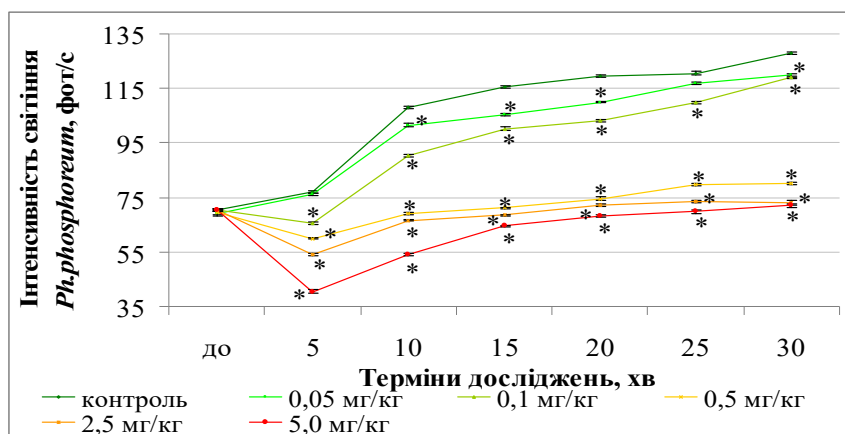


Рис. 1. Динаміка інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Арсену ($M \pm m$, $n = 6$, * – $P < 0,05$ – щодо контролю)

За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Арсену до тест-культури *Ph. phosphoreum* на 5 хв після внесення за 0,05 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відмінностей світіння *Ph. phosphoreum*, тимчасом як за рівнів мікроелементу 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 14,9; 22,8; 29,9 і 47,4 % ($P < 0,05$).

На 10 хв експерименту інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* була нижчою за контроль ($P < 0,05$) на всіх рівнях: за 0,05 мг/кг корму – на 6,0 %, за 0,1 мг/кг корму – на 16,4 %, за 0,5 мг/кг корму – на 36,10 %, за 2,5 мг/кг корму – на 38,4 % і за 5,0 мг/кг корму – на 50,0 % (рис. 1).

Аналогічну картину спостерігали до кінця дослідження. Так, на 15 хв експерименту інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* була нижчою за контроль ($P < 0,05$): за рівнів мікроелементу 0,05; 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг корму на 8,9; 13,2; 38,3; 40,7 і 44,2 % відповідно. На 20 хв зниження інтенсивності світіння становило на 7,9; 13,8; 37,7; 39,5 і 43,1 % відповідно ($P < 0,05$). На 25 хв за рівня Арсену в кормі 0,05 мг/кг інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* була нижчою за контроль, проте невірогідно (2,9 %), тимчасом як за 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг корму виявляли вірогідне ($P < 0,05$) зниження інтенсивності світіння на 8,9; 33,8; 39,0 і 42,1 % відповідно. На останньому терміні

досліджень інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* була нижчою за контроль ($P < 0,05$): за рівнів мікроелементу 0,05; 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг корму на 6,3; 6,8; 37,4; 48,9 і 43,6 % відповідно (рис. 1).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Арсену. Так, за вмісту мікроелементу 0,05 і 0,1 мг/кг корму індекс токсичності на (20–25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) у середньому становив 5,4 і 11,4; а за вмісту 0,5 (показник МДР); 2,5 і 5,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 35,8; 39,3 і 42,6. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Арсену менше ніж 0,05 до 0,1 мг/кг включно є нетоксичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту від 0,5 до 5,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

Вплив Кадмію на люмінесценцію *Ph. phosphoreum* в залежності від концентрації відображено на [рисунок 2](#). За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Кадмію до тест-культури *Ph. phosphoreum* на 5 хв після внесення спостерігали зниження інтенсивності світіння щодо контролю ($P < 0,05$) за рівнів мікроелементу 0,04; 0,08; 0,4; 2,0 і 4,0 мг/кг на 24,2; 12,6; 21,4; 11,6 і 21,1 %.

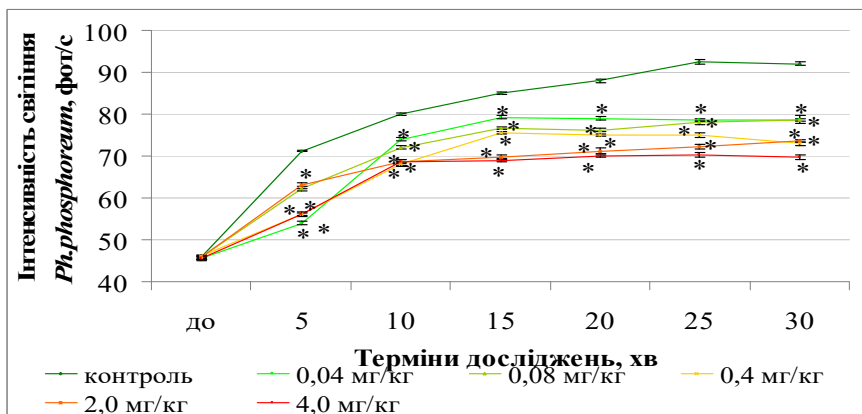


Рис. 2. Динаміка інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Кадмію ($M \pm m$, $n = 6$, * – $P < 0,05$ – щодо контролю)

На 10 хв експерименту інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* була нижчою за контроль ($P < 0,05$) на всіх рівнях мікроелементу: за 0,04 мг/кг корму – на 7,5 %, за 0,08 мг/кг корму – на 10,0 %, за 0,4 мг/кг корму – на 15,0 %, за 2,0 мг/кг корму – на 14,4 % і за 4,0 мг/кг корму – на 14,1 % (рис. 2).

Аналогічну картину спостерігали до кінця дослідження. Так, на 15 хв експерименту інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* була нижчою за контроль ($P < 0,05$): за рівнів мікроелементу 0,04; 0,08; 0,4; 2,0 і 4,0 мг/кг корму на 6,8; 9,7; 11,2; 17,9 і 18,8 % відповідно. На 20 хв зниження інтенсивності світіння становило 10,2; 13,4; 14,7; 19,0 і 20,5 % відповідно ($P < 0,05$). На 25 хв за рівнів Кадмію в кормі 0,04; 0,08; 0,4; 2,0 і 4,0 мг/кг інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* була нижчою за контроль ($P < 0,05$) на 15,1; 15,7; 18,9; 21,9 і 24,1 % відповідно. На останньому терміні досліджень інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* була нижчою за контроль ($P < 0,05$): за рівнів мікроелементу 0,04; 0,08; 0,4; 2,0 і 4,0 мг/кг корму на 14,4; 14,7; 20,7; 20,1 і 24,2 % відповідно (рис. 2).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Кадмію. Так, за вмісту мікроелементу 0,04; 0,08 і 0,4 (показник МДР) мг/кг корму індекс токсичності на (20–25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) у середньому становив 12,7; 14,5 і 16,8; а за вмісту 2,0 і 4,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 20,5 і 22,3. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Кадмію менше ніж 0,04 до 0,4 мг/кг включно є нетоксичними (індекс токсичності менше ніж 20), за вмісту від 2,0 до 4,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

сичності від 20 до 50).

Вплив Плюмбуму на люмінесценцію *Ph. phosphoreum* залежно від концентрації відображено на рисунку 3. За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Плюмбуму до тест-культури *Ph. phosphoreum* на 5 хв після внесення за 0,5–1,0 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* ($P < 0,05$) на 16,6 і 5,9 %, тимчасом як за рівня мікроелементу 5,0 мг/кг корму інтенсивність світіння була нижчою за контроль (невірогідно 1,3 %), а за 25,0 і 50,0 мг/кг корму зниження було вірогідне ($P < 0,05$) і складало 21,8 і 37,8 % відповідно (рис. 3).

На 10 хв експерименту за рівня Плюмбуму 0,5 мг/кг в кормі спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* (проте воно було невірогідним), а за рівня 1,0 мг/кг – зниження, яке також було невірогідним, тимчасом як за рівнів Плюмбуму в кормі 5,0; 25,0 і 50,0 мг/кг інтенсивність світіння знижувалася на 10,8; 27,2 і 38,4 % відповідно ($P < 0,05$) (рис. 3).

На 15 хв досліді на всіх рівнях реєстрували зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* (невірогідне за рівня Плюмбуму 0,5 мг/кг корму) та з вірогідністю ($P < 0,05$) за рівнів 1,0; 5,0; 25,0 і 50,0 мг/кг на 11,0; 19,8; 30,6 і 49,6 % відповідно щодо контролю (рис. 3).

На 20 хв досліді за рівня Плюмбуму в кормі 0,5 мг/кг не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum*, тимчасом як за рівнів 1,0; 5,0; 25,0 і 50,0 мг/кг інтенсивність світіння знижувалася на 13,9; 23,7; 31,4 і 39,9 % відповідно відносно контролю ($P < 0,05$) (рис. 3).

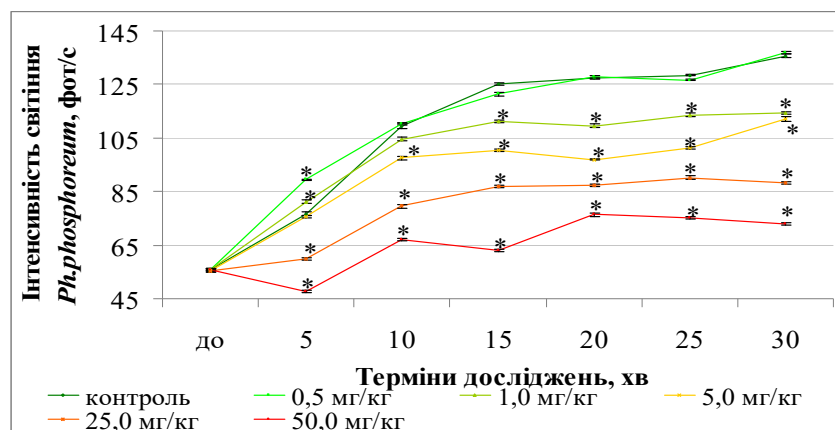


Рис. 3. Динаміка інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Плюмбуму ($M \pm m$, $n = 6$, * – $P < 0,05$ – щодо контролю)

На 25 хв досліді на всіх рівнях реєстрували зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* (не вірогідне за рівня Плюмбуму 0,5 мг/кг корму) та з вірогідністю ($P < 0,05$) за рівнів 1,0; 5,0; 25,0 і 50,0 мг/кг на 11,7; 21,2; 29,8 і 41,6 % відповідно щодо контролю (рис. 3).

На 30 хв досліді за рівня Плюмбуму в кормі 0,5 мг/кг не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum*, тимчасом як за

рівнів 1,0; 5,0; 25,0 і 50,0 мг/кг інтенсивність світіння знижувалася на 15,8; 17,5; 35,0 і 46,4 % відповідно щодо контролю ($P < 0,05$) (рис. 3).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Плюмбуму. Так, за вмісту мікроелементу 0,5 і 1,0 мг/кг корму індекс токсичності на (20–25) хв (рекомендований термін реєстрації показників

флуоресценції) у середньому становив 0,48 і 12,8; а за вмісту 5,0 (показник МДР), 25,0 і 50,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 22,5; 30,6 і 40,8. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Плюмбуму менше ніж 0,5 до 1,0 мг/кг включно є нетоксичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту від 5,0 до 50,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

Вплив Меркурію на люмінесценцію *Ph. phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 4. За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Меркурію до тест-культури *Ph. phosphoreum* на 5 хв після внесення спостерігали зниження інтенсивності світіння щодо контролю ($P < 0,05$) за рівнів мікроелементу 0,01; 0,02; 0,1; 0,5 і 1,0 мг/кг на 23,8; 15,8; 21,2; 21,7 і 19,7 %.

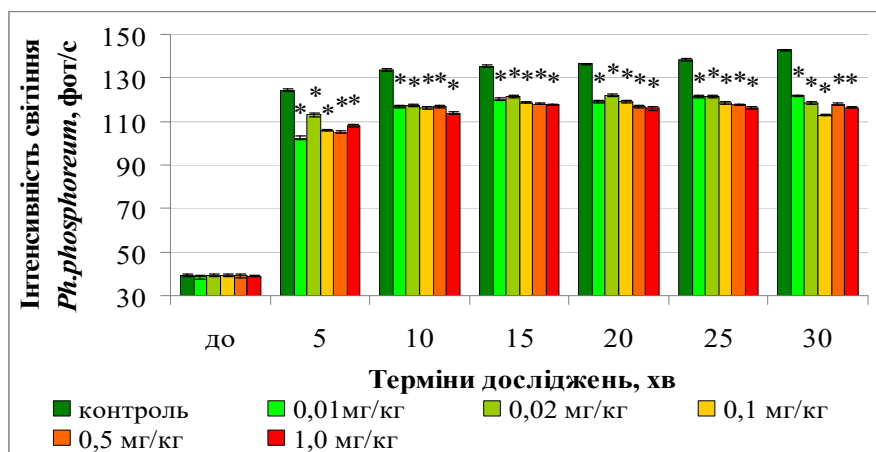


Рис. 4. Динаміка інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Меркурію ($M \pm m$, $n = 6$, * – $P < 0,05$ – щодо контролю)

На 10 хв експерименту інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* була також нижчою за контроль ($P < 0,05$) на всіх рівнях мікроелементу: за 0,01 мг/кг корму – на 18,6 %, за 0,02 мг/кг корму – на 18,1 %, за 0,1 мг/кг корму – на 19,0 %, за 0,5 мг/кг корму – на 18,6 % і за 1,0 мг/кг корму – на 20,7 %. Аналогічну картину спостерігали до кінця дослідження (рис. 4).

На 15 хв експерименту інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* була також нижчою за контроль ($P < 0,05$) на всіх рівнях Меркурію: за 0,01 мг/кг корму – на 17,2 %, за 0,02 мг/кг корму – на 16,5 %, за 0,1 мг/кг корму – на 18,4 %, за 0,5 мг/кг корму – на 18,7 % і за 1,0 мг/кг корму – на 19,1 %.

На 20 хв після внесення спостерігали зниження інтенсивності світіння відносно контролю ($P < 0,05$) за рівнів мікроелементу 0,01; 0,02; 0,1; 0,5 і 1,0 мг/кг на 18,6; 16,7; 18,6; 20,3 і 20,8 % (рис. 4).

На 25 хв після внесення спостерігали зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* щодо контролю ($P < 0,05$) за рівнів мікроелементу 0,01; 0,02; 0,1; 0,5 і 1,0 мг/кг на 18,2; 18,4; 20,0; 20,7 і 21,5 % (рис. 4).

І на останньому терміні досліджень спостерігали зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* щодо контролю ($P < 0,05$) за рівнів мікроелементу 0,01; 0,02; 0,1; 0,5 і 1,0 мг/кг на 20,3; 22,4; 26,0; 22,7 і 23,7 % (рис. 4).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Меркурію. Так, за вмісту мікроелементу 0,01; 0,02; 0,1 (показник МДР) мг/кг корму індекс токсичності на (20–25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) у серед-

ньому становив 18,4; 17,5 і 19,3; а за вмісту 0,5 і 1,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 20,5 і 21,2. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Меркурію менше ніж 0,01 до 0,1 мг/кг включно є нетоксичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту від 0,5 до 1,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

Вплив Купруму на люмінесценцію *Ph. phosphoreum* залежно від концентрації відображено на рисунку 5. За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Купруму до тест-культури *Ph. phosphoreum* на 5 хв після внесення за 2,5 і 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum*, а за рівнів 25,0; 125,0 і 250,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 7,6; 20,1 і 30,3 % ($P < 0,05$).

На 10 хв експерименту за рівня Купруму в кормі 2,5 мг/кг не виявляли вірогідних змін інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum*, а за рівнів 5,0; 25,0; 125,0 і 250,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 5,1; 17,1; 20,0 і 34,5 % ($P < 0,05$) (рис. 5).

На 15 хв експерименту на всіх рівнях Купруму в кормі спостерігали пригнічення інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* ($P < 0,05$): за 2,5 мг/кг – на 5,1 %, за 5,0 мг/кг – на 5,7 %, за 25,0 мг/кг – на 17,8 %, за 125,0 мг/кг – на 22,7 % і за рівня Купруму 250,0 мг/кг корму – на 36,9 % (рис. 5).

На 20 хв експерименту за рівня Купруму в кормі 2,5 мг/кг не виявляли вірогідних змін інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum*, а за рівнів 5,0; 25,0; 125,0 і 250,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 7,6; 18,4; 24,8 і 42,0 % ($P < 0,05$) (рис. 5).

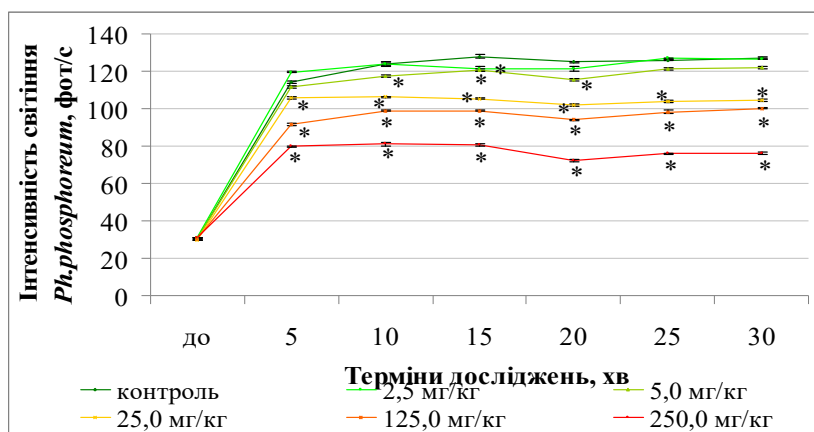


Рис. 5. Динаміка інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Купруму ($M \pm m$, $n = 6$, * – $P < 0,05$ – щодо контролю)

На 25 хв дослідю за рівнів Купруму в кормі 2,5 і 5,0 мг/кг не виявляли вірогідних змін інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum*, а за рівнів 25,0; 125,0 і 250,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 17,7; 22,0 і 39,70 % ($P < 0,05$). Аналогічною була картина і на останньому терміні досліджень: за рівнів Купруму в кормі 2,5 і 5,0 мг/кг не виявляли вірогідних змін інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum*, а за рівнів 25,0; 125,0 і 250,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 17,7; 21,1 і 40,0 % ($P < 0,05$) (рис. 5).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Купруму. Так, за вмісту мікроелементу 2,5; 5,0 і 25,0 (показник МДР) мг/кг корму індекс токсичності на (20–25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) у середньому становив 1,1; 5,7 і 18,0; а за вмісту 125,0 і 250,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 23,4 і 40,8. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Купруму менше ніж 2,5 до 25,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту від 125,0 до 250,0 мг/кг – токсичними (індекс

токсичності від 20 до 50).

Вплив Цинку на люмінесценцію *Ph. phosphoreum* залежно від концентрації відображено на [рисунку 6](#). За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Цинку до тест-культури *Ph. phosphoreum* на 5 хв після внесення за 12,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum*, а за рівнів 24,0; 120,0 і 600,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 10,8; 11,9 і 89,6 % ($P < 0,05$), тимчасом як за рівня Цинку в кормі 1200,0 мг/кг світіння *Ph. phosphoreum* не виявляли взагалі. Варто зазначити, що світіння *Ph. phosphoreum* за рівня Цинку в кормі 1200,0 мг/кг не спостерігали до кінця дослідю (рис. 6).

На 10 хв дослідю за рівнів Цинку в кормі 12,0 і 24,0 мг/кг не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum*, а за рівня 120,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 18,5 % ($P < 0,05$), тимчасом як за рівня Цинку в кормі 600,0 мг/кг світіння *Ph. phosphoreum* не виявляли взагалі. Варто зазначити, що світіння *Ph. phosphoreum* за рівня Цинку в кормі 600,0 мг/кг не спостерігали до кінця дослідю (рис. 6).

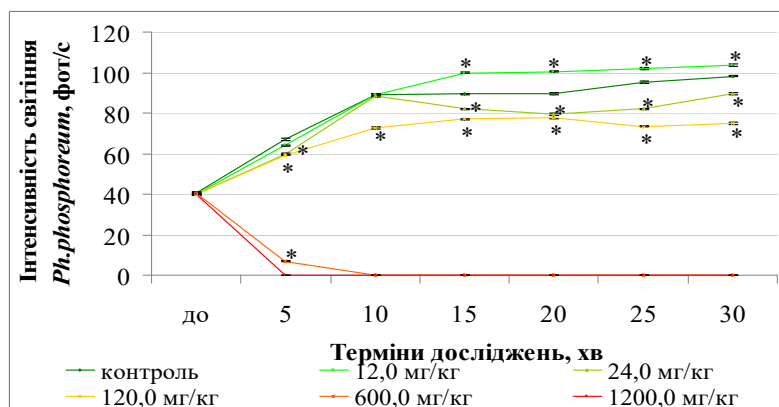


Рис. 6. Динаміка інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Цинку ($M \pm m$, $n = 6$, * – $P < 0,05$ – щодо контролю)

На 15 хв експерименту за рівня Цинку 12,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* (на 11,7 %) щодо контро-

лю, а за рівнів 24,0 і 120,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 8,4 і 14,0 % ($P < 0,05$) (рис. 6).

На 20 хв експерименту за рівня Цинку 12,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* (на 12,0 %) щодо контролю, а за рівнів 24,0 і 120,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 11,7 і 13,1 % ($P < 0,05$) (рис. 6).

На 25 хв досліду за рівня Цинку 12,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* (на 7,1 %) щодо контролю, а за рівнів 24,0 і 120,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 13,9 і 22,8 % ($P < 0,05$) (рис. 6).

На 30 хв експерименту за рівня Цинку 12,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* (на 5,6 %) щодо контролю, а за рівнів 24,0 і 120,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 8,7 і 23,7 % ($P < 0,05$) (рис. 6).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Цинку. Так, за вмісту мікроелементу 12,0 мг/кг корму індекс токсичності на (20–25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) був від'ємний і у середньому становив мінус 9,5; а за вмісту 24,0; 120,0 (показник МДР); 600,0 і 1200,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 12,8; 18,0; 100,0 і 100,0 відповідно. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Цинку менше ніж 12,0 до 120,0 мг/кг включно є нетоксичними (індекс токсичності менше 20), а за вмісту Цинку від 600,0 до 1200,0 мг/кг – сильно токсичними (індекс токсичності більше 50).

Обговорення

Варто зазначити, що біоломінесценція вже використовується у світовій практиці оцінки впливу важких металів на об'єкти природного середовища (це в основному водні екосистеми) (Ranjan et al., 2012; Zeb et al., 2017; Adnan et al., 2021; Yang et al., 2022).

Окрім цього, дослідниками встановлено різну чутливість штамів фотобактерій щодо важких металів. Так, через 30 хв 50 % зниження інтенсивності світіння штаму *Vibrio qinghaiensis* Q67 в досліджуваній воді відбувалося за концентрації Арсену на рівні $4,674 \pm 0,013$ мг/л, *Photobacterium phosphoreum* Т3 і *Photobacterium phosphoreum* 502 на рівні $0,229 \pm 0,008$ і $0,252 \pm 0,002$ мг/л відповідно та штам *Vibrio fischeri* – на рівні $3,851 \pm 0,017$ мг/л (Yang et al., 2022). У інших дослідженнях (He et al., 2015) 50 % зниження інтенсивності світіння штам *Photobacterium phosphoreum* Т3 набував через 15 хв за концентрацій Арсену залежно від рН від 0,895 до 4,396 мг/л. Якщо порівняти отримані нами дані щодо впливу Арсену протягом 30 хв на інтенсивність світіння *Photobacterium phosphoreum* (штам ІМВ В-7071; Sq3), то отримаємо таке: в перерахунку рівнів Арсену у кормах (0,05; 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг корму) маємо кінцеві концентрації важкого металу в досліджуваному екстракті (0,025; 0,05; 0,25; 1,25 і 2,5 мг/л відповідно). За концентрації Арсену 0,25–2,5 мг/л інтенсивність світіння пригнічувалася на 35,8–42,6 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не

було досягнуто, проте встановлено близькість наших результатів з вищеописаними літературними даними.

У нашому експерименті концентрації Кадмію в кінцевому досліджуваному екстракті складали 0,02; 0,04; 0,20; 1,00 і 2,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 0,04; 0,08; 0,4; 2,0 і 4,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 22,3 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було досягнуто, як і у випадку з Арсеном. За даними (Yang et al., 2022) 50 % зниження інтенсивності світіння штаму *Vibrio qinghaiensis* Q67 в досліджуваній воді відбувалося за концентрації Кадмію на рівні $11,137 \pm 0,162$ мг/л, *Photobacterium phosphoreum* Т3 і *Photobacterium phosphoreum* 502 на рівні $4,162 \pm 0,082$ і $5,634 \pm 0,168$ мг/л відповідно та штам *Vibrio fischeri* – на рівні $46,827 \pm 1,529$ мг/л. Поряд з цим Qu et al. (2013) встановили 50 % зниження інтенсивності світіння штам *Photobacterium phosphoreum* Т3 набував через 15 хв за концентрацій Кадмію залежно від рН від 1,03 до 19,3 мг/л. Тобто можна констатувати певну узгодженість отриманих нами даних з даними літератури.

У нашому досліді концентрації Плюмбуму в кінцевому досліджуваному екстракті складали 0,25; 0,50; 2,50; 12,50 і 25,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 0,50; 1,00; 5,0; 25,0 і 50,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 40,8 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було досягнуто, як і у випадку з двома вищевказаними важкими металами. За даними (Yang et al., 2022) 50 % зниження інтенсивності світіння штаму *Vibrio qinghaiensis* Q67 в досліджуваній воді відбувалося за концентрації Плюмбуму на рівні $5,921 \pm 0,043$ мг/л, *Photobacterium phosphoreum* Т3 і *Photobacterium phosphoreum* 502 на рівні $3,488 \pm 0,107$ і $3,937 \pm 0,005$ мг/л відповідно. У роботі Lopez-Roldan et al., 2012 вказано, що 50 % зниження інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій за 15 хв експозиції може відбуватись за концентрації Плюмбуму в досліджуваному об'єкті 33,1 – 237,0 мг/л. Тобто отримані нами дані є вищими за показники, встановлені Yang et al. (2022), проте узгоджуються з даними Lopez-Roldan et al. (2012).

За умов внесення в корм Меркурію 0,01; 0,02; 0,1; 0,5 і 1,0 мг/кг корму концентрації його в кінцевому досліджуваному екстракті складали 0,005; 0,01; 0,05; 0,25 і 0,50 мг/л відповідно. При цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 21,2 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було досягнуто. За даними (Yang et al., 2022) 50 % зниження інтенсивності світіння штаму *Vibrio qinghaiensis* Q67 в досліджуваній воді відбувалося за концентрації Меркурію на рівні $0,911 \pm 0,005$ мг/л, *Photobacterium phosphoreum* Т3 і *Photobacterium phosphoreum* 502 на рівні $0,696 \pm 0,008$ і $1,358 \pm 0,043$ мг/л відповідно та штам *Vibrio fischeri* – на рівні $0,771 \pm 0,009$ мг/л. Тоді як Wang et al. (2014) отримали на порядок нижчі результати концентрацій Меркурію щодо 50 % зниження інтенсивності світіння фотобак-

терій – 0,0661–0,0831 мг/л. Тобто отримані нами дані узгоджуються з даними (Yang et al., 2022), проте є вищими за показники (Wang et al., 2014).

За умов внесення в корм Купруму 2,5; 5,0; 25,0; 125,0 і 250,0 мг/кг корму концентрації його в кінцевому досліджуваному екстракті складали 1,25; 2,5; 12,5; 62,5 і 125,0 мг/л відповідно. При цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 40,8 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було досягнуто. Відповідно до даних (Elder, 1990) 50 % зниження інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій за 15 хв експозиції може відбуватись за концентрації Купруму в досліджуваному об'єкті у межах 3,8–25,0 мг/л. У дослідженнях (Parrott & Sprague, 1993) за рівня Купруму 90,0 мг/л зниження інтенсивності світіння фотобактерій становило 62,6 % за 30 хв досліду. За даними (Lopez-Roldan et al., 2012), 50 % зниження інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій залежно від часу становило на 5 хв – 0,72–6,35 мг/л, на 15 хв – 0,102–580,0 мг/л і на 30 хв – 0,16–36,0 мг/л. Тобто можна констатувати певну узгодженість отриманих нами даних з даними літератури.

У нашому досліді концентрації Цинку в кінцевому досліджуваному екстракті складали 6,0; 12,0; 60,0; 300,0 і 600,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 12,0; 24,0; 120,0; 600,0 і 1200,0 мг/кг), при цьому протягом 30 хв спостерігали повне пригнічення інтенсивності світіння за 300,0 і 600,0 мг/л. Відповідно до даних (Elder, 1990), 50 % зниження інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій за 15 хв експозиції може відбуватись за концентрації Цинку в досліджуваному об'єкті у досить широких межах 3,5–477,0 мг/л. У дослідженнях (Adnan et al., 2021) за рівня Цинку 80,57 мг/л зниження інтенсивності світіння фотобактерій становило 50,0 % за 30 хв експерименту. Тобто можна констатувати певну узгодженість отриманих нами даних з даними літератури.

Варто зазначити, що під час дослідження більшості важких металів не вдалося досягти 50 % інгібування світіння *Ph. phosphoreum*, що обумовлено наявними (виробничими) рівнями їх у кормах та недоцільністю використання вищих доз важких металів у кормах.

Висновки

Досліджено вплив різних рівнів важких металів на інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* (штам IMB B-7071; Sq3) та надана токсикологічна оцінка кормам за відсотком зниження інтенсивності світіння, що дозволяє використовувати даний тест під час токсикологічної оцінки кормів забруднених важкими металами. Корми з вмістом Арсену менше ніж 0,05 до 0,1 мг/кг, Кадмію менше ніж 0,04 до 0,4 мг/кг включно, Плюмбуму менше ніж 0,5 до 1,0 мг/кг включно, Меркурію менше ніж 0,01 до 0,1 мг/кг включно, Купруму менше ніж 2,5 до 25,0 мг/кг включно та Цинку менше ніж 12,0 до 120,0 мг/кг включно характеризувалися як нетоксичні. Корми з вмістом Арсену від 0,5 до 5,0 мг/кг, Кадмію від 2,0 до 4,0 мг/кг, Плюмбуму від 5,0 до 50,0 мг/кг, Меркурію від 0,5 до 1,0 мг/кг, Купруму від 125,0 до 250,0 мг/кг характеризувалися як токсичні, тимчасом як

корми з вмістом Цинку від 600,0 до 1200,0 мг/кг характеризувалися як сильно токсичні.

Перспективи подальших досліджень. Провести токсикологічну оцінку кормів із різними рівнями мікроелементів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*.

Подяка. Автори висловлюють щирю подяку Головач Тетяні Миколаївні, кандидату біологічних наук, завідувачу Депозитарію мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного Національної академії наук України за люб'язно наданий для дослідження штам *Photobacterium phosphoreum* (IMB B-7071; Sq3).

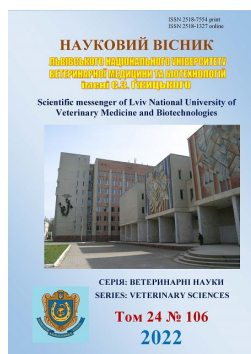
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Adnan, N. A., Halmi, M. I. E., Abd Gani, S. S., Zaidan, U. H., & Abd Shukor, M. Y. (2021). Comparison of Joint Effect of Acute and Chronic Toxicity for Combined Assessment of Heavy Metals on *Photobacterium* sp. NAA-MIE. Int. J. Environ. Res. Public Health, 18, 6644. DOI: 10.3390/ijerph18126644.
- Bashchenko, M. I., Boiko, O. V., Honchar, O. F., Gutyj, B. V., Lesyk, Y. V., Ostapuk, 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.
- CF/14 INF/1. Joint FAO/WHO FOOD standards programme codex committee on contaminants in foods. 14 th Session (virtual) 3-7 and 13 May 2021 Working document for information and use in discussions related to contaminants and toxins in the GSCTFF. 190. URL: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspac e.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FC X-735-14%252FINFO-DOC%252FCF14_INF01x.pdf.
- Dmukhalska, Y. B., & Korda, M. M. (2021). Age features of changes of indicators in endogenous intoxication and membrane state under heavy metals and glyphosate action. Medical and Clinical Chemistry, 4, 22–29. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2021.i4.12729.
- Elder, J. F. (1990). Applicability of ambient toxicity testing to national or regional water-quality assessment. (U.S. Geological Survey circular, 1049, 60. DOI: 10.3133/cir1049.
- Eskandari, M. H., & Pakfetrat, S. (2014). Aflatoxins and heavy metals in animal feed in Iran. Food Additives & Contaminants: Part B, 7(3), 202–207. DOI: 10.1080/19393210.2013.876675.
- Fernández-Piñas, F., Rodea-Palomares, I., Leganés, F., González-Pleiter, M., & Angeles Muñoz-Martín, M. (2014). Evaluation of the ecotoxicity of pollutants with bioluminescent microorganisms. Adv Biochem Eng Biotechnol, 145, 65–135. DOI: 10.1007/978-3-662-43619-6_3.

- He, Q., Qu, R., Wang, X., Wei, Z., Sun, P., & Wang, Z. (2015). Toxicity of Arsenic to *Photobacterium phosphoreum*, *Daphnia magna*, and *Danio rerio* at Different pH Levels. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 44(1), 72–77. DOI: 10.1002/clen.201400124.
- Hejna, M., Moscatelli, A., Onelli, E., Baldi, A., Pili, S., & Rossi, L. (2019). Evaluation of concentration of heavy metals in animal rearing system. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 1372–1384. DOI: 10.1080/1828051X.2019.1642806.
- Hrynova, Y. G., & Kryshchuk, Y. A. (2021). Heavy metals pollution problems and ways to overcome them. *Engineering of nature management*, 1(19), 111–119. DOI: 10.37700/enm.2021.1(19).111-119 (in Ukrainian).
- Kabeer, M. S., Hameed, I., Kashif, S.-ur-R., Khan, M., Tahir, A., Anum, F., Khan, S., & Raza, S. (2021). Contamination of heavy metals in poultry eggs: a study presenting relation between heavy metals in feed intake and eggs, *Archives of Environmental & Occupational Health*, 76(4), 220–232. DOI: 10.1080/19338244.2020.1799182.
- Kurbatska, O. V., & Orobchenko, O. L. (2021a). Express method for determination of general feed toxicity using bioluminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*, 22(2), 217–224. DOI: 10.36359/scivp.2021-22-2.24.
- Kurbatska, O. V., & Orobchenko, O. L. (2021b). Scientific and methodological recommendations “Express methodology for determining the general toxicity of feed using photoluminescent microorganisms *Ph. Phosphoreum*” was reviewed and approved at a meeting of the Methodological Commission of the National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”: protocol No. 4 dated October 29, 2020 and approved by the Scientific and Methodological Council of the State Food and Consumer Service: protocol No. 1 dated May 12, 2021. Kharkiv: Style-Izdat. 24.
- Lavryshyn, Y. Y., & Gutyj, B. V. (2020). Immune status of bull calves’ organism in case of experimental chronic cadmium toxicosis. *Bulletin of Poltava State Agrarian Academy*, 2, 244–251. DOI: 10.31210/visnyk2020.02.31.
- Lopez-Roldan, R., Kazlauskaitė, L., Ribo, J., Riva, M. C., González, S., & Cortina, J. L. (2012). Evaluation of an automated luminescent bacteria assay for in situ aquatic toxicity determination. *Science of The Total Environment*, 440, 307–313. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.05.043.
- Ma, X. Y., Wang, X. C., Ngo, H. H., Guo, W., Wu, M. N., & Wang, N. (2014). Bioassay based luminescent bacteria: interferences, improvements, and applications. *Sci Total Environ*, 468–469, 1–11. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.08.028.
- Menz, J., Schneider, M., & Kümmerer, K. (2013). Toxicity testing with luminescent bacteria – characterization of an automated method for the combined assessment of acute and chronic effects. *Chemosphere*, 93(6), 990–996. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.05.067.
- On approval of the List of maximum permissible levels of undesirable substances in feed and feed raw materials for animals of the Ministry of Agrarian Policy of Ukraine; Order, List dated March 19, 2012 No. 131 as amended on October 11, 2017 Order No. 550). URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0503-12#Text> (in Ukrainian).
- Orobchenko, O. L., Kurbatska, O. V., Kutsan O. T., & Kalashnik N. V. (2020). Nutrient medium for the cultivation of photoluminescent microorganisms *Photobacterium Phosphoreum*. Declaratory patent of Ukraine for a utility model № 143070 IPC (51) C12N 1/20; applicant and patent holder National Research Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”; stated 21.01.2020 (u 2020 00341); publ. 10.07.2020, 13/2020. 4 (in Ukrainian).
- Parrott, J. L., & Sprague, J. B. (1993). Patterns in Toxicity of Sublethal Mixtures of Metals and Organic Chemicals Determined by Microtox® and by DNA, RNA, and Protein Content of Fathead Minnows (*Pimephales promelas*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50(10), 2245–2253. DOI: 10.1139/f93-250.
- Pourret, O., Bollinger, J. C., & Hursthouse, A. (2021). Heavy Metal: a misused term?. *Acta Geochimica*, Springer, 40, 466–471. DOI: 10.1007/s11631-021-00468-0.
- Qu, R.-J., Wang, X.-H., Feng, M.-B., Li, Y., Liu, H.-X., Wang, L.-S., & Wang, Z.-Y. (2013). The toxicity of cadmium to three aquatic organisms (*Photobacterium phosphoreum*, *Daphnia magna* and *Carassius auratus*) under different pH levels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 95, 83–90. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2013.05.020.
- Ranjan, R., Rastogi, N. K., & Thakur, M. S. (2012). Development of immobilized biophotonic beads consisting of *Photobacterium leiognathi* for the detection of heavy metals and pesticide. *J Hazard Mater*, 225–226, 114–123. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.04.076.
- Slobodian, S. O., Gutyj, B. V., Darmohray, L. M., & Povolnikov, M. G. (2021). Antioxidant status of the organisms of young bulls in the conditions of lead-cadmium load and effect of correcting factors. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(2), 315–320. DOI: 10.15421/022142.
- Wang, X., Qu, R., Wei, Z., Yang, X., & Wang, Z. (2014). Effect of water quality on mercury toxicity to *Photobacterium phosphoreum*: Model development and its application in natural waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104, 231–238. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2014.03.029.
- Yang, J., Hu, S., Liao, A., Weng, Y., Liang, S., & Lin, Y. (2022). Preparation of freeze-dried bioluminescent bacteria and their application in the detection of acute toxicity of bisphenol A and heavy metals. *Food Sci Nutr*, 10(6), 1841–1853. DOI: 10.1002/fsn3.2800.
- Zeb, B., Ping, Z., Mahmood, Q., Lin, Q., Pervez, A., Irshad, M., Bilal, M., Bhatti, Z. A., & Shaheen, S. (2017). Assessment of combined toxicity of heavy metals from industrial wastewaters on *Photobacterium phosphoreum* T3S. *Appl. Water Sci*, 7, 2043–2050. DOI: 10.1007/s13201-016-0385-4.
- Zhang, F., Li, Y., Yang, M., & Li, W. (2012). Content of Heavy Metals in Animal Feeds and Manures from Farms of Different Scales in Northeast China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9(8), 2658–2668. DOI: 10.3390/ijerph9082658.



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/nvlvet10625

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

UDC 636.2.09:616.39

Changes of biochemical indexes of blood of high-performance cows are at subclinical ketosis and its effect on milk productivity

M. O. Karavansky, V. O. Rud, L. O. Tarasenko✉

Odessa State Agrarian University, Odessa, Ukraine

Article info

Received 02.05.2022

Received in revised form

02.06.2022

Accepted 03.06.2022

Odessa State Agrarian University,
Panteleymonivska Str., 13, Odessa,
65012, Ukraine.
Tel.: +38-067-731-56-81
E-mail: tarasenko-
la1965@gmail.com

Karavansky, M. O., Rud, V. O., & Tarasenko, L. O. (2022). Changes of biochemical indexes of blood of high-performance cows are at subclinical ketosis and its effect on milk productivity. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 168–171. doi: 10.32718/nvlvet10625

The article provides data on changes in biochemical indicators of blood serum of high-yielding cows under conditions of subclinical ketosis and its effect on milk's physical and chemical composition. The decrease in glucose and insulin concentrations mediates the main metabolic changes necessary to stabilize blood glucose levels, which include an increase in the rate of gluconeogenesis, a decrease in lipogenesis and an increase in the release of nonesterified fatty acids from fat, an increase in the uptake and metabolism of fatty acids in hepatocyte mitochondria, and excessive formation of ketone bodies. Fatty acids and ketone bodies are used as an alternative source of energy in the heart, kidney, skeletal muscle, and mammary glands to conserve glucose further and restore energy balance. However, cows that do not undergo the necessary metabolic adaptations are susceptible to hyperketonemia. Hypoglycemia, increased activity of enzymes, and increased activity of alanine and aspartate aminotransferases were detected in sick animals by two and three times, respectively, compared to healthy animals. The total bilirubin content in sick cows' blood serum increased three times compared to the indicators of healthy animals. An increase in milk fat (up to 5 %), 1.3 times more than in healthy animals, and a decrease in total protein (up to 3.11 %). The number of somatic cells in the average milk sample of sick animals was 349 thousand/cm³ and 90 thousand/cm³ in healthy ones, which significantly worsens milk quality. The increase in the number of somatic cells in the milk of animals suffering from subclinical ketosis is due to a decrease in both the general resistance of the body and the ability of macrophages to phagocytosis; with ketonemia, a significant amount of histamine is formed, which leads to inflammatory processes of the mammary gland; the ability of leukocytes to migrate to the foci of inflammation decreases, which determines the protracted course of the disease.

Key words: subclinical ketosis, lactogenesis, blood serum, milk, somatic cells.

Зміни біохімічних показників крові високопродуктивних корів за субклінічного кетозу та його вплив на молочну продуктивність

М. О. Караванський, В. О. Рудь, Л. О. Тарасенко✉

Одеський державний аграрний університет, м. Одеса, Україна

У статті наведено данні щодо змін біохімічних показників сироватки крові високопродуктивних корів за умов субклінічного кетозу та його вплив на фізико-хімічний склад молока. Зниження концентрації глюкози та інсуліну опосередковує основні метаболічні зміни, необхідні для стабілізації рівня глюкози в крові, які включають збільшення швидкості глюконеогенезу, зниження ліпогенезу та збільшення вивільнення неестерифікованих жирних кислот з жиру, збільшення поглинання та метаболізму жирних кислот у мітохондріях гепатоцитів та надмірного утворення кетонів тіла. Жирні кислоти і кетонів тіла використовуються як альтернативне джерело енергії в серці, нирках, скелетних м'язах і молочних залозах для подальшого збереження глюкози та відновлення енергетичного балансу, однак корови, які не схильні до необхідних метаболічних адаптацій, сприйнятливі до гіперкетонемії. У хворих тварин виявляли гіпоглікемію, підвищення активності ферментів збільшення активності аланін- та аспартатамінотранс-

нсфераз у два та три рази відповідно проти здорових тварин. Вміст загального білірубину в сироватці крові хворих корів збільшився в 3 рази порівняно з показниками здорових тварин. Збільшення кількості молочного жиру (до 5 %), що на 1,3 раза більше стосовно здорових тварин, та зменшення кількості загального білка (до 3,11 %). Кількість соматичних клітин в середній пробі молока хворих тварин становила 349 тис./см³ та 90 тис./см³ у здорових, що суттєво погіршує показники якості молока. Збільшення кількості соматичних клітин в молоці хворих тварин на субклінічний кетоз обумовлена: зниженням як загальної резистентності організму так і здатністю макрофагів до фагоцитозу; при кетонемії утворюється значна кількість гістаміну, що призводить до запальних процесів молочної залози; знижується спроможність лейкоцитів мігрувати до вогнищ запалення, що обумовлює затяжний перебіг хвороби.

Ключові слова: субклінічний кетоз, лактогенез, сироватка крові, молоко, соматичні клітини.

Вступ

В сучасних умовах інтенсивного тваринництва лактуючі корови, які генетично запрограмовані на високий рівень молочної продуктивності, зазнають метаболічного стресу в післяпологовому періоді (Nadtochii et al., 2012; Bali et al., 2016; Hryshchuk et al., 2021; Mylostyvyi et al., 2021). Оскільки потреба корови в поживних речовинах значно зростає після отелення для підтримки лактогенезу, вона повинна змінити енергетичний обмін в печінці та периферичних тканинах (Bremmer, 2012; Melnytchuk & Gryshchenko, 2015).

Розвиток молочної галузі та підвищення продуктивності корів залежить від організації і збалансованості годівлі, гігієнічних норм утримання корів, якості вирощеного молодняка. Однак нерідко технологічні процеси, які застосовуються у молочному скотарстві негативно впливають на фізіологічні аспекти організму корів, що призводить до зниження стійкості корів до несприятливих умов зовнішнього середовища і виникнення різних патологічних станів, які пов'язані з порушенням обміну речовин (Oetzel, 2007; Anderson et al., 2021).

Серед захворювань у високопродуктивних корів – кетоз (Cocco et al., 2021; Mohammed et al., 2022). За цього захворювання порушується вуглеводно-ліпідний і протеїновий обмін і нагромаджується велика кількість кетонових тіл, що спричинює ураження нервової, ендокринної, серцево-судинної, гепатобілярної, ренальної систем організму (Deniz, 2011; Kroezen et al., 2018).

Поширеність випадків субклінічного кетозу в Європі на фермах з високою молочною продуктивністю корів становить близько 9–34 %, хоча деякі дослідження вказують на те, що близько 50 % корів під час ранньої лактації переживають субклінічний кетоз. Дослідження, проведені на молочних фермах України, свідчать про те, що 36 % тварин мають підвищений рівень кетонових тіл під час 1–2 тижня після отелення.

Субклінічний кетоз починається тоді, коли рівень бета-гідроксибутирату у сироватці крові становить 1,2 ммоль/л. Рівень кетонових тіл, при якому спостерігаються клінічні симптоми, може коливатися, але зазвичай становить 3,0 ммоль/л і більше. Часто корови з високим рівнем бета-гідроксибутирату не проявляють клінічних симптомів, пов'язаних зі зміною апетиту або поведінки (Žilaitis et al., 2007; Song et al., 2021).

Істотними факторами, які сприяють розвитку кетозу, є ожиріння та гіподинамія. Внаслідок субклінічно-

го кетозу знижується молочна продуктивність у корів та значно погіршується якість молока, що своєю чергою знижує прибутковість господарства (Boghian, 2018; Gryshchenko, 2019).

Метою досліджень було виявити зміни біохімічних показників крові та фізико-хімічних змін в молоці за умов субклінічного кетозу. Дослідити вплив даного захворювання на рівень соматичних клітин та на молочно залозу в цілому.

Матеріал і методи досліджень

Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Official Journal of the European Union L276/33, 2010).

Для виконання дослідів було відібрано та перевірено на біохімічних аналізаторах “Evolution 3000, Stat-fax 1904@Plus” двадцять п'ять проб сироватки крові новотільних корів (5–60 днів після отелення) 2–5 лактацій, голштинської породи, в яких було виявлено підвищений рівень кетонових тіл з допомогою експрес тестів “Keto sens” з робочим діапазоном (0,1–8,0 mmol/L) та двадцять п'ять проб сироватки крові від здорових тварин. Фізико-хімічні дослідження молока були проведені на аналізаторі “MILKOTESTER Master PRO TOUCH” в умовах багатопрофільної лабораторії Одеського державного аграрного університету. Підрахунок кількості соматичних клітин проводили на аналізаторі молока віскозиметричному “Соматос-В” у кількості п'ятдесят проб.

Результати та їх обговорення

Прояв клінічних ознак захворювання у корів, хворих на субклінічний кетоз, мав непостійний характер. В окремих випадках виявляли такі симптоми, як пригнічення загального стану, залежування, зменшення кількості жувальних рухів. Основним методом виявлення кетозу у новотільних корів був відбір крові на 5–60 день лактації та визначення вмісту кетонових тіл в крові з подальшим дослідженням їх сироватки крові та молока.

Проведені дослідження показали, що у тварин, хворих на субклінічний кетоз, підвищується активність трансаміназ. На рисунку 1 висвітлені показники збільшення активності аланін- та аспаратамінотрансфераз у два та три рази відповідно проти здорових тварин.

Дослідженнями встановлено, що вміст загального білірубину в сироватці крові хворих корів збільшився

в 3 рази порівняно з показниками здорових тварин, що підтверджує деструктивні зміни в печінці та інших внутрішніх органах хворих тварин. Зниження рівня глюкози у 1,4 раза в організмі хворих тварин свідчить про від'ємний енергетичний баланс, використання власних запасів організму та порушення обміну біл-

ків, про що сигналізує підвищення рівня сечовини в сироватці крові. Одержані результати свідчать про зменшення вмісту сечовини в сироватці крові корів за субклінічного кетозу в 1,77 раза. Показники вмісту жиру та білку в молоці корів наведено на [рис. 3](#).

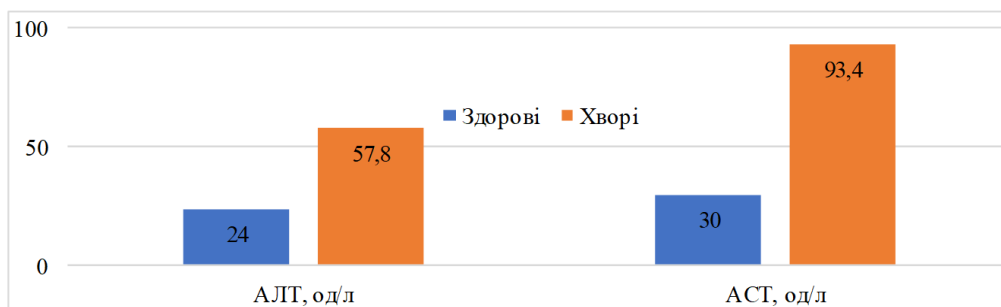


Рис. 1. Активність амінотрансфераз у сироватці крові корів

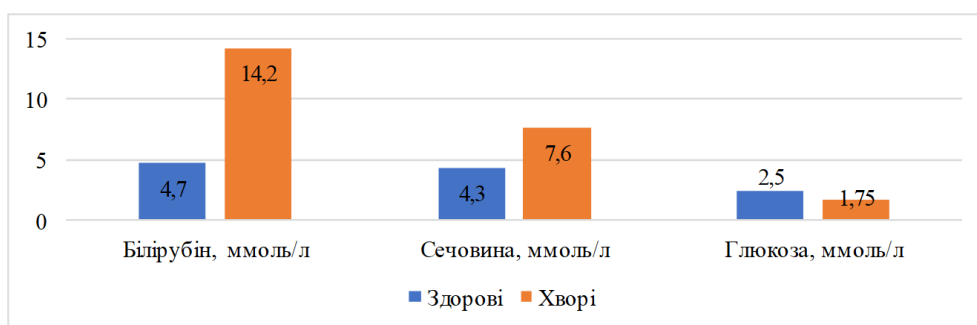


Рис. 2. Вміст загального білірубіну, сечовини та глюкози в сироватці крові корів

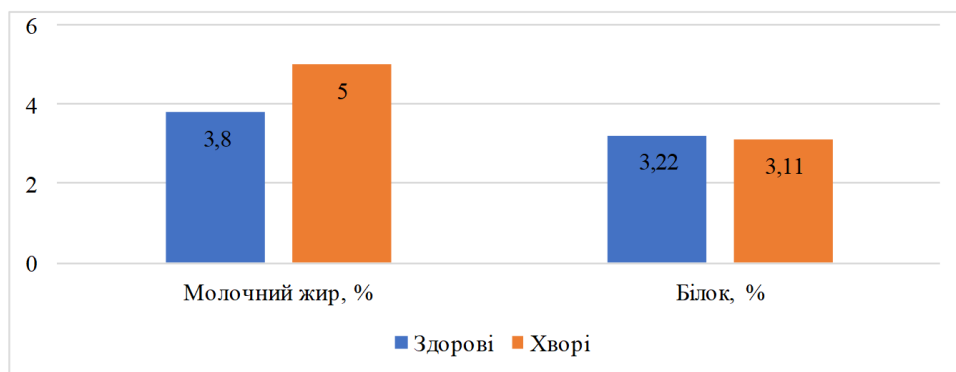


Рис. 3. Вміст жиру та білку в молоці корів

Результати, наведені на [рисунку 3](#), показали зміну фізико-хімічного складу молока при субклінічному кетозі, а саме збільшення кількості молочного жиру (до 5 %), що на 1,3 раза більше стосовно здорових тварин, та зменшення кількості загального білка (до 3,11 %), що підтверджує порушення метаболічних процесів в організмі та може послугувати додатковим критерієм для виявлення даного захворювання серед новотільних корів.

Поруч зі змінами фізико-хімічного складу молока також спостерігався підвищений рівень соматичних клітин в молоці у корів, хворих на кетоз. Кількість соматичних клітин в середній пробі молока хворих тварин становила 349 тис./см³ та 90 тис./см³ у здорових, що суттєво погіршує показники якості молока.

Отже, збільшення кількості соматичних клітин в молоці тварин, хворих на субклінічний кетоз, обумовлене як зниженням загальної резистентності організму, так і здатністю макрофагів до фагоцитозу; при кетонемії утворюється значна кількість гістаміну, що призводить до запальних процесів молочної залози; знижується спроможність лейкоцитів мігрувати до вогнищ запалення, що обумовлює затяжний перебіг хвороби.

Висновки

1. Вставлено, що за субклінічного кетозу відбувається збільшення активності ферментів (АЛТ, АСТ) у сироватці крові хворих корів у 2 та 3 рази відповідно

та збільшення кількості білірубіну в 3 рази, що свідчить про пошкодження клітин печінки.

2. Доведено зменшення вмісту глюкози в організмі тварин за субклінічного кетозу в 1,4 рази, що свідчить про обмаль енергії, хоча частина енергії й надходить із резервів організму.

3. Встановлено зменшення вмісту сечовини в сироватці крові корів за субклінічного кетозу в 1,77 рази, що свідчить про порушення засвоєння білків в організмі та виведення їх нирками.

4. Дослідженнями встановлено, що субклінічний кетоз сприяє зниженню молочної продуктивності, збільшенню тривалості перебігу та ступеня важкості маститу, підвищеною ймовірністю ендометриту на четвертий тиждень післяпологового періоду.

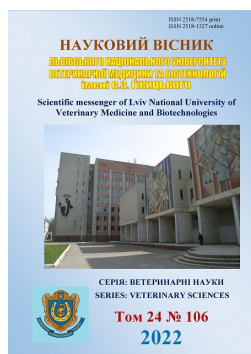
Окрім вищезазначених проблем, які викликає кетоз, в господарстві зростає також відсоток вибракувань тварин: через низьку молочну продуктивність, хвороби, асоційовані з кетозом, а згодом і через проблеми з відтворною функцією.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Anderson, J. C., Mattar, S. G., Greenway, F. L., & Lindquist, R. J. (2021). Measuring ketone bodies for the monitoring of pathologic and therapeutic ketosis. *Obesity science & practice*, 7(5), 646–656. DOI: 10.1002/osp4.516.
- Bali, G., Hussain, K., Razzaque, W. A., Sharma, U., & Beigh, S. A. (2016). Clinico-biochemical studies of ketosis in buffalo (*bubalus bubalis*). *Buffalo Bulletin*, 35, 27–32. URL: <https://www.semanticscholar.org/paper/Clinico-biochemical-studies-of-ketosis-in-buffalo-Bali-Hussain/0df3fb43f4f14f63866c426ffddde26b84eda35c>.
- Boghian, V. (2018). Ethio-pathogenetic mechanisms involved in ketosis of dairy cows. *Rev Rom Med Vet*, 28(4), 46–50. URL: https://agmv.ro/wp-content/uploads/2019/10/Vol.28No4_46_50_Ethio-pathogenetic-mechanisms.pdf.
- Bremmer, D. (2012). Monitoring subclinical ketosis in transition dairy cows. Vita Plus Corp., Madison, WI. URL: <https://www.heberex.nl/docs/product/attachments/Bremmer;%20Monitoring%20Subclinical%20Ketosis%20in%20Transition%20Dairy%20Cows%20Paper%20Heberex.pdf>.
- Cocco, R., Canozzi, A. M. E., & Fischer, V. (2021). Rumination time as an early predictor of metritis and subclinical ketosis in dairy cows at the beginning of lactation: Systematic review-meta-analysis. *Preventive Veterinary Medicine*, 189, 105309. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2021.105309.
- Deniz, A. (2011). Subclinical ketosis in dairy cattle – the silent profit robber. *International Dairy Topics*, 10(6), 7–9. URL: <http://www.positiveaction.info/pdfs/articles/dt10.6p7.pdf>.
- Gryshchenko, V. A. (2019). Blood and acid composition of blood and biles in calves at enteropatology and application of milk phospholipides. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 10(4), 36–42. DOI: 10.31548/ujvs2019.04.005 (in Ukrainian).
- Hryshchuk, I. A., Karpovsky, V. I., Danchuk, V. V., Postoy, R. V., Gutyj, B. V., Kubiak, K., Midyk, S. V., & Trokoz, V. A. (2021). Blood fatty acid composition in cows depending on the type of autonomic regulation in summer period. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 12(4). URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Veterenarna/article/view/15658>.
- Kroezen, V., Schenkel, F. S., Miglior, F., Baes, C. F., & Squires, E. J. (2018). Candidate gene association analyses for ketosis resistance in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 101(6), 5240–5249. DOI: 10.3168/jds.2017-13374.
- Melnitshuk, D. O., & Gryshchenko, V. A. (2015). The role of acid-base status and the milk phospholipids in formation of colostral immunity of newborn calves. Kiev: CP Komprint (in Ukrainian).
- Mohammed, N., Mohammed, N., Jaiswal, M., Jaiswal, M., & Kumar Bihani, D. (2022). Prevalence of subclinical and clinical ketosis in cattle in and around Bikaner. *Biological rhythm research*, 53, 501–509. DOI: 10.1080/09291016.2019.1629167.
- Mylostyvyi, R., Lesnovskay, O., Karlova, L., Khmeleva, O., Kalinichenko, O., Orishchuk, O., Tsap, S., Begma, N., Cherniy, N., Gutyj, B., & Izhboldina, O. (2021). Brown Swiss cows are more heat resistant than Holstein cows under hot summer conditions of the continental climate of Ukraine. *J Anim Behav Biometeorol*, 9(4), 2134. DOI: 10.31893/jabb.21034.
- 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.
- Nadtochii, V. M., Nadtochii, V. P., & Osipenko, O. P. (2012). Fyzyko-khimichni pokaznyky moloka koriv, khvorykh na subklinichnu formu mastytu. *Tekhnolohiia vyrobnytstva i pererobky produktiv tvarynnytstva: zbirnyk naukovykh prats*, 7(90), 131–134. URL: <http://193.138.93.8/handle/BNAU/402> (in Ukrainian).
- Oetzel, G. R. (2007). Herd-Level Ketosis – Daignosis and Risk Factors. *Proc. of Preconference seminar 7C: Dairy Herd Problem Investigation Strategies. Transition Cow Troubleshooting*, 67–91. URL: <https://pdfslide.net/documents/herd-level-ketosis-diagnosis-and-risk-factors.html?page=1>.
- Song, Y., Loo, J. J., Li, C., Liang, Y., Li, N., Shu, X., Yang, Y., Feng, X., Du, X., Wang, Z., Liu, G., & Li, X. (2021). Enhanced mitochondrial dysfunction and oxidative stress in the mammary gland of cows with clinical ketosis. *Journal of Dairy Science*, 104(6), 6909–6918. DOI: 10.3168/jds.2020-19964.
- Žilaitis, V., Kučinskienė, J., Vorobjovas, G., Japertas, S., & Žiogas, V. (2007). Prevalence and treatment of subclinical ketosis in highly producing dairy cows in Lithuania. *Veterinarija ir zootechnika*, 37(59). URL: <https://vetzoo.lsmuni.lt/data/vols/2007/37/en/zilaitis.pdf>.



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/nvlvet10626

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

UDC 639.371.52.04:597-12:576.85

Antioxidant status of fish with inflammation of the swim bladder in yearling carp

O. Frishtak¹, M. Koryliak², O. Dobrianska^{2✉}

¹Institute of Fisheries NAAS, Kyiv, Ukraine

²Transcarpathian Research Station of the IRG of the National Academy of Sciences, Mukacheve, Ukraine

Article info

Received 04.05.2022

Received in revised form

06.06.2022

Accepted 07.06.2022

Institute of Fisheries NAAS,
Obukhivska Str., 135, Kyiv,
03164, Ukraine.
Tel.: +38-067-906-75-35
E-mail: Frishtakolena@gmail.com

Transcarpathian Research
Station of the IRG of the
National Academy of Sciences,
Uzhhorodska Str., 165/2,
Mukacheve, 89600, Ukraine.
Tel.: +38-067-953-21-96
E-mail: olya_dobrianska@ukr.net

Frishtak, O., Koryliak, M., & Dobrianska, O. (2022). Antioxidant status of fish with inflammation of the swim bladder in yearling carp. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 172–176. doi: 10.32718/nvlvet10626

The literature data on the etiology and pathogenesis of swim bladder inflammation (SBI) in various fish species have been highlighted in the paper. The main goal of this work was to analyze the impact of the disease on the physiological status of the body of the yearling carp, the state of the antioxidant defense system, and the content of lipid peroxidation products (LPP). The yearling Liubyn scaly carps, with an average weight of 40 g, which were grown in the ponds of the Rivne fish and reclamation station, were selected for experimental research. During control catches and ichthyopathological examination of forty fish, inflammation of the swim bladder was detected with an intensity of 35 %. During the pathological autopsy of this yearling carp, thickening of the walls of the swim bladder with purulent exudate, atrophy of the posterior lobe, and hyperemia of internal organs was found. Data on the content of lipid peroxidation products (LPP) and the state of the antioxidant system (AOS) in the cells of the hepatopancreas and skeletal muscles of this year's carp with SPM have been presented. It was determined that in the hepatopancreas of fish with the swim bladder inflammation, primary and secondary LPP products accumulate, and the activity of AOS enzymes decreases. The increase of diene conjugates in the hepatopancreas of the diseased fish was revealed by 11.8 % compared to the control group, and the content of TBC-active products by 29.8 %. The level of SOD activity is 13.5 % lower in the fish affected by SMP than in the control group. Catalase activity in the hepatopancreas of the diseased fish increases by 11.7 % compared to the control group. There was a 45.5 % decrease in superoxide dismutase activity in the skeletal muscles of fish affected by SBI and a significant increase in the level of catalase ($P < 0.01$) compared to the control group. Pathogens that cause diseases of the swim bladder cause also have an inhibitory effect on the activity of enzymes of the antioxidant system, and the content of products of lipid peroxidation increases.

Key words: carp, swim bladder inflammation (SBA), hepatopancreas, skeletal muscles, antioxidants, lipid peroxidation products.

Антиоксидантний статус риб при запаленні плавального міхура у цьоголіток коропа

О. М. Фріштак¹, М. З. Кориляк², О. П. Добрянська^{2✉}

¹Інститут рибного господарства НААН, м. Київ, Україна

²Закарпатська науково-дослідна станція ІРГ НААН, м. Мукачеве, Україна

В роботі висвітлені літературні дані щодо етіології та патогенезу запалення плавального міхура (ЗПМ) у різних видів риб. Основною метою даної роботи було проведення аналізу впливу захворювання на фізіологічний статус організму цьоголіток коропа, стан системи антиоксидантного захисту та вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Для експериментальних досліджень відібрано цьоголітки любінського лускатого коропа, середньою масою 40 г, які вирощувалися у ставках Рівненської рибоводно-меліоративної станції. При контрольних ловах та іхтіопатологічному дослідженні сорока риб виявлено запалення

плавального міхура з інтенсивністю ураження 35 %. Проводячи патологоанатомічний розтин цьогоріток, виявили потовщення стінок плавального міхура з гнійним ексудатом, атрофію задньої долі та гіперемію внутрішніх органів. Наведено результати дослідження вмісту продуктів ПОЛ і стану антиоксидантної системи (АОС) в клітинах гепатопанкреасу та скелетних м'язів цьогоріток коропа при ЗПМ. Виявлено, що у гепатопанкреасі риб на тлі запалення плавального міхура нагромаджуються первинні та вторинні продукти ПОЛ та зниження активності ензимів АОС. Зафіксовано збільшення дієнових кон'югатів у гепатопанкреасі хворих риб на 11,8% щодо контрольної групи та вмісту ТБК-активних продуктів на 29,8 %. Рівень активності СОД нижчий на 13,5 % у риб, уражених ЗПМ, ніж у контрольній групі. Активність каталази в гепатопанкреасі хворих риб зростає на 11,7 % порівняно з контролем. Виявлено зниження на 45,5 % супероксиддисмутазної активності в скелетних м'язах риб, уражених ЗПМ, та достовірне збільшення рівня каталази ($P < 0,05$) щодо контрольної групи. Збудники, які викликають захворювання плавального міхура, спричиняють інгібуючий вплив на активність ензимів антиоксидантної системи, при цьому вміст продуктів перексидного окиснення ліпідів підвищується.

Ключові слова: короп, запалення плавального міхура, гепатопанкреас, скелетні м'язи, антиоксиданти, продукти перексидного окиснення ліпідів.

Вступ

Запалення плавального міхура — це хвороба коропів, яка характеризується гнійно-некротичним запаленням його стінок та ураженням внутрішніх органів, а також загибеллю молодняку риби (Vovk & Bozhyk, 2014). У середині 80-х рр. хвороба набула значного поширення в рибних господарствах Німеччини та інших країнах Західної Європи (Karysheva, 2002). Відомі різні точки зору на природу захворювання. Одні дослідники допускали, що його збудником є бактерії, в тому числі *Aeromonas punctate* (Davidov & Temnihanov, 2004), а інші вважали, що захворювання викликає вірус, зарахований до РНК-геномних рабдовірусів, має кулясту форму, розмір 90–140 нм, який вперше був виділений і вивчений (Kocyłowski et al., 1970; Bachmann & Ahne, 1973). У цих роках етіологію приписували багатоклітинним проліферативним стадіям міксозойного паразита *Sphaerospora dykovaе*. Було встановлено, що *S. dykovaе* проліферує в крові та плавальному міхурі до вторгнення в нирку, де відбувається спорогонія (Eszterbauer et al., 2013). Через наявність нових проліферативних міксозойних стадій у крові в різних місцях культивування коропа за останні роки вперше проаналізували випадки ЗПМ, використовуючи молекулярну діагностику, щоб ідентифікувати міксозойних паразитів, присутніх у хворих риб (Holzer et al., 2014). Доведено, що етіологія ЗПМ може змінюватися залежно від місця культивування та важкості захворювання і щодо кількості *S. molnari* в крові, що є важливим супутнім фактором або передумовою для виникнення захворювання (Holzer et al., 2014).

Очевидно, що причиною поширення даної хвороби в європейських країнах було недотримання ветеринарно-санітарних заходів при перевезенні плідників і посадкового матеріалу в межах ставових господарств (Sekretariuk et al., 2002), а також зниження захисних функцій організму (Mikheev et al., 2014).

Діагностичне значення при ЗПМ мають гематологічні показники: зменшення вдвічі порівняно з нормою гемоглобіну та еритроцитів (Schulz-Mirbach et al., 2012), зниження в 1,5 раза загального білка крові, підвищення ШОЕ та зміни в кількісному складі формених елементів крові (Jara & Chodynecski, 1999).

При гострому запаленні плавального міхура виявлено збільшення числа нейтрофілів і базофілів та зменшення лімфоцитів (Rohlenová et al., 2011). При цьому ядро і цитоплазма моноцитів вакуолізовані, а в

нейтрофілах спостерігається підвищена сегментація ядра (Chang et al., 2016).

Проте з літературних джерел не відомо про стан АОС при запаленні плавального міхура, хоч саме вона захищає організм від деструктивної дії активних форм кисню, які утворюються в процесі аеробного метаболізму в мітохондріях клітин. Найбільша кількість активних форм кисню утворюється в біологічних системах з високою інтенсивністю метаболізму (Nilsson & Renshaw, 2004; Oleksiuk, 2011). Перексидне окиснення ліпідів є процесом біологічного окиснення перексидного типу, який протікає в клітині паралельно з вільним окисненням, спряженим з фосфорилуванням. За нормальних фізіологічних умов перексидне окиснення ліпідів в організмі перебуває на певному стаціонарному рівні, що зумовлено наявністю системи антиоксидантного захисту, яка знешкоджує продукти ПОЛ (Martyshuk et al., 2021; Vyslotska et al., 2021).

Визначення активності ензимів АОС в організмі риб є маркером оцінки оксидативного стресу, що спричинений факторами ендогенного походження (Zhang et al., 2004). У коропа виявлена висока активність всіх антиоксидантних ензимів, яка залежить від сезону, факторів годівлі, дії важких металів і мікроелементів. Наявні в літературі дані свідчать, що у риб, як і в теплокровних тварин, розвиток багатьох захворювань супроводжується посиленням ПОЛ (Nilsson et al., 2004; Lavryshyn et al., 2016).

Тому вивчення антиоксидантної системи риб при запаленні плавального міхура є актуальним та обґрунтованим.

Метою роботи було дослідження рівня процесів ПОЛ та активності ензимів АОС в гепатопанкреасі та скелетних м'язах риб, уражених запаленням плавального міхура.

Матеріал і методи досліджень

Для біохімічних досліджень використовували 10 % гомогенати тканин гепатопанкреасу та скелетних м'язів коропа. Концентрацію дієнових кон'югатів досліджували за методом, що ґрунтується на реакції оптичної густини гептанізопропанольного екстракту ліпідів (Stal'naya, 1977). Визначення концентрації ТБК-активних продуктів проводили спектрофотометрично за кольоровою реакцією між тіобарбітуровою кислотою та малоновим діальдегідом, яка протікає при високій температурі

при $\text{pH} > 6$ з утворенням триметилового комплексу (Korobeynikova, 1989).

Активність СОД визначали за методом, що ґрунтується на реакції відновлення нітротетразолію синього супероксидними радикалами, що утворюються в результаті взаємодії феназинметасульфату з відновленою формою нікотинаміддинуклеотиду (Dubinina et al., 1983). Визначення активності каталази здійснювали, використовуючи метод, в основі якого лежить реакція перексиду водню з солями амоній молибдату з утворенням кольорової комплексної сполуки (Korolyuk et al., 1988). Визначення вмісту білка проводили за методом Бредфорд (Bradford, 1976).

Одержані результати обробляли статистично з використанням t-критерію Стюдента за програмою Excel. Результати середніх значень вважали статистично вірогідними при $P < 0,05$ – *, $P < 0,01$ – **.

Результати та їх обговорення

У другій декаді червня у вирощувальних ставах Рівненської РМС у цьоголіток коропа зареєстровано запалення плавального міхура. При патологоанатомічному розтині риб виявлено гіперемію внутрішніх органів, потовщення та гнійне запалення стінок плавального міхура та атрофію заднього відділу (рис. 1).

Передній відділ плавального міхура злегка наповнений повітрям і містить рідину жовтуватого кольору. Нирки збільшені в розмірі, гіперемійовані, мають темно-червоний колір і пронизані крововиливами. Гепатопанкреас блідо-рожевого кольору з ознаками жирового переродження.

Для біохімічних досліджень відібрано скелетні м'язи та гепатопанкреас коропа хворих і здорових риб.

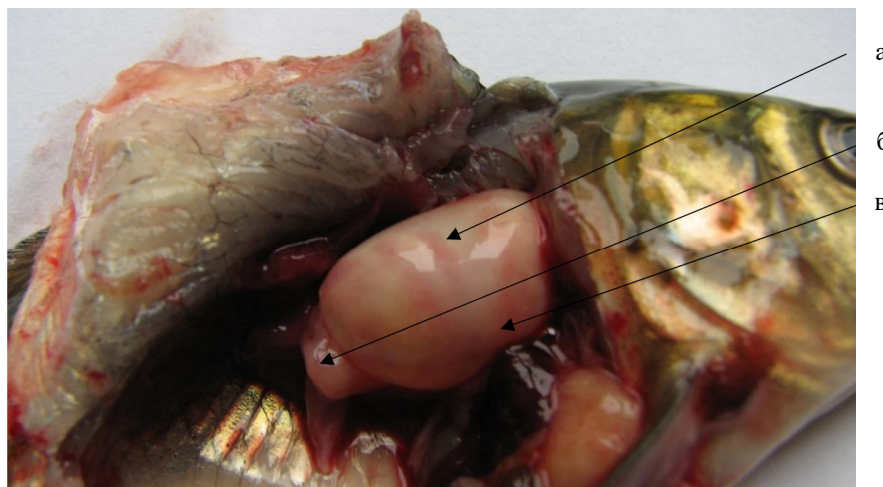


Рис. 1. Плавальний міхур цьоголітки коропа, уражений запаленням: а – потовщення стінки плавального міхура з гнійно-серозним ексудатом; б – атрофія задньої діли плавального міхура; в – масові крововиливи

Відомо, що активності ензимів СОД та каталази є одними з основних показників, які характеризують стан антиоксидантної системи.

Узагальнюючи вищенаведені результати проведеного експерименту можна стверджувати, що мембрано-патологічний процес в гепатопанкреасі риб на тлі запалення плавального міхура, призводить до нагромадження первинних і вторинних продуктів ПОЛ та зниження активності ензимів АОС.

Досліджуючи вміст дієнових кон'югатів у гепатопанкреасі хворих риб виявлено їх збільшення на 11,8 % щодо контрольної групи. А також зафіксовано значне підвищення вмісту ТБК-активних продуктів, порівняно з контрольною групою коропів, на 29,8 % (рис. 2).

Роль антиоксидантної системи полягає у регуляції інтенсивності утворення активних форм кисню та знешкодженні продуктів ПОЛ (Storey, 1996; Martinez-Alvarez et al., 2005). Однак ця рівновага може порушуватись за дії різних несприятливих чинників, зокрема хвороб риб (Chen et al., 2017). Аналіз одержаних результатів свідчить, що рівень активності СОД у гепатопанкреасі хворих риб значно нижчий, ніж у контрольній групі, а саме: на 13,5 %. На відміну від СОД, активність каталази зростає на 11,7 % порівняно з контролем (рис. 3).

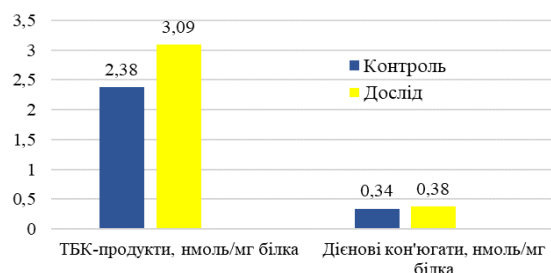


Рис. 2. Вміст продуктів ПОЛ у гепатопанкреасі цьоголіток коропа при запаленні плавального міхура ($M \pm m$, $n = 5$)

Отже, збудники, які викликають захворювання плавального міхура, спричиняють інгібуючий вплив на активність ензимів антиоксидантної системи.

Проведені дослідження вмісту продуктів ПОЛ у скелетних м'язах коропа (рис. 4) показали, що між дослідною і контрольною групами суттєвих змін не спостерігається.

При дослідженні динаміки зміни активності ензимів АОС в скелетних м'язах хворих риб виявлено зниження супероксиддисмутази на 45,5 % та достовірне збільшення рівня каталази ($P < 0,01$) щодо контрольної групи (рис. 5).

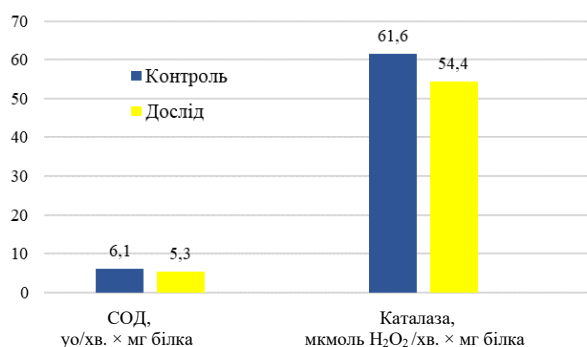


Рис. 3. Активність антиоксидантних ензимів у гепатопанкреасі цюліток коропа при запаленні плавального міхура ($M \pm m$, $n = 5$)

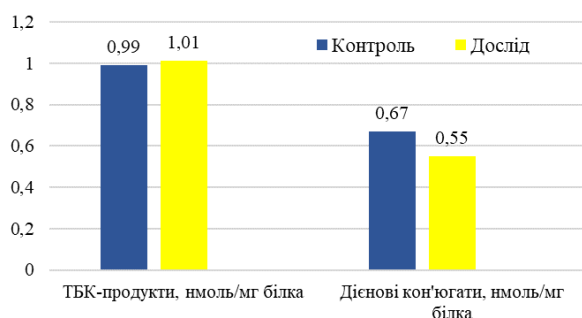


Рис. 4. Вміст продуктів ПОЛ у скелетних м'язах цюліток коропа при запаленні плавального міхура ($M \pm m$, $n = 5$)

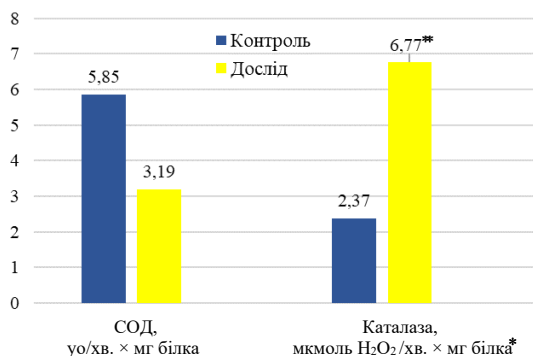


Рис. 5. Активність антиоксидантних ензимів у скелетних м'язах цюліток коропа при запаленні плавального міхура ($M \pm m$, $n = 5$)

Примітка. Вірогідні різниці порівняно з контрольною групою: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$

При ефективній роботі системи антиоксидантного захисту повинна зберігатись певна пропорційність між активністю СОД і каталази, оскільки вони беруть участь у регуляції двох послідовних етапів того самого ланцюга перетворень, то така суперечність одержаних результатів може свідчити про порушення координованості роботи АОС, що сприяє підвищенню можливості розвитку окисного стресу (Lavryshyn et al., 2016; Varkholiak et al., 2021).

Висновки

Запалення плавального міхура є складним захворюванням молоді коропа.

Виявлено збільшення дієнових кон'югатів у гепатопанкреасі хворих риб на 11,8 % щодо контрольної групи, збільшення вмісту ТБК-активних продуктів на 29,8 %, а також зниження активності СОД на 13,5 % проти контрольної групи. Активність каталази в гепатопанкреасі хворих риб зростає на 11,7 % порівняно з контролем.

У скелетних м'язах риб, уражених запаленням плавального міхура, виявлено зниження супероксиддисмутазної активності вдвічі та достовірне збільшення рівня каталази ($P < 0,01$) щодо контрольної групи. Дана тенденція є передумовою виникнення порушень у роботі системи антиоксидантного захисту організму.

Мембрано-патологічний процес в гепатопанкреасі риб на тлі запалення плавального міхура призводить до нагромадження первинних і вторинних продуктів ПОЛ та зниження активності ензимів АОС.

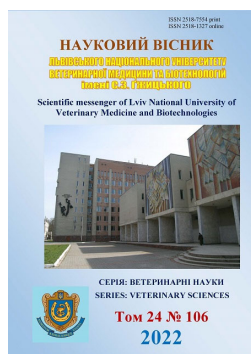
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Bachmann, P. A., & Ahne, W. (1973). Isolation and Characterization of Agent causing Swim Bladder Inflammation in Carp. *Nature*, 244, 235–237. DOI: 10.1038/244235a0.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72(1-2), 248–254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- Chang, H. K., Chen, Y.-A., Tsai, Y.-L., Wu, Y.-C., Shien, J.-H., Chang, W.-F., Hsuan, S.-L., & Lin C.-C. (2016). Outbreak of swim bladder inflammation caused by *Sphaerospora dykovi* in Koi (*Cyprinus carpio koi*) in Taiwan. *Pak. Vet. J.*, 36, 499–502. URL: http://www.pvj.com.pk/abstract/36_4/16-152.htm.
- Chen, Y., Li, M., Yuan, L., Xie, Y., Li, B., Xu, W., Meng, F., & Wang, R. (2017). Growth, blood health, antioxidant status and immune response in juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* exposed to α -ethinylestradiol (EE2). *Fish Shellfish Immunol*, 69, 1–5. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.08.003.
- Davidov, O. N., & Temnihanov, Yu. D. (2004). Bolezni presnovodnykh ryb, K., TOV "Vetinform" (in Russian).
- Dubinina, E. E., Sal'nikova, L. A., & Efimova, L. F. (1983). Aktivnost' i izofermentnyy spektr superoksiddismutazy eritrotsitov i plazmy krovi cheloveka [Activity and isoenzyme spectrum of erythrocyte superoxide dismutase and human blood plasma]. *Lab. Delo*, 10, 30–33 (in Russian).
- Eszterbauer, E., Sipos, D., Forró B., Bartošová, P., & Holzer, A. S. (2013). Molecular characterization of *Sphaerospora molnari* (Myxozoa), the agent of gill sphaerosporosis in common carp *Cyprinus carpio*. *Dis Aquat Organ*, 104, 59–67. DOI: 10.3354/dao02584.
- Holzer, A. S., Hartigan, A., Patra, S., Pecková, H., & Eszterbauer, E. (2014). Molecular fingerprinting of the myxozoan community in common carp suffering Swim Bladder Inflammation (SBI) identifies multiple

- etiological agents. *Parasites Vectors*, 7, 398. DOI: 10.1186/1756-3305-7-398.
- Jara, Z., & Chodynietcki, A. (1999). *Ichtiopatologia*. Wrocław., Wydaw. Akademii Rolniczej (in Poland).
- Karysheva, A. F. (2002). *Spetsialna epizootolohiia*. Kyiv, Vyscha osvita (in Ukrainian).
- Kocylowski, B., Antychowicz, J., & Zelazny, J. (1970). Studies on the etiology and pathogenesis of carp swimbladder inflammation. *Riv. It. Piscic. Ittiopat.*, 5, 59.
- Korobeynikova, E. N. (1989). Modifikatsiya opredeleniya produktov perekisnogo okisleniya lipidov v reaktsii s tiobarbiturovoy kislotoy [Modification of the determination of lipid peroxidation products in the reaction with thiobarbituric acid]. *Lab. Delo*, 7, 8–9 (in Russian).
- Korolyuk, M. A., Ivanova, L. I., & Mayorova, I. G. (1988). Metod opredeleniya aktivnosti katalazy. *Laboratornoe delo*. [Method for determining catalase activity]. *Laboratornoe delo*, 1, 16–19 (in Russian).
- Lavryshyn, Y. Y., Varkholyak, I. S., Martyschuk, T. V., Guta Z. A. & Ivankiv L. B. (2016). Biologichne znachennia systemy antyoksydantnoho zakhystu orhanizmu tvaryn. *Naukovyi visnyk LNUVMBT imeni S. Z. Gzhytskoho*, 18(2(66), 100–111. DOI: 10.15421/nvlvet6622.
- Martinez-Alvarez, R. M., Morales, A. E., & Sanz A. (2005). Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 15(1), 75–88. DOI: 10.1007/s11160-005-7846-4.
- Martyschuk, 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.
- Mikheev, V. N., Pasternak, A. F., & Valtonen, E. (2014). Increased ventilation by fish leads to a higher risk of parasitism. *Parasit Vectors*, 7, 281. DOI: 10.1186/s13071-015-1005-0.
- Nilsson, G. E., & Renshaw, G. M. C. (2004). Hypoxic survival strategies in two fishes : extreme anoxia tolerance in the North European crucian carp and natural hypoxic preconditioning in a coral-reef shark. *The J. of Exp. Biol.*, 207, 3131–3139. DOI: 10.1242/jeb.00979.
- Oleksiuk, N. P. (2011). Sezonni zminy peroksydnykh protsesiv i aktivnosti antyoksydantnoi systemy u ziabrah prysnovodnykh ryb. *Biologhiia tvaryn*, 13(1-2), 140–147 (in Ukrainian).
- Rohlenová, K., Morand, S., Hyršl, P., Tolárová, S., Flajšhans, M., & Šimková, A. (2011). Are fish immune systems really affected by parasites? An immunoeological study of common carp (*Cyprinus carpio*). *Parasit Vectors*, 4, 120. DOI: 10.1186/1756-3305-4-120.
- Schulz-Mirbach, T., Metscher, B., & Ladich, F. (2012). Relationship between Swim Bladder Morphology and Hearing Abilities. A Case Study on Asian and African Cichlids. *PloS ONE*, 7(8), e42292. DOI: 10.1371/journal.pone.0042292.
- Sekretariuk, K. V., Danko, M. M., & Stybel, V. V. (2002). *Veterynarna sanitariia i hihiiena v rybnytstvi*. M., Unyversum Pablyshynh (in Ukrainian).
- Stal'naya, I. D. (1977). Metod opredeleniya dienovoy kon'yugatsii nenasyshchenykh vysshikh zhirnykh kislot [Method for determination of diene conjugation of unsaturated higher fatty acids]. *Sovremennye metody v biokhimii* [Modern methods in biochemistry]. *M. Meditsina*, 63–64 (in Russian).
- Storey, K. B. (1996). Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Bras. J. Med. Biol. Res.*, 29(12), 1715–1733. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9222437>.
- Varkholiak, I. S., Gutyj, B. V., Leskiv, Kh. Ya., Kushnir, V. I., Hariv, I. I., Martyschuk, 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.
- Vovk, N. I. & Bozhyk, V. Y. (2014). *Ikhtiopatolohiia*. Pidruchnyk. Kyiv, Ahroosvita (in Ukrainian).
- Vyslotska, L. V., Gutyj, B. V., Kozenko, O. V., Khalak, V. I., Chornyj, M. V. Martyschuk, T. V., Krempa, N. Yu., Vozna, O. Ye., & Todoriuk, V. B. (2021). System of antioxidant protection of the body of piglets under the action of feed additive “Sylimevit”. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 23(104), 10–17. DOI: 10.32718/nvlvet10402.
- Zhang, J., Shen, H., Wang, X., Wu, J., & Xue, Y. (2004). Effects of chronic exposure of 2,4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, 55(2), 167–174. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2003.10.048.



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/nvlvet10627

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

UDC 616.9-08:636.8

Retrospective studies of intestinal yersiniosis in cats in the Chernihiv region

O. O. Truba[✉], G. A. Zon, L. B. Ivanovska

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Article info

Received 06.05.2022

Received in revised form

06.06.2022

Accepted 07.06.2022

Sumy National Agrarian
University, G. Kondratieva Str., 160,
Sumy, 40021, Ukraine.
Tel.: +38-098-649-03-41
E-mail: olga.tryba93@gmail.com

Truba, O. O., Zon, G. A., & Ivanovska, L. B. (2022). Retrospective studies of intestinal yersiniosis in cats in the Chernihiv region. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(106), 177–185. doi: 10.32718/nvlvet10627

The work aims to conduct retrospective studies of intestinal yersiniosis in cats in the Chernihiv region. In order to establish the spread of intestinal yersiniosis among cats in the Chernihiv region, 225 animals were spontaneously selected for the study, which had a history of the various clinical picture, but the vast majority registered diarrhea. The animals were different in age, sex, breed, and outbred. Flushes from the mucous membranes of the mouth and intestines, as well as feces and urine, were examined. To isolate the pathogen of yersiniosis, the selected material (feces) before the study was subjected to "cold enrichment" followed by sowing on a yersiniosis nutrient medium. Incubation was carried out at 26 °C for two days. Studies on identifying the pathogen were performed following the "Determinant of Bergi bacteria." Verifying intestinal yersiniosis diagnosis was done by detecting yersiniosis antibodies, which are used in RA standard yersiniosis antigens (O:3; O:6.30; O:9). RA production was performed by the macro method by the classical method. In order to determine the pathogenicity of isolates of *Y. enterocolitica*, white mice were infected according to standard procedures. The antibody titer of 1:200 and higher was considered significant concerning the diagnosis of the disease. Sowing of washes from the intestines of animals was carried out on a yersiniosis nutrient medium LLC "Pharmactive." Additional general clinical blood and urine tests were performed on all animals in the cultures isolated from the causative agent of intestinal yersiniosis. In our study for 2019–2021, 87 animals with intestinal yersiniosis from specific territorial centers of the Chernihiv region were identified. The increase in the incidence rate of intestinal yersiniosis in cats in the Chernihiv region may be due to the landscape-climatic features of the region, which are changing the latter. Cats under one year and two to three years of age are more prone to intestinal yersiniosis than animals over nine, with a reasonably low incidence. Females were 2.6 times more likely to develop the disease than males. Most infections were caused in females of *Y. enterocolitica* by serovar O:3 and accounted for 32.5 %, and in males by serovar O:9 (20 %), or a combination thereof. Serovar O:6.30 caused the disease in only four cases (5 %), three of which were reported in females. However, more positive reactions were detected with O:3 antigens and accounted for 41.25 % of the total number of subjects. Clinical signs of intestinal yersiniosis are depression, anorexia, vomiting, dehydration, hyperthermia, enteritis, diarrhea, tenesmus, rarely otitis, paraproctitis, abdominal wall pain, bronchospasm, and nephritis, nephrosis, endometritis, infertility, lymphadenitis, lymphadenitis.

Key words: intestinal yersiniosis, serovars *Y. enterocolitica*, cats.

Ретроспективні дослідження за кишкового ієрсиніозу котів у Чернігівській області

О. О. Труба[✉], Г. А. Зон, Л. Б. Івановська

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

Мета роботи – провести ретроспективні дослідження за кишкового ієрсиніозу котів у Чернігівській області. З метою встановлення поширення кишкового ієрсиніозу серед котів на території Чернігівської області для дослідження були спонтанно відібрані 225 тварин, які мали в анамнезі різноманітну клінічну картину, але у переважній більшості реєстрували діарею. Тварини були різні за віком, статтю та породою, а також безпорідні. Досліджували змиви зі слизових оболонок ротової порожнини та кишеч-

нику, а також кал і сечу. Для ізоляції збудника ієрсиніозу відібраний матеріал (кал) перед дослідженням піддавали "холодовому збагаченню" з подальшим висіванням на ієрсиніозне поживне середовище. Інкубацію здійснювали за температури 26 °C протягом 2 діб. Дослідження з ідентифікації збудника проводили відповідно до "Визначника бактерій Берджі". Верифікацію діагнозу на кишковий ієрсиніоз здійснювали шляхом виявлення ієрсиніозних антитіл, для чого використовували в РА стандартні ієрсиніозні антигени (O:3; O:6.30; O:9). Постановку РА проводили макрометодом за класичною методикою. З метою визначення патогенності ізолятів *Y. enterocolitica* проводили зараження білих мишей за стандартною процедурою. Значущим щодо діагностики хвороби визнали титр антитіл 1:200 та вищий. Посів змивів з кишечника тварин проводили на ієрсиніозне поживне середовище ТОВ "Фармактив". Всім тваринам, в посівах яких було виділено збудника кишкового ієрсиніозу, проводили додаткові загальноклінічні аналізи крові та сечі. В ході нашого дослідження за період 2019–2021 рр. було виявлено 87 тварин, хворих на кишковий ієрсиніоз, з окремих територіальних осередків Чернігівської області. Показано, що зростання показника інцидентності за кишкового ієрсиніозу котів у Чернігівській області може бути пов'язано з ландшафтно-кліматичними особливостями регіону, який зазнав змін останнім. Коти до року та у віці двох-трьох років більш схильні до виникнення кишкового ієрсиніозу, ніж тварини віком понад 9 років, які мають досить низький рівень захворюваності. Самки в 2,6 раза були більш схильні до виникнення захворювання, ніж самці. Переважна частина інфікувань спричинена у самок *Y. enterocolitica* сероваром O:3 та становила 32,5 %, а у самців сероваром O:9 (20 %), або їх комбінацією. Серовар O:6.30 викликав хворобу лише в чотирьох випадках (5 %), три з яких були зареєстровані у самок. Проте більша кількість позитивних реакцій була виявлена з антигеном O:3, і становила 41,25 % від загальної кількості досліджених. Серед клінічних ознак кишкового ієрсиніозу виявляються пригнічення, анорексія, блювота, дегідратація, гіпертермія, ентерит, діарея, тенезми, рідше отит, парапроктит, болючість черевної стінки, бронхоспазм, нефрит, нефроз, ендометрит, безпліддя, лімфаденіт, дерматит, висипи, артрит.

Ключові слова: кишковий ієрсиніоз, сероваріанти *Y. enterocolitica*, коти.

Вступ

Кишковий ієрсиніоз антропозоонозне захворювання, яке викликає грамнегативна ентеробактерія – *Y. enterocolitica*, що характеризується септицемією і токсемією, як наслідок – ураженням шлунково-кишкового тракту, органів респіраторної системи, народженням нежиттєздатного молодняку за гострого перебігу, та безпліддям, артритам за хронічного перебігу, а іноді безсимптомним перебігом.

Ієрсиніоз є досить розповсюдженою інфекцією, яка реєструється більш ніж в 30 країнах світу. Випадки хвороби різного прояву та періодичності реєструють переважно в країнах, що мають доволі прохолодний клімат. В цьому плані Україна не є винятком.

На цей час в Україні реєструються непоодинокі випадки хвороби з досить різноманітним клінічним проявом, різним за перебігом та прихованим бактеріоносійством ієрсиніозної інфекції. Проте підтверджених випадків кишкового ієрсиніозу серед домашніх тварин описано дуже мало та офіційно не зареєстровано. Досі виникають труднощі в діагностиці даної хвороби, адже основні причини проблеми – в різноманітності клінічного прояву кишкового ієрсиніозу, а інколи в його відсутності. Саме різноманітність симптомів, які супроводжують хворобу за різним перебігом, гостротою у тварин різного виду та статі не дозволяє виділити патогномонічні ознаки кишкового ієрсиніозу. Це спонукає до здійснення багатовекторної диференціації від інших, схожих за проявом бактеріозів, вірусів, інтоксикацій, які насамперед перебігають з клінікою гастроентероколіту та діареєю (Barkov & Lenchenko, 1997).

Досить часті випадки повторних інфікувань, переходу хвороби у хронічну форму за контактних заражень майже у 12 % хворих свідчать про те, що проведені діагностичні та лікувальні процедури були більш інтуїтивними і недостатньо обґрунтованими (Domashenko et al., 2016). Це пов'язано насамперед з неповним розумінням особливостей патогенезу та механізмів формування рецидивуючого стану, специфічності протікання затяжної та хронічної форм хвороби. Тому для лікарів ветеринарної медицини зали-

шається відкритою проблема вибору методики супроводу тварин на різних етапах захворювання на кишковий ієрсиніоз.

Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми. Збудник кишкового ієрсиніозу – *Y. enterocolitica*, бактерія роду *Yersinia*. Ієрсинії вважають сапрофітами і досить стійкими в навколишньому середовищі, здатними до репродукції в широкому діапазоні температур (від 2 до 40 °C), виживати за різних умов довкілля. Існує припущення, що в ґрунті патогенні ієрсинії мають свої хазяїв, а температура, вологість та хімічний склад ґрунту можуть безпосередньо впливати на тривалість їхньої життєдіяльності (Kalinichenko et al., 2008). Ієрсинії активно розмножуються за температури побутових холодильників та овочесховищ, і саме ця їхня здатність сприяє контамінації різних харчових продуктів (Kavruk et al., 2005). Ці бактерії гинуть при кип'ятінні, висиханні, впливі прямого сонячного світла та дезінфікуючих засобів. Доведено, що пастеризація не завжди їх інактивує (Somova et al., 2015).

Y. enterocolitica вважають однією з причин розвитку імунопатологічних станів, які можуть бути викликані її патогенними серотипами: O:3, O:4, O:5, O:6.30, O:8 та O:9, і саме вони є основними збудниками кишкового ієрсиніозу дрібної і великої рогатої худоби, оленів, свиней, щурів, а також приматів, в тому числі людини (Orehova, 2015). Певна частина патогенних штамів *Yersinia enterocolitica* можуть бути отримані людиною від цуценят та кошенят. Ці тварини стають джерелом інфекції, особливо під час тісних контактів з дітьми. Хоча собаки та коти не є основним резервуаром та джерелом інфекції *Yersinia enterocolitica*, цей мікроорганізм слід включити до диференціальної діагностики причин інфекційних ентеритів, переважно коли діарея у молодих домашніх тварин супроводжується кров'янистими випорожненнями. Про це може свідчити той факт, що штам *Y. enterocolitica* біотипу 4, серотипу O:3 був виділений із фекалій та змивів з кишечника як хворих на діарею, так і здорових котів та собак (Ivanovska, 2003). Клінічні випадки серед домашніх тварин найчастіше спостерігаються у молодих особин, тимчасом як дорослі тварини зазви-

чай є безсимптомними носіями (Ivanovska, 2007). Дослідження Fukushima H. (Fukushima et al., 1985) вказують на наявність *Y. enterocolitica* О:3 у 12,2 % щенят віком до року та у 3,3 % собак старшого віку. В гуманній медицині, на відміну від ветеринарної, *Y. enterocolitica* прийнято вважати однією з найчастіших причин кишкових захворювань людини, з прогресуючим зростанням інцидентності (European Food Safety Authority, 2010). Водночас, за даними деяких інших дослідників, септицемія ієрсиніозного походження досить рідко реєструється у людей і приматів (Fredriksson-Ahomaa et al., 2012). В багатьох публікаціях зазначається, що свині є найважливішим резервуаром патогенних для людини штамів *Yersinia enterocolitica*. Збудника також виявляють у диких та декоративних гризунів (Monack et al., 1998).

Є дані, що дрібні домашні тварини також можуть бути носіями цього збудника і таким чином потрапити до людини. При цьому основними шляхами потрапляння збудника вважають харчовий, фекально-оральний, водний та контактний-побутовий. Зазвичай інфікування людини відбувається при вживанні контамінованих збудником або недостатньо оброблених продуктів, таких як молоко, м'ясо, риба, яйця, фрукти та овочі (De Boer, 1992). Водний шлях зараження констатують рідше, насамперед при вживанні забрудненої колодязної води, відкритих водойм та природних джерел, доступ до яких є вільним як для диких так і для домашніх тварин. З'явилися також дані, що виникнення кишкового ієрсиніозу може бути пов'язане з переливанням реципієнту контамінованою збудником крові (Guinet et al., 2011).

У домашніх тварин і людей, ієрсинії при потраплянні в шлунково-кишковий тракт та подоланні його захисного бар'єру призводять до розвитку катарально-ерозивного гастродуоденіту, після чого накопичуються у клубовій кишці, де відбувається їх адгезія до епітеліальних клітин клубової і сліпої кишки. Через Пейєрові плямки *Y. enterocolitica* проникає в епітеліоцити, спричиняючи цитотоксичне ушкодження цитоплазми, адгезію і розмноження бактерій на поверхні епітелію. На думку В. П. Малога, саме це є підґрунтям найбільш частого симптому кишкового ієрсиніозу – діареї (Malyi, 2016).

Інкубаційний період хвороби може складати від кількох днів до трьох тижнів. Залежно від тяжкості інфекції у продуктивних тварин, клінічно хвороба характеризується утворенням рідкого вмісту кишечника, діареєю, загальною слабкістю та пригніченням, застійними явищами в легенях у легших випадках; набряками та крововиливами, виразками в кишечнику, іноді смертю – в більш важких випадках. Кишковий ієрсиніоз також може протікати безсимптомно та бути основною причиною безпліддя (Weese, 2007).

Вважають, що збудник хвороби може зберігати свою контамінацію навіть після зникнення всіх клінічних симптомів (Weese, 2007). Клінічна картина за кишкового ієрсиніозу є поліморфною, а іноді прихованою.

Дослідники кишкового ієрсиніозу людини виділяють такі клінічні форми ієрсиніозу: гастроентероколітичну, жовтяничну, септичну, артралгічну, менінгі-

альну, екзематозну та змішану. Кожна з цих форм може протікати гостро або повільно (Ostroff et al., 1992). У ветеринарній медицині досі остаточно не визначено клінічні форми хвороби. У продуктивних тварин переважає гастроентероколітна форма, рідше генітальна, суглобова і як виняткові – легенева, нервова та інші (Skrypnyk, 1999). Водночас у дрібних домашніх тварин, зокрема собак, найчастіше реєструють безсимптомну форму перебігу, проте з'являються повідомлення про гастроентероколітну форму та змішану, за ускладнення іншими інфекційними агентами (Zon et al., 2015).

Для виділення збудника розроблені декілька схем збагачення та селекції. Види збудника ідентифікуються за допомогою бактеріологічних та серологічних методів. Так, з метою виявлення антигенів *Y. enterocolitica* з клінічного матеріалу використовують такі серологічні реакції, як РНГА, МФА, РАЛ, РКоА, РІФ (кров, сеча, випорожнення, слина тощо) до 10-го дня від початку хвороби, що застосовують для прискореної діагностики (Malyi, 2016).

Титри антитіл зростають вже на першому тижні захворювання і досягають свого піку на другому тижні. Діагностично достовірним прийнято вважати приріст титрів антитіл в чотири рази. Але за відсутності отримання парних сироваток є можливість використання умовно-діагностичних титрів для дорослих тварин – 1:200 – 1:400, для молодих тварин віком до року 1:100 – 1:200. Діагностичний титр в РА становить 1:160. Проте у низці випадків РА може давати неспецифічні результати (Ivanovska, 2003). Використання РНГА також знижує потенційно високі ризики перехресних реакцій до *Brucella abortus*, *Rickettsia* spp., *Salmonella* spp., *Morganella morganii* (Ivanovska, 2007). Водночас серологічна діагностика з використанням РНГА має недоліки у зв'язку з певним дефіцитом антигенних еритроцитарних діагностиків і можливістю отримання псевдонегативних результатів дослідження, тому не може самостійно застосовуватись для постановки діагнозу, а лише в комплексному дослідженні (Malyi, 2016).

Збудник у багатьох тварин негативно впливає на статеву сферу. Проте при диференційній діагностиці потрібно враховувати, що причиною абортів можуть бути й інші статеві інфекції. У молодих тварин насамперед потрібно виключати кокцидіоз, нематодний паразитизм, панлейкопенію тощо (Kruse et al., 2011).

Для лікування хворих на кишковий ієрсиніоз як етіотропну терапію застосовують: антибіотики (тетрацикліни, цефалоспорины 3-го покоління), сульфамідаміди, засоби патогенетичної терапії, яка базується на дезінтоксикації, а також імуностимулюючу терапію та вітамінні комплекси. За необхідності використовують спазмолітики, гепатопротектори, антиперетики (Malyi, 2016). Хворі, які мають безсимптомний перебіг, отримують терапію залежно від перебігу (субклінічний чи реконвалесцентний). Протоколи лікування за гострого субклінічного варіанту відповідають терапії легкого перебігу локалізованої форми. В терапії тварин за хронічного субклінічного і реконвалесцентного варіантів додатково використовують

фторхінолони, аміноглікозиди, рефампіцин та імунорієнтовані препарати (Leonchik, 2007; Maliy, 2016).

Специфічної профілактики кишкового ієрсиніозу у тварин на даний час не існує. Основними засобами профілактики хвороби є ветеринарно-санітарний контроль та нагляд за об'єктами утримання тварин різних видів, виробничих приміщень з переробки та зберігання тваринної продукції, овочів, проведення регулярної дератизації (Somova et al., 2015), прибирання фекалій дрібних домашніх тварин з прибудинкових територій та місць відпочинку людей (Zon et al., 2020).

Аналіз літературних джерел вказує на брак інформації щодо прояву кишкового ієрсиніозу у котів. В Україні на цей час такі дослідження не проводяться, хоча, на нашу думку, вони є актуальними і своєчасними з огляду на зростання поголів'я як домашніх, так і безпритульних котів. Тому саме ці питання і були предметом наших досліджень.

Мета роботи – провести ретроспективні дослідження за кишкового ієрсиніозу котів в Чернігівській області.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження виконувалась в рамках науково-дослідної роботи кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці Сумського НАУ: “Удосконалення методів ранньої діагностики і лікувально-профілактичних заходів для запобігання емерджентних та економічно значущих хвороб тварин” (№ державної реєстрації 0118U100371).

З метою встановлення поширення кишкового ієрсиніозу серед котів на території Чернігівської області для дослідження були спонтанно відібрані 225 тварин, які мали в анамнезі різноманітну клінічну картину, але в переважній більшості реєстрували діарею. Тварини були різні за віком, статтю та породою, а також безпородні. Досліджували змиви зі слизових оболонок ротової порожнини та кишечника, а також кал і сечу. Для ізоляції збудника ієрсиніозу відібраний матеріал (кал) перед дослідженням піддавали “холодовому збагаченню” з подальшим висіванням на ієрсиніозне поживне середовище (Zon et al., 2020). Інкубацію здійснювали за температури 26 °C протягом 2 діб. Оцінку результатів проводили згідно з паспортом середовища. При активному рості бактеріальних колоній проводили подальші дослідження з ідентифікації збудника відповідно до “Визначника бактерій Берджі” (Schaake et al., 2013). Верифікацію діагнозу на кишковий ієрсиніоз проводили шляхом виявлення ієрсиніозних антитіл, для чого використовували в РА стандартні ієрсиніозні антигени (О:3; О:6.30; О:9), виготовлені лабораторією вивчення бруцельозу ННЦ “Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини” (м. Харків), а також в РНГА антигени виготовлені РАО “Биопрепарат” (Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток) Постановку РА здійснювали макрометодом за класичною методикою. З метою визначення патогенності ізолятів *Y. enterocolitica* проводили зараження білих мишей. Для внутрішньочеревного зараження

використовували чисту культуру, яка попередньо вирощувалася 3 години на LB бульоні за сталої температури 27 °C. Групі білих мишей віком від 6 до 8 тижнів внутрішньочеревно вводили 0,1–0,2 мл в розведенні 3×10^6 клітин/мл. Через три дні після зараження мишей усиплюли та проводили оцінку внутрішніх змін. Встановлення антитіл проти *Y. enterocolitica* в сироватці проводили шляхом змішування краплі сироватки та взятої у зараженої миші з колонією, що була відібрана з чистої культури і менше ніж за хвилину спостерігалась реакція аглютинації в 7 випадках з 10 (Konev, 2005; Kanan & Abdulla, 2009).

З метою встановлення серотипу збудника нами додатково були відібрані 80 проб крові клінічно хворих тварин для дослідження в РНГА зі специфічними антигенами (О:3, О:6.30, О:9). Постановку РНГА здійснювали мікрометодом за класичною методикою, в разі отримання позитивних реакцій визначали максимальний титр антитіл. Значущим щодо діагностики хвороби визнавали титр антитіл 1:200 та вищий.

Посів змивів з кишечника тварин проводили на ієрсиніозне поживне середовище ТОВ “Фармактив”. Оцінку отриманих результатів проводили через 48 годин з урахуванням того факту, що колонії ієрсинії набувають жовтого кольору протягом перших 24 годин за рахунок ферментації глюкози, а на другу добу інкубації колонії ієрсинії, розщеплюючи сечовину, набувають синього кольору.

Всім тваринам в посівах, де було виділено збудника кишкового ієрсиніозу, проводили додаткові загальноклінічні аналізи крові та сечі, а також серологічний аналіз сироваток крові зі специфічними антигенами.

З метою встановлення географічного поширення кишкового ієрсиніозу серед котів на карті Чернігівської області позначали місця реєстрації збудника. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми Microsoft Office Excel 2019 для MAC та програмних пакетів Statistika v. 6.1 (SNANSOFT) методами варіаційної статистики, які використовуються в медицині, із застосуванням критеріїв Стюдента.

Результати дослідження

В ході нашого дослідження за період 2019–2022 рр. було виявлено 87 тварин, хворих на кишковий ієрсиніоз, з наявними клінічними ознаками, з окремих територіальних осередків Чернігівської області. На поданій мапі Чернігівської області (рис. 1) повністю зафарбованими оранжевим кольором є райони, в яких за результатами дослідження випадки захворювання на кишковий ієрсиніоз були зафіксовані у більше ніж 20 спонтанно відібраних тварин. Блакитним кольором позначені міста, де встановлені поодинокі випадки кишкового ієрсиніозу котів (не більше ніж 5 спонтанно відібраних тварин); без позначок – райони, в яких дослідження домашніх котів не проводилося. Отримані дані вказують про те, що більшість випадків хвороби виявлено в Чернігівському, Ніжинському, Борзнянському та Бахмацькому

Таблиця 2

Сeropозитивність котів за віком до ієрсиніозних антигенів *Y. enterocolitica*, n = 80

Вікова група	Титри антитіл					
	200		400		600 і вище	
	n	%	n	%	n	%
До року	17	21,3	1	1,3	-	-
2–4 років	22	27,5	16	20,0	4	5,0
5–8 років	10	12,5	6	7,5	2	2,5
Понад 9 років	2	2,5	-	-	-	-
Разом	51	63,75	23	28,75	6	7,5

Аналізуючи дані таблиці 3, можна стверджувати, що самки (72, 5 %) були більш схильні до виникнення захворювання, ніж самці (27,5 %). Значна частини інфікувань, яка була виявлена в ході нашого дослідження, спровокована у самок *Y. enterocolitica* сероваром O:3 та становила 32,5 %, а у самців сероваром O:9 (15 %) або їх комбінацією. А серовар O:6.30 спричинював хворобу лише в чотирьох випадках (5 %), три з яких були зареєстровані у самок. Проте

більша кількість позитивних реакцій була виявлена з антигеном O:3, і становила 37,25 % від загальної кількості досліджених. Крім того, самки в 16,25 % зареєстрованих випадків були одночасно інфікованими декількома сероварами ієрсинії, тимчасом як серед самців даний показник становить лише 2,5.

Спостереження за хворими тваринами з гострим перебігом дозволили виявити основні симптоми кишкового ієрсиніозу (табл. 4).

Таблиця 3

Сeropозитивність тварин відповідно до статі та антигенної приналежності, n = 80

Тварини за статтю	Загальна кількість тварин, гол.		Позитивні реакції з ієрсиніозними антигенами							
	80		O:3		O:6,30		O:9		Одночасно з кількома антигенами	
	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Самці	22	27,5	7	9	1	1,25	12	15	2	2,5
Самки	58	72,5	26	32,5	3	3,75	16	20	13	16,25

Таблиця 4

Клінічні ознаки у котів різного віку і статі з гострим перебігом кишкового ієрсиніозу, n = 8

Реакція систем та органів	Симптоми / патології	Кличка тварини/стать/вік							
		Міша ♂	Маша ♀	Рижий ♂	Зося ♀	Софа ♀	Рита ♀	Білий ♂	Гоша ♂
		5 років	2 роки	2 роки	4 роки	3 роки	3 роки	4 роки	9 років
Загальні симптоми	Пригнічення	+	+	+	+	+	+	+	+
	Анорексія	+	+						
	Блювота		+		+		+		
	Дегідратація		+			+			
	Гіпертермія								+
Органи чуття	Отит	+				+	+		
Нервова	Тенезми								+
ШКТ	Ентерит		+	+		+		+	+
	Паропроктит								
	Діарея		+	+		+		+	+
	Болочість черевної стінки		+						
Респіраторна	Бронхоспазм								+
Сечовивідна	Нефрит								+
	Нефроз		+						
Статева	Ендометрит				+				
	Безпліддя								
Лімфатична	Лімфаденіт		+						
Шкіра	Дерматит				+				+
	Висипи	+							+
Опорно-рухлива	Артрит	+							+

Узагальнюючи клінічні ознаки серед тварин, що мали гострий перебіг кишкового ієрсиніозу, встановлено такі симптоми: загальне пригнічення, зниження апетиту, малорухливість та нестабільні показники температури тіла у всіх тварин. Різке зниження ваги на фоні дегідратації виявили лише у двох тварин. Блювота більше ніж три рази на добу реєструвалась у трьох тварин. Натомість діарея спостерігалась у п'ятих особин. Проте в двох тварин вона містила слизово-геморагічні виділення з досить світлими відтінками калових мас, а в kota Гоші – червоно-чорні. Ознаки артрити були у двох тварин. Безпліддя, як наслідок ієрсиніозної інфекції, встановлено у двох самиць середнього віку. Ендометрит та дерматит зафіксовані лише в одному випадку, у кішки Зосі. Досить тяжкий перебіг хвороби виявляли у kota Гоші, в анамнезі якого було встановлено: загальну слабкість, підвищену загальну температуру тіла до 39,8 °C, прискорений пульс, тенезми, діарею, бронхоспазм, нефрит, артрит, шкірні висипи та отит. Кіт був підібраний з вулиці та перебував на перетримці у волонтерів вже декілька тижнів. Все вищеперераховане в загальному підсумку сприяло тяжкому перебігу хвороби з ускладненнями та призвело до загибелі тварини. Труп тварини було піддано розтину для встановлення посмертних змін. На розтині виявили ураження шлунково-кишкового тракту. Кишечник з потовщеними стінками, жовтуватого кольору, частково здутий. Брижові лімфатичні вузли збільшені, щільні. Вміст кишечника рідкий, водянистий, пінний. Жовтого кольору місцями з прожилками крові. В ході подальшого розтину було встановлено порушення в серцево-судинній системі, зокрема в серці, об'єм якого був в два рази збільшений. А сам орган мав неправильну форму та містився анатомічно неправильно. Стінки серця були тонкими, в'ялими. Серцева сумка одним зі своїх країв була зрощена з грудною плеврою.

В грудній порожнині було 56 мл ексудату темно-червоного кольору, що також вказує на хронічний перебіг хвороби.

Легені розміщені анатомічно правильно, але їх об'єм був зменшений за рахунок патології серця.

Серед інших симптомів у обстежених тварин спостерігали підвищену тривожність, парапроктит, а також болючість живота при пальпації та його напруженість.

В зв'язку з наявними ознаками гострої кишкової інфекції з метою диференціальної діагностики проводили експрес-дослідження на панлейкопенію. За допомогою експрес тесту FPV та характерних змін в загальних та біохімічних показниках крові було підтверджено факт подвійного інфікування тварини.

Обговорення

Проведені дослідження свідчать про те, що кишковий ієрсиніоз серед котів нині не є винятковим захворюванням. Ряд дослідників вважають, що цьому посприяв вплив як на збудника, так і на організм тварин багатьох біотичних та абіотичних факторів. Розповсюдження патогенних серотипів *Y. enterocolitica* тісно пов'язане з географічними та кліматичними й

іншими факторами. Існують досить помітні регіональні розбіжності в розповсюдженні кишкового ієрсиніозу серед людей і тварин, які ґрунтуються насамперед на ландшафтно-кліматичних особливостях регіонів: наявності річок та прісних водойм, структурі ґрунтів, спектрі флори і фауни, що створюють необхідні умови для існування *Y. enterocolitica* як класичного представника сапронозної інфекції та слугують певними векторами його передачі. Досить високий показник інфікування котів, порівняно з іншими видами, був виявлений у Чернігівській та Ніжинській громаді. Даний факт може бути пов'язаний з прохолодним та вологим кліматом в певні періоди року, а також наявністю стоячих та мілководних водойм з вільним доступом до них як диких, так і свійських тварин. Ця думка ґрунтується на тому, що майже всі тварини, в яких був виявлений кишковий ієрсиніоз, перебували на вільному утриманні, тож мали доступ як до необробленої їжі, так і до води.

Отримані нами дані щодо інцидентності хвороби серед котів в окремих районах області важко порівняти з наявним поголів'ям цих тварин, саме тому ми не можемо обрахувати відсоток розповсюдження хвороби. Проте зауважимо, що за останні роки епідемічна ситуація щодо кишкового ієрсиніозу значно змінилась.

Враховуючи той факт, що значна частина тварин може бути носіями *Y. enterocolitica* без прояву клінічних ознак, важко передбачити реальні масштаби як поширення хвороби, так і потенціальних носіїв збудника в дослідженому регіоні та в країні. А якщо зіставити факти, щодо передачі хвороби та кількості бездомних тварин, які є потенційними "резервуарами" хвороби, то можна тільки здогадуватись про можливі наслідки.

Дослідження свідчать про те, що поширення патогенних штамів *Y. enterocolitica* в Чернігівському регіоні має свої особливості. Даний факт був підтверджений за допомогою аналізу епідеміологічної ситуації регіону та лабораторній ізоляції збудника. Так, в ході дослідження було встановлено хворобу з клінічним проявом у 87 котів збудником кишкового ієрсиніозу, що належали до таких серотипів: O:3, O:6.30 та O:9. Проте більша кількість позитивних реакцій була виявлена з антигеном O:3, і становила 41,25 % від загальної кількості досліджених.

Дослідження виявили також, що інфікування кішок було більшим (у 2,6 рази), ніж у котів, що може свідчити про статеву схильність до інфекції у цих тварин. Проте пов'язати встановлений факт з якимись факторами важко, і кількість рандомізованих тварин не дозволяє остаточно підтвердити таку думку. Значна частини інфікувань, виявлена в ході нашого дослідження, була зумовлена у самок *Y. enterocolitica* сероваром O:3 та становила 32,5 %, а у самців сероваром O:9 (20 %) або їх комбінацією. А серовар O:6.30 спричинював хворобу лише в чотирьох випадках (5 %), три з яких були зареєстровані у самок.

Дослідження також свідчать про те, що ієрсинії не належать до високоімуногенних збудників. Так, в більше половини інфікованих тварин (63, 75 %), виробляється невелика кількість антитіл (1:200). У віко-

вій групі 2–4 роки такі показники зареєстровані у 22 тварин, що своєю чергою може слугувати доказом того, що представники родини котячих можуть бути носіями *Y. enterocolitica*, а самі при цьому не хворіти.

Висновки

1. Зростання показника інцидентності за кишковогієрсиніозу котів в Чернігівській області може бути пов'язано з ландшафтно-кліматичними особливостями регіону, який зазнає змін останнім.

2. Коти до року та у віці двох-трьох років є більш схильні до виникнення кишковогієрсиніозу, ніж тварини віком понад 9 років, які мають досить низький рівень захворюваності. Самки в 2,6 раза були більш схильні до виникнення захворювання, ніж самці.

3. Переважна частини інфікувань спричинена у самок (72,5 %) *Y. enterocolitica* сероваром O:3 та становила 32,5 %, а у самців сероваром O:9 (20 %) або їх комбінацією. Серовар O:6.30 викликав хворобу лише в чотирьох випадках (5 %), три з яких були зареєстровані у самок (3,75 %). Проте більша кількість позитивних реакцій була виявлена з антигеном O:3, і становила 41,25 % від загальної кількості досліджених.

4. Серед клінічних ознак кишковогієрсиніозу виявляються пригнічення, анорексія, блювота, дегідратація, гіпертермія, ентерит, діарея, тенезми, рідше отит, парапроктит, болючість черевної стінки, бронхоспазм, нефрит, нефроз, ендометрит, безпліддя, лімфаденіт, дерматит, висипи, артрит.

Напрямки подальших досліджень. Планується розробити базовий протокол лікування тварин родини котячих за кишковогієрсиніозу.

Подяки. Висловлюємо подяку волонтерам і власникам тварин, які сприяли ретельному обстеженню, відбору біологічного матеріалу та збору анамнестичних даних про піддослідних тварин.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

Barkov, A. V., & Lenchenko, E. M. (1997). Patogennye i virulentnye svojstva iersinij. Veterinarija, 6, 2–22 (in Russian).

De Boer, E. (1992). Isolation of *Y. enterocolitica* from foods. Int. J. Food Microbiol, 17(2), 75–84. DOI: 10.1016/0168-1605(92)90107-e.

Domashenko, O. N., Cherkasova, T. I., Kolesnikova, T. I., & Nebesnaja, L. V. (2016). Sovremennye metody diagnostiki iersinioza. Arhiv klinicheskij i jeksperimental'noj mediciny, 25(2), 103–106 (in Russian).

European Food Safety Authority (2010). The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European. URL: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1496>.

Fredriksson-Ahomaa, M., Cernela, N., Hächler, H., & Stephan, R. (2012). *Yersinia enterocolitica* strains associated with human infections in Switzerland 2001–2010. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 31(7), 1543–1550. DOI: 10.1007/s10096-011-1476-7

Fukushima, H., Tsubokura, M., Otsuki, K. et al. (1985). Epidemiological study of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* infections in Shimane Prefecture, Japan. Zentralblatt für Bakteriologie, 180(5-6), 515–527. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3895776>.

Guinet, F., Carniel, E., & Leclercq, A. (2011). Transfusion-Transmitted *Yersinia enterocolitica* Sepsis. Clinical Infectious Diseases, 53(6), 583–591. DOI: 10.1093/cid/cir452.

Ivanovska, L. B. (2003). Pro klinichni oznaky, shcho sposterihaiutsia u riznykh vydiv tvaryn khvorykh na iiersynioz. Visnyk SNAU, 8, 40–43 (in Ukrainian).

Ivanovska, L. B. (2007). Epizootologichnyi monitorynh ta rozrobka serologichnoi diahnozyky iiersyniozu tvaryn: dys. kand. vet. nuk: 16.00.08 - epizootologhiia ta infektsiini khvoroby. Kh. (in Ukrainian).

Kalinichenko, S. V., Ryzhkova, T. I., Dubova, L. M. ta in. (2008). Rezultaty piatyrychnoho monitorynhu za tsyrkuliuiuchymy shtamamy iiersynii, vyluchenykh z ob'ektiv zovnishnoho seredovyscha. Mat. naradysemynaru “Akt. probl. prof. osobl. nebezp. infektsii ta biol. bezpeky”, 131–132 (in Russian).

Kanan, T. A., & Abdulla, Z. A. (2009). Isolation of *Yersinia* spp. from cases of diarrhoea in Iraqi infants and children, Eastern Mediterranean Health Journal, 15(2), 276–284. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/117636>.

Kavruk, L. S., Shumilov, K. V., Mel'nichenko, L. P., Skljarov, O. D., Obuhov, I. L., Smirnov, I. V., Zykina, L. F., Shherbakov, A. A. (2005). Metodicheskie ukazaniya po laboratornoj diagnostike iersinioza zhivotnyh i obnaruzheniju vzbuditelja bolezni v mjasnom syr'e, moloke i rastitel'nyh kormah. M., 2005. 38 s. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200118748> (in Russian).

Konev, A. V. (2005). Patomorfologicheskie izmenenija pri jeksperimental'nom iersinioze laboratornyh zhivotnyh. Perspektivnye napravlenija nauchnyh issledovanij molodyh uchenykh: materialy IH NPK posvjashh. 75-letiju UGAVM. Troick, 85–87 (in Russian).

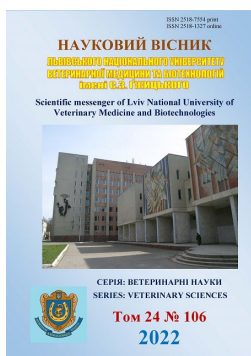
Kruse, B. D., Unterer, S., Horlacher, K., Sauter-Louis, C., & Hartmann, K. (2011). Feline panleukopenia - different course of disease in cats younger than versus older than 6 months of age? Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere, 39(4), 237–242. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22143661>.

Leonchik, Ja. V. (2007). Osnovnye aspekty jeffektivnosti primenenija antibiotikov. Suchasna veterinarna medicina, 3, 42–46 (in Russian).

Malyi, V. P. (2016). Yersynioz. Klinichna imunologhiia. Alerholohiia. Infektologhiia. Kyiv, 5, 14–22 (in Ukrainian).

Monack, D. M., Mecsas, J., Bouley, D., & Falkow, S. A. (1998). *Yersinia* induced macrophage apoptosis in vivo aids in the establishment of systemic infection in

- mice. *Journal of Experimental Medicine*, 188(11), 2127–2137. DOI: 10.1084/jem.188.11.2127.
- Orehova, H. A. (2015). Kyshkovyi iiersynioz tvaryn (aktualnist, epizootolohiia, diahnostryka). *Veterynarna medytsyna*, 101, 125–129. URL: http://jvm.kharkov.ua/sbornik/101/4_35.pdf (in Ukrainian).
- Ostroff, S.M., Kapperud, G., Lassen, J., Aasen, S., & Tauxe, R. V. (1992). Clinical features of sporadic *Yersinia enterocolitica* infections in Norway. *J Infect Dis*, 166(4), 812–817. DOI: 10.1093/infdis/166.4.812.
- Pujol, C., & Bliska, J. B. (2005). Turning *Yersinia* pathogenesis models inside out: subversion of macrophage function by intracellular *yersiniae*. *Clinical Immunology*, 114(3), 216–226. DOI: 10.1016/j.clim.2004.07.013.
- Schaake, J., Kronshage, M., Uliczka, F., Rohde, M., Knuuti, T., Strauch, E., Fruth, A., Wos-Oxley, M., & Dersch, P. (2013) Human and Animal Isolates of *Yersinia enterocolitica* Show Significant Serotype-Specific Colonization and Host-Specific Immune Defense Properties. *Infect Immun*, 81(11), 4013–4025. DOI: 10.1128/IAI.00572-13.
- Skrypnyk, V. H. (1999). *Kishechnye iersiniozy zhivotnyh*. Biblioteka veterynarnoi medytsyny. Kyiv. T.4 (in Ukrainian).
- Somova, L. M. Andriukov, B. G., & Plehova, N. G. (2015). Problema iersiniozov v sovremennom mire. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovaniy*, 12, 661–667 (in Russian).
- Weese, J. S. (2007). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 3rd ed. *Canadian Veterinary Journal*, 48(1), 75. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1716741>.
- Zon, G. A., Ivanovskaja, L. B., Kuznecov, M. Ju., & Kuznecova, E. Ju. (2015). Rezul'taty serologicheskogo monitoringa kishechnogo iersinioza sobak s klinicheskimi priznakami gastroenterita. *Uchenye Zapiski UO VGAVM. Vitebsk*, 51(1), 201–205 (in Russian).
- Zon, H. A., Ivanovska, L. B., Zon, I. H., & Truba, O. O. (2020). Metodichni rekomendatsii z diahnostryky kyshkovoho iiersyniozu dribnykh domashnikh tvaryn, Sumskoho NAU, Sumy (in Ukrainian).
- Zon, I. H., Zon, H. A., & Ivanovska, L. B. (2020). To the epizootology of intestinal yersiniosis in dogs. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine*, 3(50), 23–30. DOI: 10.32845/bsnau.vet.2020.3.4.



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/nvlvet10628

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

UDC 636.083.3:636.592

Stocking density as a possible etiological factor in the development of keel “bubbles” in turkeys

R. I. Fedyniak✉, R. A. Peleno

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

Article info

Received 09.05.2022

Received in revised form

09.06.2022

Accepted 10.06.2022

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-096-874-68-35
E-mail: romannafeduniak@ukr.net

Fedyniak, R. I., & Peleno, R. A. (2022). Stocking density as a possible etiological factor in the development of keel “bubbles” in turkeys. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 24(106), 186–191. doi: 10.32718/nvlvet10628

A significant increase in demand among the population for turkey meat makes turkey farming one of the most competitive and economically profitable agribusinesses and the fastest growing segment of poultry farming. The investment attractiveness of growing turkeys increases annually by 20–30 %, and the profitability is from 20 to 25 %. Consumer demand, which ensures a constant sales market, sufficient fodder base, availability of labor resources, and several other factors became prerequisites for the transformation of turkey farming from small homestead enterprises into large industrial complexes, which, as a rule, implement intensive production technology. The desire of the owners to increase profits, using the minimum amount of production space for this purpose, quite often leads to the violation of established sanitary and hygienic requirements, which regulate the density of poultry planting per 1 m² of area. An increase in the number of animals or birds in a specific territory leads to a deterioration of the body's physiological state and a decrease in resistance. It is also the cause of the emergence and development of diseases, both infectious and non-infectious etiology. With the intensive technology of growing turkeys, there is a rapid growth of muscle tissue, in particular, the sternum, which is much more likely to be injured due to a high density of planting, which can be one of the etiological factors of the formation and development of keel “bubbles.” The research was carried out at “Indykati” LLC and “UPG-Invest” LLC, which are located in the village of Kadubivtsi and village Mamaivtsi, Chernivtsi region, as well as the “Dobrobut” MPP of the village. Bezdivitsi of the Lviv region on turkeys of the Big-6 breed, in which the density of planting turkeys was different. To establish the dependence of the number of cases of damage to the bird by the keel “bubbles” on the density of its landing on 30, 60, 90, 120, and 150 days of cultivation, an examination of the entire flock was carried out, which included an examination and palpation of the sternum. During the final period of both females and males rearing, the number of lesions was determined based on the post-mortem examination of the carcasses. It was established that in all experimental farms, the density of poultry housing was more significant than the established sanitary and hygienic norms. The slightest deviation from the regulated indicators, which ranged from 16.7 to 37.5 %, in all age groups, was in the form of LLC “UPG-Invest”, and the largest, from 30.2 to 39.4 %, was in the MPP “Welfare”. The pathology of the keel in turkeys in the form of “bubbles” was clinically manifested from the 61st day of their rearing. The most minor incidence, which ranged from 5.2 to 13.9 %, was in the age group of 61–90 days, increased with age and, in the period from 91 to 120 days, ranged from 15.4 to 20.9 %, and from 121 to 150 days – from 18.4 to 23.9 %. According to such indicators, the average incidence of the indicated age groups in experimental poultry farms was 10.3, 17.4, and 20.6 %, respectively. The least affected (13.1 %) was the poultry at UPG-Invest LLC, where the stocking density exceeded the maximum permissible values by only 0.7–1.2 birds/m², and the most (18.9 %) was at the MPP farm “Dobrobut”, in which the density of accommodation was more significant than the established sanitary and hygienic standards by 1.3–2.6 birds/m².

Key words: poultry, turkeys, keel bubbles, stocking density, poultry farming.

Щільність посадки, як можливий етіологічний чинник розвитку “наминів” кіля у індиків

Р. І. Фединак[✉], Р. А. Пеленьо

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

Суттєве зростання попиту серед населення на індичатину робить індиківництво одним із найбільш конкурентоспроможних та економічно вигідних видів агробізнесу та сегментом птахівництва, що найбільш швидко розвивається. Інвестиційна привабливість вирощування індиків щорічно зростає на 20–30 %, а рентабельність становить від 20 до 25 %. Попит споживачів, який забезпечує постійний ринок збуту, достатня кормова база, наявність трудових ресурсів та ряд інших чинників стали передумовами трансформування вирощування індиків із дрібних присадибних підприємств у великі промислові комплекси, у яких зазвичай, впроваджена інтенсивна технологія виробництва. Бажання власників збільшити прибуток, використавши для цього мінімальний обсяг виробничих площ, досить часто зумовлює порушення встановлених санітарно-гігієнічних вимог, які регламентують щільність посадки птиці на 1 м² площі. Збільшення кількості тварин чи птиці на певній території призводить до погіршення фізіологічного стану організму, зниження резистентності, а також є причиною виникнення та розвитку захворювань як інфекційної, так і незаразної етіології. За інтенсивної технології вирощування індиків відбувається швидкий ріст м'язової тканини, зокрема груднини, яка за високої щільності посадки частіше піддається травмуванню, що може бути одним із етіологічних чинників утворення та розвитку “наминів” кіля. Дослідження проведено у ТОВ “Індикат” і ТОВ “УПГ-Інвест”, що в с. Кадубівці та с. Мамаївці Чернівецької області, а також МПП “Добробут” с. Берездівці Львівської області на індиках породи Біз-6, в яких щільність посадки індиків була різною. Для встановлення залежності кількості випадків ураження птиці “намином” кіля від щільності її посадки на 30, 60, 90, 120 і 150 доби вирощування проводили обстеження усього поголів'я, яке включало огляд і пальпацію груднини. На завершальному періоді вирощування як самок, так і самців кількість уражень визначали за результатами після забійного огляду туш. Встановлено, що у всіх дослідних господарствах щільність розміщення птиці була більшою за встановлені санітарно-гігієнічні норми. Найменше відхилення від регламентованих показників – в межах від 16,7 до 37,5 % – у всіх вікових групах було в господарстві ТОВ “УПГ-Інвест”, а найбільше – від 30,2 до 39,4 % – у МПП “Добробут”. Патологія кіля в індиків у вигляді “наминів” клінічно проявлялася з 61 доби їх вирощування. Найменша ураженість, яка становила від 5,2 до 13,9 %, була у віковій групі 61–90 діб, з віком зростала і в період від 91 до 120 доби була в межах від 15,4 до 20,9 %, а з 121 по 150 добу – від 18,4 до 23,9 %. За таких показників середня ураженість вказаних вікових груп у дослідних птахогосподарствах становила відповідно 10,3, 17,4 та 20,6 %. Найменш ураженою (13,1 %) була птиця у ТОВ “УПГ-Інвест”, де щільність посадки перевищувала максимально допустимі значення лише на 0,7–1,2 птиці/м², а найбільше (18,9 %) – у господарстві МПП “Добробут”, в якому щільність розміщення була більшою за встановлені санітарно-гігієнічні норми на 1,3–2,6 птиці/м².

Ключові слова: птиця, індик, “намини” кіля, щільність посадки, птахівництво.

Вступ

Птахівництво є однією з найбільш прогресивних галузей тваринництва і запорукою продовольчої безпеки країни (Burachek & Mykhailenko, 2018; Prokopyshyn, 2019; Brezvyin et al., 2021; Sobolev et al., 2021; Ostapyuk et al., 2021). Суттєве зростання попиту серед населення на індичатину робить індиківництво одним із найбільш конкурентоспроможних та економічно вигідних видів агробізнесу та сегментом птахівництва, що найбільш швидко розвивається (Zampiga et al., 2019). За даними ряду авторів – інвестиційна привабливість вирощування індиків щорічно зростає на 20–30 %, а рентабельність становить від 20 до 25 % (Mihajlenko, 2010; Kljuchnikova, 2017).

Попит споживачів, який забезпечує постійний ринок збуту, достатня кормова база, наявність трудових ресурсів та низка інших чинників стали передумовами трансформування вирощування індиків із дрібних присадибних підприємств у великі промислові комплекси. У таких господарствах зазвичай запроваджують інтенсивну технологію виробництва, яка передбачає безвигульне утримання індиків на глибокій підстилці у пташниках із автоматично регульованими параметрами мікроклімату і режимом освітлення (Sandoval et al., 1991; Anderson & Adams, 1992; Tymofieiev & Horbanov, 2019; Pankova, 2020; Liubenko & Levchenko, 2020).

Важливим показником, від якого безпосередньо залежить добробут, здоров'я птиці і економічний прибуток виробника, є щільність посадки (Beaulac & Schwean-Lardner, 2018; Studenok et al., 2021). У нашій державі встановлено норми щільності розміщення різних видів птиці на 1 м² площі, які затверджені Наказом Державного департаменту ветеринарної медицини Мінагрополітики України № 100 від 19.12.2006 р., що зареєстрований в Міністерстві юстиції України за № 42/13309 від 19 січня 2007 р. (Nakaz № 100, 2006). Проте досить часто виробники, які обмежені у виробничих площах, задля збільшення прибутку порушують встановлені санітарно-гігієнічні вимоги, збільшуючи кількість птиці на 1 м² площі. За даними (Ricke et al., 2022), збільшення кількості тварин чи птиці, які утримуються на обмеженій території, призводить до погіршення фізіологічного стану організму, зниження резистентності, а також є причиною виникнення та розвитку захворювань як інфекційної, так і незаразної етіології. На думку (Heidari & Toghyani, 2018; Goo et al., 2019; Jobe et al., 2019; Xiong et al., 2020), висока щільність посадки індиків може бути одним із етіологічних чинників утворення та розвитку у них “наминів” кіля, оскільки вона сприяє травматичному ушкодженню м'язової тканини, зокрема груднини. За швидкого темпу росту грудних м'язів, внаслідок одержаних травм, трапляються незворотні зміни, які мають серйозні негативні економічні наслідки для

виробників індичатини (Xi & Ahn, 2018; Kakhki et al., 2018; Iyalabani et al., 2019).

Саме тому, проведення досліджень спрямованих на визначення щільності посадки індиків, як можливого етіологічного чинника утворення та розвитку “наминів” кіля є актуальним.

Метою роботи було з’ясувати вплив щільності посадки на ураженість індиків “наминами” кіля.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено у ТОВ “Індикат” і ТОВ “УПГ-Інвест”, що в с. Кадубівці та с. Мамаївці Чернівецької області, а також МПП “Добробут” с. Берездівці Львівської області на індиках породи Біг-6. Усі експерименти проводили з дотриманням вимог “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1985) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001). В усіх господарствах птицю утримували у пташниках на глибокій підстилці. Перед заселенням птиці в усіх пташниках була проведена дезінфекція. Тривалість вирощування індиків становила 150 діб, а індичок – 90 діб. Для годівлі у господарства використовували комбікорми, які були виготовлені на комбікормових

заводах. Доступ до корму і води був вільним. Параметри мікроклімату, зокрема освітлення, температура, вологість і газовий склад повітря у всіх приміщеннях контролюються комп’ютерними програмами і відповідали нормі. Щільність посадки індиків різних вікових груп у дослідних господарствах була різною. Щоб встановити залежність кількості випадків ураження птиці “намином” кіля від щільності її посадки на 30, 60, 90, 120 і 150 доби вирощування проводили обстеження усього поголів’я, яке включало огляд і пальпацію груднини. На завершальних періодах вирощування як самок, так і самців кількість уражень визначали за результатами післязабійного огляду туш.

Результати та обговорення

У табл. 1 наведено результати дослідження щільності розміщення індиків різних вікових груп у пташниках дослідних господарств. Аналізуючи одержані дані, встановили, що у віковій групі до 30 діб щільність розміщення індиків не відповідала встановленим нормам у всіх дослідних господарствах. Зокрема, у ТОВ “Індикат” вона була більшою на 23,1 %, у ТОВ “УПГ-Інвест” – на 16,7 % та в МПП “Добробут” – на 30,2 %.

Таблиця 1

Щільність розміщення індиків у дослідних господарствах, птиці/м²

Вік птиці, діб	Норма	Господарства								
		ТОВ “Індикат”			ТОВ “УПГ-Інвест”			МПП “Добробут”		
		Самці	Самки	Разом	Самці	Самки	Разом	Самці	Самки	Разом
0–30	6,0	5,2	2,6	7,8	4,8	2,4	7,2	6,1	2,5	8,6
31–120	4,0	2,8	2,3	5,1	2,7	2,1	4,8	3,3	3,1	6,4
121–150	2,0	2,8	-	2,8	2,7	-	2,7	3,3	-	3,3

Більшою у вказаній віковій групі була також і кількість самців порівняно із кількістю самок. Так, у ТОВ “Індикат” та ТОВ “УПГ-Інвест” кількість самців від загальної кількості птиці становила 66,7 %, а самок – 33,3 %, а у МПП “Добробут” – відповідно 70,9 та 29,1 %.

Щільність посадки індиків у віковій групі від 31 до 120 доби в ТОВ “Індикат” перевищувала показник норми на 21,6 %, у ТОВ “УПГ-Інвест” – на 16,7 % і в МПП “Добробут” – на 37,5 %. Кількість самців у цій віковій групі в ТОВ “Індикат” становила 54,9 %, у ТОВ “УПГ-Інвест” – 56,3 % і в МПП “Добробут” – 51,6 %, а самок – відповідно 45,1, 43,7 та 48,4 %.

Відгодівля самок у господарствах триває до 13-тижневого віку. Як правило, починаючи із 91 до 121 доби усіх індичок відправляють на забій, оскільки до цього часу вони набирають максимальної маси тіла і подальше їх утримання є недоцільним. Проте навіть за умови зменшення кількості поголів’я птиці у господарствах за рахунок здачі на забій самок щільність

посадки самців у ТОВ “Індикат”, ТОВ “УПГ-Інвест” і МПП “Добробут” перевищувала регламентований показник норми, який для даної вікової групи становить 2 індиків на 1 м², відповідно на 0,8, 0,7 і 1,3 птиці/м², або на 28,6, 25,9 і 39,4 %.

Збільшення щільності посадки може бути одним із етіологічних чинників розвитку патології кіля у індиків. На [рисунку 1](#) показано результати дослідження ураженості індиків “наминами” у дослідних птахогосподарствах за період їх вирощування.

Із наведених вище даних видно, що у період від посадки поголів’я до 61 доби утримання формування “наминів” у індиків не було виявлено. Клінічно вказану патологію діагностували у період з 61 до 150 доби. Найменш ураженими, від 5,2 до 13,9 %, були птахи віком від 61 по 90 добу. У наступні вікові періоди ураженість індиків “наминами” кіля зростала і в період від 91 до 120 доби була в межах від 15,4 до 20,9 %, а з 121 по 150 добу – від 18,4 до 23,9 %.

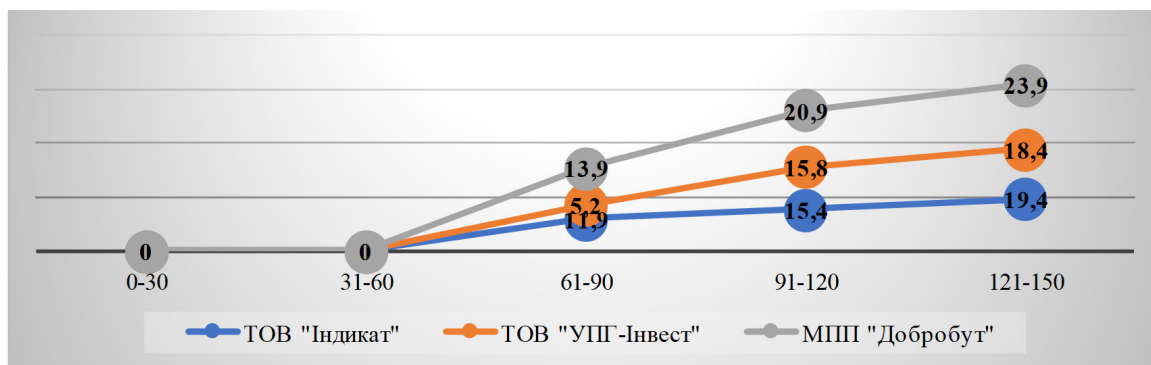


Рис. 1. Ураженість різновікових груп індиків "наминами" кіля у дослідних птахогосподарствах за період їх вирощування, %

Найменша ураженість індиків "наминами" була у ТОВ "УПГ-Інвест". Зокрема, в період від 61 до 90 доби вирощування ураженість становила 5,2 %, від 91 до 120 доби – 15,8 % і від 121 до 150 доби – 18,4 %. В ТОВ "Індикат" ураженість у вказані періоди дослідження була відповідно 11,9, 15,4 та 19,4 %, а найбільшу кількість індиків із вказаною патологією було виявлено у господарстві МПП "Добробут". Так, в період від 61 до 90 доби досліджуваний показник

становив 13,9 %, від 91 до 120 доби – 20,9 %, а від 121 до 150 доби – 23,9 %.

Із даних рисунку 2 встановлено, що у дослідних птахогосподарствах найбільша ураженість "наминами" кіля, яка становила 20,6 %, була у віковій групі від 121 до 150 доби, менша – 17,4 і 10,3 % відповідно з 91 до 120 та з 61 до 90 доби, а в період до 60 доби – дана патологія клінічно не проявлялася.

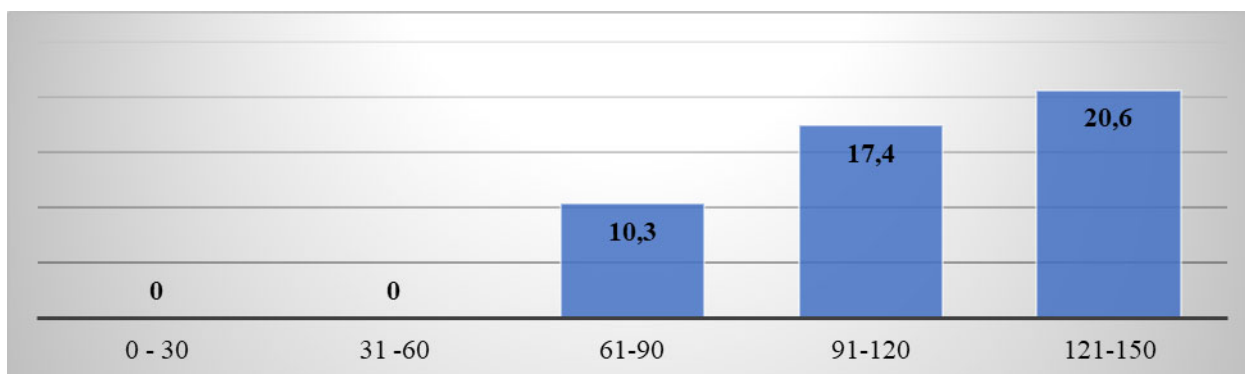


Рис. 2. Середня ураженість різновікових груп індиків "наминами" кіля у дослідних птахогосподарствах, %

На [рисунку 3](#) показано середню ураженість індиків "наминами" кіля у дослідних птахогосподарствах за період їх вирощування. З одержаних даних видно, що найменша ураженість була у господарстві ТОВ "УПГ-

Інвест", де щільність посадки незначно перевищувала максимально допустимі значення і становила – 13,1 %.

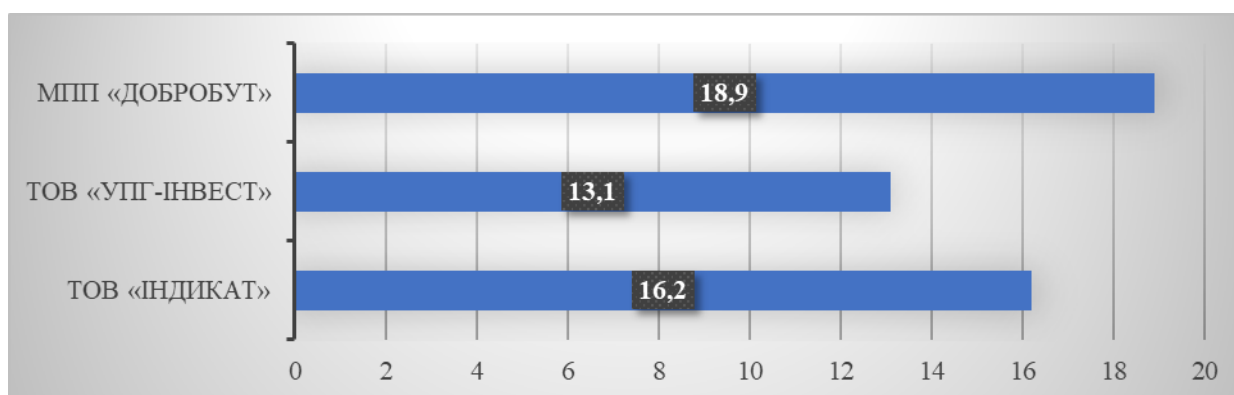


Рис. 3. Середня ураженість індиків "наминами" кіля за період їх вирощування у дослідних птахогосподарствах, %

Вищою на 3,1 %, порівняно із господарством ТОВ “УПГ-Інвест”, ураженість індиків була у господарстві ТОВ “Індикат” і найбільш ураженою (18,9 %) “наминами” кіля була птиця, яка утримувалася у господарстві МПП “Добробут”, в якому щільність її розміщення найбільше перевищувала встановлені санітарно-гігієнічні норми.

Отже, у всіх дослідних господарствах щільність розміщення птиці була більшою за встановлені санітарно-гігієнічні норми. Найменше відхилення від регламентованих показників – у межах від 16,7 до 37,5 % – в усіх вікових групах було у господарстві ТОВ “УПГ-Інвест”, а найбільше – від 30,2 до 39,4 % – у МПП “Добробут”. Патологія кіля в індиків у вигляді “наминів” клінічно проявлялася з 61 доби їх вирощування. Найменша ураженість, яка становила від 5,2 до 13,9 %, була віковій групі 61–90 діб, з віком зростала і в період від 91 до 120 доби була в межах від 15,4 до 20,9 %, а з 121 по 150 добу – від 18,4 до 23,9 %. За таких показників середня ураженість вказаних вікових груп у дослідних птахогосподарствах становила відповідно 10,3, 17,4 та 20,6 %. Найменш ураженою (13,1 %) була птиця у ТОВ “УПГ-Інвест”, де щільність посадки перевищувала максимально допустимі значення лише на 0,7–1,2 птиці/м², а найбільше (18,9 %) – у господарстві МПП “Добробут”, в якому щільність розміщення була більшою за встановлені санітарно-гігієнічні норми на 1,3–2,6 птиці/м².

Висновки

1. У всіх дослідних господарствах щільність розміщення птиці була більшою за встановлені санітарно-гігієнічні норми. Найменше відхилення від регламентованих показників – у межах від 16,7 до 37,5 % – в усіх вікових групах було у господарстві ТОВ “УПГ-Інвест”, а найбільше – від 30,2 до 39,4 % – у МПП “Добробут”.

2. Патологія кіля в індиків у вигляді “наминів” клінічно проявлялася з 61 доби їх вирощування. Найменша ураженість, яка становила від 5,2 до 13,9 %, була віковій групі 61–90 діб, з віком зростала і в період від 91 до 120 доби була в межах від 15,4 до 20,9 %, а з 121 по 150 добу – від 18,4 до 23,9 %.

3. Середня ураженість вказаних вікових груп у дослідних птахогосподарствах становила відповідно 10,3, 17,4 та 20,6 %. Найменш ураженою (13,1 %) була птиця у ТОВ “УПГ-Інвест”, де щільність посадки перевищувала максимально допустимі значення лише на 0,7–1,2 птиці/м², а найбільше (18,9 %) – у господарстві МПП “Добробут”, в якому щільність розміщення була більшою за встановлені санітарно-гігієнічні норми на 1,3–2,6 птиці/м².

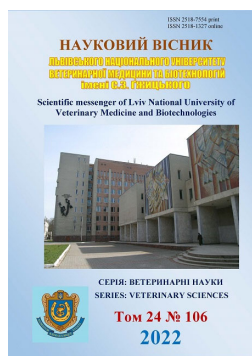
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Anderson, K. E., & Adams, A. W. (1992). Effects of Rearing Density and Feeder and Waterer Spaces on the Productivity and Fearful Behavior of Layers. *Poultry Science*, 71(1), 53–58. DOI: 10.3382/ps.0710053.
- Beaulac, K., & Schwan-Lardner, K. (2018). Assessing the effects of stocking density on turkey tom health and welfare to 16 weeks of age. *Front. Vet. Sci.*, 5, 213. DOI: 10.3389/fvets.2018.00213.
- Brezvyn, O. M., Guta, Z. A., Gutyj, B. V., Fijalovych, L. M., Karpovskyi, 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.
- Burachek, I. V., & Mykhailenko, N. V. (2018). Suchasnyi stan ta perspektyvni napriamy rozvytku silskoho hospodarstva v Ukraini. *Hlobalni ta natsionalni problemy ekonomiky*, 21, 134–137. URL: <http://global-national.in.ua/archive/21-2018/27.pdf> (in Ukrainian).
- Goo, D., Kim, J. H., Choi, H. S., Park, G. H., Han, G. P., & Kil, D. Y. (2019). Effect of stocking density and sex on growth performance, meat quality, and intestinal barrier function in broiler chickens. *Poultry Sci.*, 98(3), 1153–1160. DOI: 10.3382/ps/pey491.
- Heidari, S., & Toghyani, M. (2018). Effect of stocking density and methionine levels on growth performance and immunity of broiler chicks. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.*, 8, 483–489. URL: http://ijas.iaurasht.ac.ir/article_542688.html.
- Iyalabani, K. A., Oniya, O. O., Osunade, J. A., & Olaniran, J. A. (2019). Effects of floor space area in battery cages on the bird weight and egg production of olympia black layers. *Innovative Systems Design and Engineering*, 10(7), 40–47. DOI: 10.7176/isde/10-7-05.
- Jobe, M. C., Ncobela, C. N., Kunene, N. W., & Opoku, A. R. (2019). Effects of Cassia abbreviata extract and stocking density on growth performance, oxidative stress and liver function of indigenous chickens. *Trop. Anim. Health Pro.*, 51, 2567–2574. DOI: 10.1007/s11250-019-01979-y.
- Kakhki, R. A. M., Bakhshalinejad, R., Anderson, K. E., & Golian, A. (2018). Effect of High and Low Stocking Density on Age of Maturity, Egg Production, Egg Size Distribution in White and Brown Layer Hens: A Metaanalysis. *Poult. Sci. J.*, 6(1), 71–87. DOI: 10.22069/psj.2018.14112.1292.
- Kljuchnikova, N. (2017). Al'ternativa na indjushinom biznese. *AgroPortal.ua* URL: <https://agroportal.ua/ru/publishing/analitika/alternativa-na-indyushinom-biznese> (in Russian).
- Liubenko, O. I., & Levchenko, I. S. (2020). Doslidzhennia vplyvu shchilnosti posadky ta frontu hodivli na povedinku kurei promyslovoho stada. *Tavriiskyi naukovyi visnyk*, 111, 199–204. DOI: 10.32851/2226-0099.2020.111.27 (in Ukrainian).
- Mihajlenko, V. (2010). Analiz ukrainskogo rynku kombikormov. *Agentstvo Promyshlennyh Novostej*.

- URL: <https://docplayer.com/60035371-Analiz-ukrainskogo-rynka-kombikormov.html> (in Russian).
- Nakaz №100 (2006). Pro zatverdzhennia Veterynarno-sanitarnykh vymoh utrymannia ptytsi v osobystykh selianskykh hospodarstvakh. Ministerstvo Ahranoi Polityky Ukrainy. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0042-07#Text> (in Ukrainian).
- Ostapyuk, A. Y., Holubieva, T. A., Gutyj, B. V., Slobodian, S. O. (2021). The effect of sylimevit, metifen, and milk thistle on the intensity of the processes of peroxidation of lipids in the body of laying hens in experimental chronic cadmium toxicosis. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(4), 57–63. DOI: 10.15421/2021_199.
- Pankova, S. M. (2020). Vplyv shchilnosti posadky na nesuchist, zberezhenist i efektyvnist vykorystannia kurei-nesuchok v klitkovykh batareiakh. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten Instytutu tvarynnystva NAAN*, 124, 123–134 (in Ukrainian).
- Prokopyshyn, O. S. (2019). Pidvyshchennia ekonomichnoi efektyvnosti pidpriemstv ptakhivnytstva. *Ukrainskyi zhurnal prykladnoi ekonomiky*, 4(3), 8–16. DOI: 10.36887/2415-8453-2019-3-1 (in Ukrainian).
- Ricke, S. C., Dittoe, D. K., Tarcin, A. A., & Rothrock Jr, M. J. (2022). Communicating the utility of the microbiome and bioinformatics to small flock poultry producers. *Poultry Science*, 101(5), 101788. DOI: 10.1016/j.psj.2022.101788.
- Sandoval, M., Miles, R. D., & Jacobs, R. D. (1991). Cage space and house temperature gradient effects on performance of White Leghorn hens. *Poultry Science*, 70(1), 103.
- 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.
- Studenok, A. A., Shnurenko, E. O., Karpovskiy, V. I., Trokoz, V. O. & Gutyj, B. V. (2021). Indicators of protein metabolism and intensity of lipid peroxide oxidation in chickens with different vegetative status. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 23(102), 110–118. DOI: 10.32718/nvlvet10217.
- Tymofieiev, V. M., & Horbanov, A. P. (2019). Vplyv shchilnosti posadky kurchat bloileriv na efektyvnist vidhodivli. *Visnyk Kharkivskoho natsionalnoho tekhnichnoho universytetu silskoho hospodarstva imeni Petra Vasylenka*, 199, 296–299. URL: <http://dspace.khntusg.com.ua/handle/123456789/10538> (in Ukrainian).
- Xi, H., & Ahn, D. U. (2018). The Incidence of Muscle Abnormalities in Broiler Breast Meat. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 38(5), 835–850. DOI: 10.5851/kosfa.2018.e2.
- Xiong, X., Yang, Y., Jiang, X., Yu, C., Peng, H., Chen, J., Xia, B., Du, H., Li, Q., Zhang, Z., Yang, L., Qiu, M., Hu, C., Song, X., Yan, H., & Yang, C. (2020). Effects of stocking density on performance, egg quality, reproductive hormones, and antioxidant capacity in egg-laying ducks. *J. Appl. Anim. Res.*, 48, 454–459. DOI: 10.1080/09712119.2020.1824919.
- Zampiga, M., Tavaniello, S., Soglia, F. et al. (2019). Comparison of 2 commercial turkey hybrids: productivity, occurrence of breast myopathies, and meat quality properties. *Poultry science*, 98(5), 2305–2315. DOI: 10.3382/ps/pey607.



**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

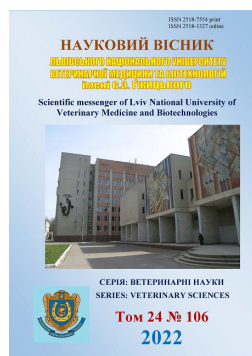
doi: 10.32718/nvlvet106

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

Зміст

1. **Фотіна Т. І., Шкромада О. І., Березовський А. В., Петров Р. В., Фотіна Г. А., Нечипоренко О. Л., Фотін А. І.**
Розробка методів профілактики криптоспоридіозу телят 3
2. **Артеменко Л. П., Соловйова Л. М., Селих І. П., Лігоміна І. П., Соколюк В. М.**
Трихінельоз в Україні – епізоотологічна ситуація, профілактика та заходи боротьби (2015–2020) 10
3. **Малімон З., Винокурова Т., Салата В., Кочетова Г., Прокопенко Т., Гусак Л.**
Контроль якості вимірювань альфа-, бета-лічильника з низьким фоном ALBA 2000 v.2.5.6... 18
4. **Богатко А. Ф.**
Ідентифікація свіжості м'яса курчат-бройлерів за розробленими експресними методиками .. 22
5. **Слепокура О. І., Коломієць І. А., Гармата Л. С., Колотницький В. А., Камрацька О. І.**
Вплив добавки мікробного походження на кількість домінуючих мікросимбіонтів
кишечнику поросят за дії стресу-відлучення 29
6. **Гунчак В. М., Солтис М. П., Гутий Б. В., Гунчак А. В., Васів Р. О., Харів І. І.**
Динаміка окремих біохімічних показників крові інтактних білих мишей за дії препарату
“Вітосепт” 34
7. **Сластьон Д. С.**
Виробничі дослідження експериментального дезінфікуючого засобу “Суходез” 43
8. **Лахман А. Р., Галатюк О. Є., Романишина Т. О., Бегас В. Л.**
Епізоотична ситуація щодо контагіозних хвороб бджіл у Північно-Західному регіоні України ... 49
9. **Слободян С. О., Гутий Б. В., Шаловило С. Г., Головач П. І., Павлів О. В., Калин Б. М., Куртяк Б. М., Гачак Ю. Р., Мартишук Т. В., Демус Н. В., Шнайдер В. Л.**
Вплив кормової добавки “Метісвіт плюс” на морфологічні та біохімічні показники крові
бугайців за умов свинцево-кадмієвого навантаження 54
10. **Стефанік О. В., Слівінська Л. Г.**
Терапевтична ефективність препарату “Омепразол” за синдрому виразки шлунка у коней ... 62
11. **Чечет О. М., Карпуленко М. С., Корнієнко Л. Є., Уховський В. В., Мороз О. А., Гайдей О. С., Гутий Б. В., Крушельницька О. В.**
Епізоотологічний аналіз розповсюдження сальмонельозу птиці на території України за 2012–
2021 роки 68
12. **Туль О. І., Киричко Б. П., Панасова Т. Г.**
Сучасні технології зберігання сперми свійських тварин без додавання антибіотиків 74
13. **Радзиховський М. Л., Гутий Б. В., Дишкант О. В., Сокульський І. М., Антонюк А. А.**
Патоморфологічні зміни у шлунку та товстому відділі кишечника за кишкової форми
парвовірусного ентериту собак 81
14. **Шевченко С. М., Рубленко М. В.**
Клініко-рентгенологічне та патохімічне обґрунтування остеозаміщення гідроксиапатитною
керамікою з β -трикальційфосфатом та аутофібрином, збагаченим тромбоцитами, за
осколкових переломів кісток у собак 87

15. Сушко М. І., Мандигра С. С., Чечет О. М., Сапачова М. А., Гайдей О. С., Мовчун О. М., Скороход А. О., Посна О. В., Зарицька Я. М., Гутий Б. В., Крушельницька О. В. Епізоотична ситуація щодо грипу птиці в Україні впродовж 2020–2021 років	97
16. Карасенко А. Ю., Передера С. Б. Порівняльна характеристика чутливості птиці до збудників аспергільозу	103
17. Петькун Г. В., Недосєков В. В. Аналіз законодавства ЄС та України у сфері благополуччя великої рогатої худоби	108
18. Грищук І. А., Карповський В. І., Журенко О. В., Криворучко Д. І., Гутий Б. В. Вміст насичених жирних кислот у плазмі крові корів у зимовий період залежно від автономної нервової регуляції	114
19. Конопелько А. В., Лясота В. П. Забійний стан, безпечність та якість продуктів забою індиків м'ясного напрямку продуктивності при застосуванні пребіотичного препарату Актиген	119
20. Чечет О. М., Гайдей О. С., Андріяшук В. О., Горбатюк О. І., Коваленко В. Л., Мусієць І. В., Ординська Д. О., Скляр В. В., Гутий Б. В., Крушельницька О. В. Результати моніторингових досліджень зразків сліпої кишки з вмістом від тварин щодо протимікробної резистентності за 2021 рік	128
21. Гунько О. А., Фотіна Т. І. Визначення параметрів гострої токсичності протипротозойного препарату “Авізурил”	136
22. Демків О. М., Стасюк Н. Є., Гайда Г. З., Гринчишин Н. М., Новікевич О. Т., Демчук О. Г., Гончар М. В. Новий спектрофотометричний метод за використання лакказних нанозимів для аналізу адреналіну в фармацевтичних препаратах	142
23. Тодосюк Т. П., Рубленко М. В., Власенко В. М., Ульянович Н. В. Рентгено-макротомологічна і біохімічна оцінка консолідації переломів довгих трубчастих кісток в умовах остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за остеопору в кролів	149
24. Курбацька О. В., Орбченко О. Л. Токсикологічна оцінка кормів із різними рівнями важких металів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів <i>Photobacterium phosphoreum</i>	158
25. Караванський М. О., Рудь В. О., Тарасенко Л. О. Зміни біохімічних показників крові високопродуктивних корів за субклінічного кетозу та його вплив на молочну продуктивність	168
26. Фріштак О. М., Кориляк М. З., Добрянська О. П. Антиоксидантний статус риб при запаленні плавального міхура у цьоголіток коропа	172
27. Труба О. О., Зон Г. А., Івановська Л. Б. Ретроспективні дослідження за кишкового ієрсиніозу котів у Чернігівській області	177
28. Фединак Р. І., Пеленьо Р. А. Щільність посадки, як можливий етіологічний чинник розвитку “намивів” кіля у індиків ...	186



**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/nvlvet106
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

Content

1. **Fotina T. I., Shkromada O. I., Berezovskyi A. V., Petrov R. V., Fotina H. A., Nechyporenko O. L., Fotin A. I.**
Development of methods for prevention of cryptosporidiosis of calves 3
2. **Artemenko L. P., Soloviova L. M., Selykh I. P., Ligomina I. P., Sokoliuk V. M.**
Trichinosis in Ukraine – epizootological situation, prevention and control (2015–2020) 10
3. **Malimon Z., Vinokurova T., Salata V., Kochetova H., Prokopenko T., Gusak L.**
Control quality measurements of alpha and beta counter with low background ALBA 2000 v.2.5.6. 18
4. **Bogatko A. F.**
Identification of freshness of chicken-broiler meat according to developed express methods 22
5. **Slepokura O. I., Kolomiets I. A., Garmata L. S., Kolotnytskyi V. A., Kamratska O. I.**
Influence of microbial additive on the number of dominant intestinal microorganisms of piggies under action of stress weaning 29
6. **Hunchak V. M., Soltys M. P., Gutyj B. V., Hunchak A. V., Vasiv R. O., Khariv I. I.**
Dynamics of individual biochemical parameters of blood of intact white mice under the action of the drug “Vitosept” 34
7. **Slaston D. S.**
Production research of experimental disinfectant “Sukhodes” 43
8. **Lakhman A. R., Galatiuk O. Ye., Romanishina T. A., Behas V. L.**
Epizootic situation with contagious diseases of bees in the North-West regions of Ukraine 49
9. **Slobodian S. O., Gutyj B. V., Shalovylo S. H., Holovach P. I., Pavliv O. V., Kalyn B. M., Kurtyak B. M., Hachak Yu. R., Martyshuk T. V., Demus N. V., Shnaider V. L.**
Influence of “Metisevit Plus” feed additive on morphological and biochemical parameters of bull blood under conditions of lead-cadmium loading 54
10. **Stefanyk O., Slivinska L.**
Therapeutic efficacy of “Omeprazole” in horses with equine gastric ulcer syndrome 62
11. **Chechet O. M., Karpulenko M. S., Korniienko L. Ye., Ukhovskiy V. V., Moroz O. A., Haidei O. S., Gutyj B. V., Krushelnyska O. V.**
Epizootological analysis of the prevalence of salmonellosis in poultry in Ukraine in 2012–2021 ... 68
12. **Tul O., Kyrychko B., Panasova T.**
Modern technologies for storing semen of domestic animals without the addition of antibiotics ... 74
13. **Radzykhovskiy M., Gutyj B., Dyshkant O., Sokulsky I., Antoniuk A.**
Pathomorphological changes of the stomach and intestinum crassum in the intestinal form of parvoviral enteritis in dogs 81
14. **Shevchenko S. M., Rublenko M. V.**
Clinical, radiological and pathochemical substantiation of osteosubstitution by hydroxyapatite ceramics with β -tricalcium phosphate and platelet-enriched autofibrin in fragmentary bone fractures in dogs 87
15. **Sushko M. I., Mandyhra S. S., Chechet O. M., Sapachova M. A., Haidei O. S., Movchun O. M., Skorokhod A. O., Posna O. V., Zarytska Y. M., Gutyj B. V., Krushelnyska O. V.**
Epidemiological situation of Avian Influenza in Ukraine during 2020–2021 97

16.	Karasenko A. Y., Peredera S. B. Comparative characteristics of the sensitivity of the bird to aspergillosis pathogens	103
17.	Petkun H. V., Nedosekov V. V. Analysis of EU and Ukrainian legislation for the cattle welfare	108
18.	Hryshchuk I. A., Karpovskiy V. I., Zhurenko O. V., Kryvoruchko D. I., Gutyj B. V. The content of saturated fatty acids in the blood plasma of cows in the winter period depends on autonomic nervous regulation	114
19.	Konopelko A. V., Lyasota V. P. Slaughter condition, safety and quality of slaughter products of turkeys of meat productivity in the use of prebiotic drug Actigen	119
20.	Chechet O. M., Haidei O. S., Andriashchuk V. O., Horbatiuk O. I., Kovalenko V. L., Musiiets I. V., Ordynska D. O., Skliar V. V., Gutyj B. V., Krushelnytska O. V. Results of monitoring studies of caecal samples with animal contents for antimicrobial resistance in 2021	128
21.	Hunko O. A., Fotina T. I. Determination of acute toxicity of antiprotozoal drug "Avizuril"	136
22.	Demkiv O. M., Stasyuk N. Ye., Gayda G. Z., Grynychshyn N. M., Novikevuch O. T., Demchuk O. G., Gonchar M. V. A new spectrophotometric method analysis of adrenaline in pharmaceuticals based on laccase-like nanozymes	142
23.	Todosiuk T. P., Rublenko M.V., Vlasenko V. M., Ulanchych N. V. X-ray macromorphological and biochemical assessment of consolidation of fractures of long tubular bones under conditions of osteoreplacement with calcium-phosphate ceramics doped with germanium for osteoporosis in rabbits	149
24.	Kurbatska O. V., Orobchenko O. L. Toxicological evaluation of feeds with different levels of heavy metals using luminescent microorganisms <i>Photobacterium phosphoreum</i>	158
25.	Karavansky M. O., Rud V. O., Tarasenko L. O. Changes of biochemical indexes of blood of high-performance cows are at subclinical ketosis and its effect on milk productivity	168
26.	Frishtak O., Koryliak M., Dobrianska O. Antioxidant status of fish with inflammation of the swim bladder in yearling carp	172
27.	Truba O. O., Zon G. A., Ivanovska L. B. Retrospective studies of intestinal yersiniosis in cats in the Chernihiv region	177
28.	Fedyniak R. I., Peleno R. A. Stocking density as a possible etiological factor in the development of keel "bubbles" in turkeys ..	186

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 № 106

Підписано до друку 28.06.2022. Формат 60x84/8
Гарн. Times New Roman. Папір офсетний № 1. Ум. друк. арк. 22,79
Наклад 300 прим. Зам. № 28/06.

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