

ISSN 0321-0502

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

**НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР
«ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ
І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ»**

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

**МІЖВІДОМЧИЙ
ТЕМАТИЧНИЙ
НАУКОВИЙ
ЗБІРНИК**

108

**ХАРКІВ
2022**

УДК 619:60/61:636/639:57(051.2)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Головний редактор: **Стегній Б. Т.**, проф., акад. НААН (Україна)

Заступник головного редактора: **Завгородній А. І.**, д-р вет. наук, проф., член-кор. НААН (Україна)

Відповідальний секретар: **Вовк Д. В.** (Україна)

ЧЛЕНИ РЕДАКЦІЙНОЇ КОЛЕГІЇ

Богач М. В., д-р вет. наук, проф. (Україна), **Болотін В. І.**, канд. вет. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Бусол В. О.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Вільчек С.**, д-р вет. наук, проф. (Словаччина), **Влізло В. В.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Вовк С. І.**, канд. вет. наук (Україна), **Вольфель Р.**, д-р мед. наук, проф., полк-к ВМ (Німеччина), **Гамкрелідзе А.**, д-р мед. наук, проф. (Грузія), **Гладій М. В.**, д-р екон. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Головко А. М.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Горайчук І. В.**, канд. біол. наук (США), **Горбатенко С. К.**, канд. вет. наук, доц. (Україна), **Долецький С. П.**, д-р вет. наук, доц. (Україна), **Жегунов Г. Ф.**, д-р біол. наук, проф. (Україна), **Задорожна В. І.**, д-р мед. наук, проф., член-кор. НААН (Україна), **Ільмаз Х.**, д-р вет. наук, проф. (Туреччина), **Імнадзе П.**, д-р мед. наук, проф. (Грузія), **Калашнік М. В.**, канд. вет. наук (Україна), **Коваленко Л. В.**, канд. біол. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Корнейков О. М.**, канд. вет. наук (Україна), **Коцюмбас І. Я.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Кузьмак Я.**, д-р вет. наук, проф. (Польща), **Лиманська О. Ю.**, д-р біол. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Мазуркевич А. І.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Мандигра М. С.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Мінухін В. В.**, д-р мед. наук, проф. (Україна), **Музика Д. В.**, д-р вет. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Немчук К.**, д-р вет. наук, проф. (Польща), **Оробченко О. Л.**, д-р вет. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Палій А. П.**, д-р вет. наук, проф. (Україна), **Поляк М. П.**, д-р вет. наук, проф. (Польща), **Потконьяк А.**, д-р вет. наук, доц. (Сербія), **Ріхт Ю.**, д-р вет. наук, проф. (США), **Романько М. Є.**, д-р біол. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Сметанка К.**, д-р вет. наук, проф. (Польща), **Солодянкін О. С.**, канд. біол. наук (Україна), **Співак М. Я.**, д-р біол. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Стегній М. Ю.**, канд. біол. наук, доц. (Україна), **Стибель В. В.**, д-р вет. наук, проф. (Україна), **Ушкалов В. О.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Фещенко Ю. І.**, д-р мед. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Філатов С. В.**, канд. вет. наук (Україна), **Фотіна Т. І.**, д-р вет. наук, проф. (Україна), **Цвіліховський М. І.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Чорний М. В.**, д-р вет. наук, проф. (Україна)

Міжвідомчий тематичний науковий збірник «Ветеринарна медицина» входить до категорії «Б» «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та доктора філософії» у галузях ветеринарних (спеціальності 211 — Ветеринарна медицина, 212 — Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза) і біологічних (спеціальність 91 — біологія) наук (наказ Міністерства освіти і науки України № 886 від 02.07.2020 р.).

Повні тексти статей розміщені на сайтах: видання (jvm.kharkov.ua), Національної бібліотеки України ім. В. І. Вернадського (nbuv.gov.ua/j-tit/vetmed) та індексуються у Google Scholar.

Затверджено до друку Вченою радою Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (протокол № 14 від 22.12.2022 р.).

Адреса редакційної колегії:

ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»
вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023, Україна
тел. +38 (057) 707-20-53; тел./факс +38 (057) 704-10-90
E-mail: admin@vet.kharkov.ua, inform@vet.kharkov.ua

ISSN 0321-0502

© ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», 2022

ISSN 0321-0502

NATIONAL ACADEMY OF AGRARIAN SCIENCES OF UKRAINE

**NATIONAL SCIENTIFIC CENTER
«INSTITUTE OF EXPERIMENTAL
AND CLINICAL VETERINARY MEDICINE»**

VETERINARY MEDICINE

**INTER-DEPARTMENTAL
SUBJECT
SCIENTIFIC
COLLECTION**

108

**KHARKIV
2022**

UDC 619:60/61:636/639:57(051.2)

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief: **Stegniy B. T.**, Prof., Academician of NAAS (Ukraine)

Vice Editor-in-Chief: **Zavgorodniy A. I.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof.,
Cor.-member of NAAS (Ukraine)

Responsible Secretary: **Vovk D. V.** (Ukraine)

EDITORIAL BOARD MEMBERS

Bogach M. V., Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Ukraine), **Bolotin V. I.**, Cand. Sci. (Vet. Med.), Senior Researcher (Ukraine), **Busol V. O.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Chorny M. V.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Ukraine), **Doletskyi S. P.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Assoc. Prof. (Ukraine), **Feshchenko Yu. I.**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of NAMS (Ukraine), **Filatov S. V.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Fotina T. I.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Ukraine), **Gamkrelidze A.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Georgia), **Gladiv M. V.**, Dr. Sci. (Econ.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Golovko A. M.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Goraichuk I. V.**, Cand. Sci. (Biol.) (USA), **Gorbatenko S. K.**, Cand. Sci. (Vet. Med.), Assoc. Prof. (Ukraine), **Imnadze P.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Georgia), **Kalashnik M. V.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Korneikov O. M.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Kotsiumbas I. Ya.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Kovalenko L. V.**, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher (Ukraine), **Kuźmak J.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Poland), **Lymanska O. Yu.**, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher (Ukraine), **Mandygra M. S.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Mazurkevych A. Yo.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Minukhin V. V.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Ukraine), **Muzyka D. V.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Senior Researcher (Ukraine), **Niemczuk K.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Poland), **Orobchenko O. L.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Senior Researcher (Ukraine), **Paliy A. P.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Ukraine), **Polak M. P.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Poland), **Potkonjak A.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Assoc. Prof. (Serbia), **Richt J.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (USA), **Romanko M. Ye.**, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher (Ukraine), **Śmietanka K.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Poland), **Solodiankin O. S.**, Cand. Sci. (Biol.) (Ukraine), **Spivak M. Ya.**, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Academician of NAS (Ukraine), **Stegniy M. Yu.**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof. (Ukraine), **Stybel V. V.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Ukraine), **Tsvilikhovsky M. I.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Ushkalov V. O.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Vilcek S.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Slovakia), **Vlizo V. V.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Vovk S. I.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Wölfel R.**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Colonel (MC) (Germany), **Yilmaz H.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Turkey), **Zadorozhna V. I.**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Cor.-member of NAMS (Ukraine), **Zhegunov G. F.**, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Ukraine)

Inter-departmental subject scientific collection 'Veterinary Medicine' included in the category 'B' of the 'List of scientific professional editions of Ukraine, which can be published results of dissertations for degrees of Doctor of Sciences, Candidate of Sciences, and Doctor of Philosophy' in the fields of veterinary (specialities 211 — Veterinary Medicine, 212 — Veterinary Hygiene, Sanitation and Expertise) and biological (speciality 091 — Biology) sciences (Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine No. 886 from 02.07.2020).

The full text of articles posted on websites of: the edition (jvm.kharkov.ua), the Vernadsky National Library of Ukraine (nbuv.gov.ua/j-tit/vetmed), and indexed in Google Scholar.

Publication authorized by the Scientific Council of the National Scientific Center 'Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine' (protocol No. 14 from 22.12.2022).

Editorial Board Address:

NSC 'Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine'
83, Pushkinska St., Kharkiv, 61023, Ukraine
tel. +38 (057) 707-20-53; tel./fax +38 (057) 704-10-90
E-mail: admin@vet.kharkov.ua, inform@vet.kharkov.ua

ISSN 0321-0502

© NSC 'Institute of Experimental
and Clinical Veterinary Medicine', 2022

1. ПРОБЛЕМИ БІОБЕЗПЕКИ ТА БІОЗАХИСТУ. ЕМЕРДЖЕНТНІ ІНФЕКЦІЇ

УДК 619:616:608.3:331.4:341.29:006

DOI 10.36016/VM-2022-108-1

СИСТЕМА ЛАБОРАТОРНОЇ БІОБЕЗПЕКИ І БІОЗАХИСТУ: ГАРМОНІЗАЦІЇ НОРМАТИВНО-ДОКУМЕНТАЛЬНОЇ БАЗИ З ВИМОГАМИ ЄС ТА МЄБ

Стегній Б. Т., Герілович А. П., Герілович І. О., Пешенко К. Л.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: antira@ukr.net

Метою роботи було провести аналіз національних і міжнародних нормативних документів у галузі біологічної безпеки та біологічного захисту для гармонізації нормативних документів системи з управління питаннями біологічної безпеки. Матеріалами для аналізу були міжнародні та національні нормативні документи з питань біологічної безпеки та біологічного захисту в умовах роботи мікробіологічних лабораторій. Проведено аналіз міжнародних та національних нормативно-правових документів з питань біологічної безпеки та біологічного захисту в умовах роботи мікробіологічних лабораторій та запропоновано схему створення системи управління питаннями біологічної безпеки в науково-дослідних і/або діагностичних лабораторіях, яка передбачає впровадження ризик орієнтованого підходу, розробку та гармонізацію до вимог ЄС і МЄБ політик і нормативних документів з метою забезпечення належного рівня біобезпеки при проведенні випробувань. Питання біологічної безпеки та біологічного захисту і гармонізації нормативно-документальної бази з їх урегулювання та контролю до вимог ЄС на сьогодні є дуже актуальними для України, яка стала кандидатом на вступ у Європейський союз. У той же час ризик орієнтований підхід до системи біологічної безпеки та біологічного захисту є новим для українських лабораторій, тож вимагає часу як для гармонізації нормативної бази на державному рівні, так і для розробки інституційних документів та зусиль для їх впровадження у практику, що має відбуватись вже зараз

Ключові слова: біологічна безпека, біологічний захист, Україна

У залежності від сфери застосування тлумачення термінів «біологічна безпека» та «біологічний захист» досить різноманітне [1]. Проте у контексті лабораторної діяльності біологічна безпека — це принципи, технології та практики, які впроваджуються для запобігання професійним інфекціям, а також ненавмисному вивільненню та поширенню патогенів і токсинів у довкіллі. Лабораторний біологічний захист розглядається, як захист, контроль та звітність щодо обігу цінних біологічних матеріалів у лабораторії для запобігання несанкціонованого доступу до них, їх втрати, крадіжки, неправильного використання, диверсії або ненавмисного вивільнення та поширення [2, 3].

Проблема розроблення та впровадження нових систем і технологій біологічної безпеки і біологічного захисту завжди була вагомою для практики науково-дослідних і діагностичних лабораторій ветеринарного, медичного та біологічного профілю. Співробітники саме цих установ у своїй рутинній праці мають справу з великою кількістю біологічних об'єктів: лабораторні тварини; кров та інші біологічні рідини й тканини; бактерії, віруси, мікроскопічні гриби, паразити та продукти їх життєдіяльності; клітинні лінії різного походження та деякі нуклеїнові кислоти тощо. Робота з кожним з цих об'єктів несе в собі потенційну небезпеку як для дослідника, так і для оточуючого середовища. Очевидно, що ця небезпека має бути зведена до мінімуму. Питання визначення та оцінки біологічних ризиків, а також розробки засобів і заходів з їх зменшення як раз і розглядаються в межах біологічної безпеки та біологічного захисту [3–7].

Наразі сьогодні, коли Україна стала кандидатом на вступ у Європейський союз, а також в умовах широкомасштабного вторгнення Росії, питання біологічної безпеки та біологічного

захисту і гармонізації нормативно-документальної бази з їх урегулювання та контролю до вимог ЄС стають ще більш нагальними та актуальними.

Метою роботи було провести аналіз національних і міжнародних нормативних документів у галузі біологічної безпеки та біологічного захисту для гармонізації нормативних документів системи з управління питаннями біологічної безпеки.

Матеріали та методи. Матеріалами для аналізу були міжнародні та національні нормативні документи з питань біологічної безпеки та біологічного захисту в умовах роботи мікробіологічних лабораторій.

Сьогодні в Україні на загальнонаціональному рівні регулювання питань біологічної безпеки і біологічного захисту здійснюється згідно з наступними нормативно-правовими документами: Рішення Ради національної безпеки і оборони України «Про біологічну безпеку України» (введено в дію Указом Президента № 220/2009 від 06.04.2009 р.); Закон України «Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення» (Постанова ВР № 4005-XII від 24.02.94, поточна редакція від 16.10.2020); Закон України «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів» (Постанова ВР № 1103-V від 31.05.2007, поточна редакція від 16.10.2020), Закон України «Про державний контроль за міжнародними передачами товарів військового призначення та подвійного використання» (Постанова ВР № 549-IV від 20.02.2003, поточна редакція від 23.10.2020) тощо.

Якщо ж мова йде про організацію безпечної роботи з біологічними об'єктами безпосередньо в лабораторіях, то тут на передній план виступають Державні санітарні правила і норми такі, як: ДСП 9.9.5-080-02 Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю; ДСП 9.9.5.035-99 Безпека роботи з мікроорганізмами I–II груп патогенності; ДСанПіН 9.9.5-153-08 Організація роботи лабораторій при дослідженні матеріалу, що містить біологічні агенти молекулярно-генетичними методами.

У світовій практиці основним документом, що визначає правила і норми в області біобезпеки є четверте видання Керівництва ВООЗ з біологічної безпеки в лабораторних умовах (2020) [2]. Окрім того, існує ряд інших нормативних документів, міжнародних стандартів і керівництв [8, 9] на базі яких з метою забезпечення дієвості системи кожна держава розробляє національні стандарти. Їх постійну перевірку та вдосконалення забезпечують національні референс-лабораторії, які тісно співпрацюють з міжнародними референс-центрами, узагальнюючи та перевіряючи ефективність своїх напрацювань у галузях контролю хвороб тварин та біобезпеки.

Результати досліджень. Відмітимо, що принциповим фактором, на якому побудована система організації норм і правил біологічної безпеки та біологічного захисту, як у державах ЄС, США та Канаді, так і в Україні, є патогенність мікроорганізмів, з якими проводиться робота в лабораторних умовах. Саме від характеру джерела потенційного ризику безпосередньо залежать вимоги до облаштування лабораторії та основних параметрів роботи з патогенами, що є об'єктами або інструментами дослідження. Проте на сьогоднішній день можуть виникати непорозуміння в наслідок дещо різних підходів до класифікації мікроорганізмів (табл. 1).

В обох випадках, як видно з табл. 1, при визначенні, до якої з груп ризиків відноситься біологічний об'єкт, враховують наступні фактори: оцінка його патогенності та вірулентності, стабільності в довкіллі, коло хазяїв, наявність переносників, стійкість до лікарських та дезінфікуючих засобів, а також способи передачі та контагіозність зумовлених ними хвороб. Проте якщо в Україні прийнято, що підвищення патогенності по групах відбувається з четвертої до першої, тобто збудники першої групи є найбільш небезпечними, то за класифікацією ВООЗ навпаки до першої групи відносяться мікроорганізми, які взагалі не викликають захворювань людей чи тварин.

Окрім того, донедавна ВООЗ пропонувала класифікувати і всі мікробіологічні, вірусологічні лабораторії за рівнями біозахисту (biosecurity levels, BSL): базові — клас біозахисту (рівень біобезпеки) 1 та 2 (BSL-1 і BSL-2), ізольовані — клас біозахисту 3 (BSL-3) і максимально ізольовані — клас біозахисту 4 (BSL-4). При цьому слід відмітити, що прямої відповідності між групою ризику біологічного об'єкту, з яким проводять роботу, та рівнем біобезпеки лабораторії немає. Крім того, можна спостерігати відмінності між вимогами МEB і ВООЗ.

Таблиця 1 – Класифікація біологічних об'єктів за групами ризику

ВООЗ		↑ Вектор підвищення патогенності біологічних об'єктів	Україна	
Високі індивідуальний та суспільний ризику зараження. Включає патогенні агенти, що зумовлюють масові серйозні захворювання, ефективних профілактичних та лікувальних заходів не існує	група ризику 4		I група	Збудники особливо небезпечних інфекцій, як то: чуми (<i>Yersinia pestis</i>), геморагічних лихоманок (віруси Марбург, Ебола) тощо
Високі індивідуальний та низький суспільний ризику зараження. Включає патогенні агенти, що зумовлюють серйозні захворювання, однак для них існують ефективні профілактичні та лікувальні заходи	група ризику 3		II група	Збудники високо контагіозних епідемічних інфекцій (наприклад, сибірки, бруцельозу, сапу, ящуру, сказу); ботулотоксин, холерний і правцевий токсини
Помірна індивідуальна небезпека та низька суспільна небезпека. Включає патогенні мікроорганізми, не схильні до швидкого поширення, які здатні зумовлювати захворювання у людини або тварин, що є легко виліковними	група ризику 2		III група	Збудники інфекційних захворювань (таких як: лістеріоз, лептоспіроз, туберкульоз, грип та ін.), атенуйовані штами I-II груп мікроорганізмів
Відсутня або низька індивідуальна та суспільна небезпека. Включає мікроорганізми, що потенційно не є збудниками хвороб людини та тварин	група ризику 1	IV група	Збудники інфекційних захворювань (таких як: ОРВІ, ентерити тощо), облігатна непатогенна мікрофлора слизових і шкіри	

Наприклад, вірус ящуру та збудники ряду інших везикулярних хвороб є патогенами групи 3 за ВООЗ, а за МEB вони відносяться до групи 4. Робота з такими збудниками проводиться в приміщеннях перехідного класу, що іменується BSL-3+ за вимогами ВООЗ та 4 — за МEB.

В Україні відсутня градація лабораторних приміщень за класом біологічної безпеки, проте безпека робіт у лабораторіях мікробіологічного профілю має забезпечуватись відповідно до вимог ДСТУ 7748:2015, ДСП 9.9.5-080-02, ДСП 9.9.5.035-99 та інших чинних нормативних актів.

Відмітимо, що останнім часом у європейських країнах почали відходити від фіксованих і негнучких вимог [2, 10]. Так четверте видання Керівництва ВООЗ з біологічної безпеки для лабораторій пропонує ситуаційний підхід до біобезпеки в лабораторії, що базується на оцінюванні ризиків і фактів. Цей новий підхід найкраще реалізується за допомогою загального оцінювання біологічних ризиків — систематичного збору інформації та оцінювання ризиків з метою підтримки процесу управління ризиками. Вибір заходів контролю ризиків, таких як, наприклад, навчання або закупівля конкретних видів ЗІЗ, залежить від результатів оцінювання ризику. Такий ризик-орієнтований підхід є дещо новим для українських лабораторій, тож буде вимагати певного часу як для гармонізації нормативної бази на державному рівні, так і для розробки інституційних документів та зусиль для їх впровадження у практику.

Тому вже сьогодні кожна лабораторія мікробіологічного профілю в рамках діючого в Україні законодавства може розробляти власні нормативні документи з метою створення дієвої політики управління біологічними ризиками для підвищення рівня біологічної безпеки при проведенні науково-дослідних і/або діагностичних випробувань з біологічними об'єктами (рис. 1) [11].

Першим кроком у створенні дієвої системи біобезпеки в лабораторії є створення групи з біологічної безпеки для ідентифікації та загального оцінювання наявних біологічних ризиків. До складу такої ради включають представників адміністрації установи, обов'язково керівника з наукової роботи, інших спеціалістів, що безпосередньо виконують роботи з біологічними об'єктами, відповідальну за біологічну безпеку особу, спеціаліста з охорони праці. Іншими словами ця група має включати достатню кількість представників з різними експертними знаннями для вирішення поставлених перед ними задач.

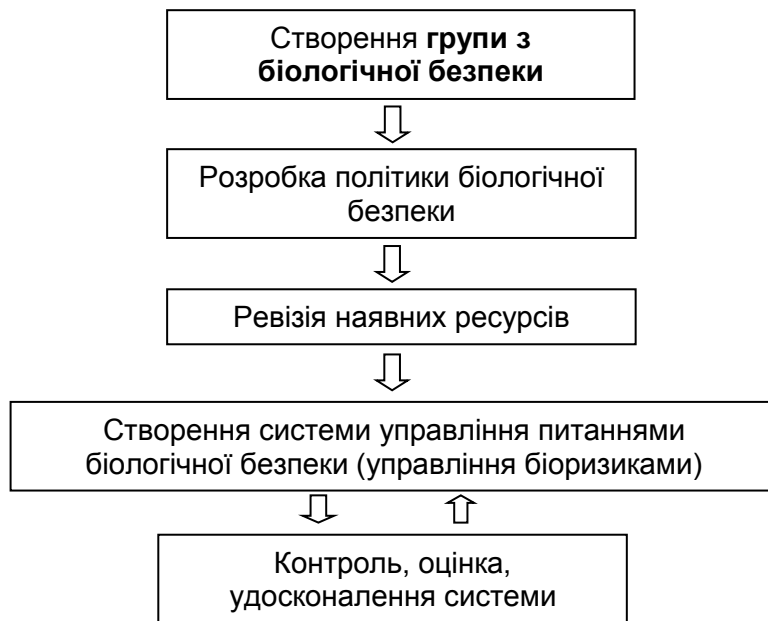


Рис. 1. Схема створення гармонізованої з вимогами ЄС та МЄБ системи біологічної безпеки в науково-дослідних і/або діагностичних лабораторіях мікробіологічного профілю.

Надалі саме група з біологічної безпеки розробляє політику з біологічної безпеки, яку затверджує вище керівництво установи. Політика має відповідати характеру і ступеню наявних біологічних ризиків та діяльності лабораторії і бути направленою на:

- захист персоналу, замовників, населення та довкілля від біологічних агентів та токсинів, які використовуються у роботі та зберігаються в установі;
- зменшення ризику ненавмисного витоку біологічних агентів і токсинів або їх впливу;
- зниження до прийнятого рівня ризику несанкціонованого навмисного витоку небезпечних біологічних матеріалів, включаючи необхідність проведення оцінок ризику і прийняття відповідних заходів контролю;
- дотримання законодавчих вимог щодо біологічних агентів, які знаходяться у власності або використовуються у роботі установи;
- дієве інформування всіх співробітників з індивідуальними зобов'язаннями, що стосуються біологічних ризиків;
- безперервне підвищення ефективності керування біологічними ризиками.

Також спеціалісти групи з біологічної безпеки проводять ревізію приміщень, обладнання, процедур і керівництв з метою оцінки наявного рівня безпеки лабораторії та планування дій покращення або усунення недоліків.

Документи системи управління біологічною безпекою складають на зразок стандартних операційних процедур (СОП), які мають дотримуватись усіма співробітниками лабораторії.

Група з біологічної безпеки через заплановані проміжки часу має проводити оцінку системи управління питаннями біологічної безпеки з метою послідовного забезпечення її придатності, адекватності та ефективності. Така оцінка включає також визначення можливостей для вдосконалення та необхідності внесення змін у систему, процедури, політику та задачі.

Висновки. Питання біологічної безпеки та біологічного захисту і гармонізації нормативно-документальної бази з їх урегулювання та контролю до вимог ЄС на сьогодні є дуже актуальними для України, яка стала кандидатом на вступ у Європейський союз. У той же час ризик-орієнтований підхід до системи біологічної безпеки та біологічного захисту є новим для українських лабораторій, тож вимагає часу як для гармонізації нормативної бази на державному рівні, так і для розробки інституційних документів та зусиль для їх впровадження у практику, що має відбуватись вже зараз.

Список літератури

1. Верховна Рада України. Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів : закон України № 1103-V від 31.05.2007 р.. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1103-16#Text>.
2. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual. 4th ed. Geneva : World Health Organization, 2020. 124 p. URL: https://healthym.com/msdhsite/index.cfm/14,4538,188,pdf/WHO_Lab_Biosafety_Manual.pdf.
3. Максимович Я. С., Гергалова Г. Л., Комісаренко С. В. Безпека під час біологічних досліджень : навчальний посібник. Київ, 2019. 81 с.
4. Стегній Б. Т. та ін. Проблеми біологічної безпеки та біологічного захисту у ветеринарній медицині та біотехнології / за ред. Б. Т. Стегнія. Харків : НТМТ, 2013. 414 с.
5. Герілович А. П. Єдине здоров'я : посібник. Харків, 2019. 75 с.
6. Стегній Б. Т. та ін. Біобезпека та біозахист: світовий досвід, проблеми в Україні та шляхи їх вирішення. *Ветеринарна медицина*. 2010. Вип. 94. С. 5–12. URL: https://www.jvm.kharkov.ua/sbornik/94/Vet_med_94.pdf.
7. Бащенко М. І. та ін. Проблеми і перспективи розвитку стандартів біологічної безпеки та біологічного захисту у ветеринарній медицині та біотехнології. *Ветеринарна медицина*. 2017. Вип. 103. С. 8–12. URL: <https://jvm.kharkov.ua/sbornik/103/1-1.pdf>.
8. Международный Стандарт по управлению лабораторными биорисками (CWA 15793:2008). URL: <https://internationalbiosafety.org/wp-content/uploads/2019/08/CWA-15793-Russian.pdf>.
9. Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (HHS Publication No. (CDC) 300859). 6th ed. 2020. 574 p. URL: https://www.cdc.gov/labs/pdf/SF_19_308133-A_BMBL6_00-BOOK-WEB-final-3.pdf.
10. Holms C. Risk assessment for biological threat. *Math. Canadian ABSA Branch Meeting, Winnipeg 4–9.06.2010*. 2010. P. 81–102.
11. Стегній Б. Т., Герілович А. П., Герілович І. О. Методичний посібник щодо розробки інституційної політики з біологічної безпеки і біологічного захисту на основі нормативно-правової бази ЄС та МЄБ. Харків, 2021. 32 с.

LABORATORY BIOSAFETY AND BIOSECURITY SYSTEM: HARMONIZATION OF REGULATORY BASE WITH EU AND OIE REQUIREMENTS

Stegniy B. T., Gerilovych A. P., Gerilovych I. O., Peshenko K. L.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

The aim of the work was to analyze national and international regulations in the field of biosafety and biological protection to harmonize the regulations of the biosafety management system. The materials for the analysis were international and national regulations on biosafety and biological protection in the conditions of microbiological laboratories. An analysis of international and national legal documents on biosafety and biological protection in the conditions of microbiological laboratories and a scheme for creating a management system for biosafety in research and/or diagnostic laboratories, which provides for the introduction of risk-oriented approach, development and harmonization to the requirements of EU and OIE policies and regulations in order to ensure an appropriate level of biosafety during testing. Issues of biological safety and biological protection and harmonization of the regulatory framework for their regulation and control to EU requirements are very relevant today for Ukraine, which has become a candidate for accession to the European Union. At the same time, the risk-oriented approach to the system of biosafety and biological protection is new for Ukrainian laboratories, so it takes time both to harmonize the regulatory framework at the state level and to develop institutional documents and efforts to implement them in practice now

Keywords: *biological safety management system, scientific and research laboratories, Ukraine*

2. ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ ТА МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 619:616-078:57.083.13:579.873.21:636.22/28

DOI 10.36016/VM-2022-108-2

СПОСІБ ПЕРЕДПОСІВНОЇ ОБРОБКИ БІОМАТЕРІАЛУ ПРИ ДОСЛІДЖЕННІ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

**Завгородній А. І., Калашник М. В., Білушко В. В., Калашник Н. В.,
Позмогова С. А., Кіптенко А. В., Бусол В. О.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: nick.v.kalashnik@gmail.com

Поступний В. А.

ТОВ «АТОМ НТЦ», Харків, Україна

У статті представлені результати культуральних досліджень щодо вивчення чутливості культури *M. fortuitum* до дії 0,5–1,0 %-х розчинів азотної кислоти, 1,0–3,0 %-х розчинів трихлороцтової кислоти за експозиції 30, 60, 180 хв, а також 5,0, 8,0, 10,0 %-х розчинів щавлевої кислоти за експозиції 30 і 60 хв. Проведено передпосівну обробку біологічного матеріалу від мурчаків, кролів, курей і великої рогатої худоби із застосуванням 0,5, 1,0, 1,5 %-х розчинів азотної, 1,0 %-го трихлороцтової кислот за експозиції 30, 60 хв, 5,0 %-го щавлевої кислоти — 30 хв у порівнянні з контрольним методом передпосівної обробки за А. П. Алікаєвою. У результаті проведених досліджень було встановлено, що спосіб передпосівної обробки біологічного матеріалу із застосуванням 1,0 %-го розчину азотної кислоти за експозиції 30 хв є більш інформативним, що дозволяє виділяти культури мікобактерій із біологічного матеріалу від різних видів тварин раніше на 5–10 діб, а також перешкоджає росту банальної мікрофлори на поживному середовищі

Ключові слова: мікобактерії, контамінація, азотна кислота, поживне середовище

Діагноз на туберкульоз у сільськогосподарських тварин встановлюють за наявності в органах і тканинах специфічних туберкульозних уражень. При цьому також необхідно зазначити, що термін розвитку специфічних туберкульозних гранулом в організмі інфікованих тварин залежить від біологічних властивостей збудника, форми, стадії розвитку інфекційного туберкульозного процесу, а також імунної резистентності макроорганізму. Крім цього туберкульозна інфекція в організмі сприйнятливих тварин може перебігати і в латентній формі без прояву клінічних ознак, патологоанатомічних уражень внутрішніх органів і лімфатичних вузлів. Такі тварини є бактеріоносіями та можуть бути джерелом збудника туберкульозу [1–3].

За відсутності характерних для цього захворювання уражень від забитих з діагностичною метою тварин відбирають проби біоматеріалу для культурального дослідження на туберкульоз з метою виділення чистої культури збудника. Однак не у всіх випадках вдається ізолювати чисті культури мікобактерій із патологічного матеріалу, в якому відсутні властиві туберкульозу ураження. Ефективність культурального методу дослідження залежить від кількості відібраного для дослідження біоматеріалу, умов його транспортування та зберігання, наявності життєздатних мікобактеріальних клітин у ньому, способу передпосівної обробки та терміну його висіву, а також елективності поживних середовищ, які застосовуються для індикації та культивування мікобактерій [1, 4, 5]. Разом з цим необхідно зазначити, що при відборі проб біоматеріалу для культурального дослідження від підозрілих в інфікуванні тварин, забитих з діагностичною метою, відбувається його контамінація секундарною мікрофлорою. Цей фактор впливає на достовірність отриманих результатів і має суттєве значення для встановлення заключного діагнозу або його спростування [6, 7].

Для передпосівної обробки проб мокротиння в різні роки в медичній практиці застосовували розчини 2–3-заміщеного фосфорнокислого натрію, 4,0 %-й розчин гідроксиду натрію, 0,5–1,0 %-й розчин етонію, Однак застосування перелічених розчинів для деконтамінації

проб біоматеріалу, відібраного від тварин, не набуло широкого застосування у ветеринарній медицині через значний рівень контамінації (проросту) поживних середовищ супутньою мікрофлорою [8–10].

У ветеринарній практиці для передпосівної обробки патологічного матеріалу від сільськогосподарських тварин у різні роки були запропоновані 3,0, 5,0 %-ві розчини сірчаної та соляної кислот, 5,0–15,0 %-ві щавлевої кислоти, 0,05–0,1 %-ві хлоргексидинбіглюконіуму, 1,0 %-й етонію і катаміну, розчин діюциду в розведенні 1:500 у композиції з 1,0 %-м розчином їдкового натру [11–15]. Не дивлячись на велику кількість запропонованих хімічних сполук для передпосівної обробки патологічного матеріалу від тварин, більшість з них не знайшли широкого застосування у ветеринарній медицині.

У ветеринарній практиці для передпосівної обробки біоматеріалу від тварин і птиці частіше всього використовують метод Гона (Гона-Левенштейна-Суміюші) і метод А. П. Алікаєвої [16]. Однак вищезазначені методи мають також деякі недоліки.

Так, при обробці патологічного матеріалу від реагуючої на туберкулін ВРХ, у якій при діагностичному забої в органах і тканинах були відсутні характерні для туберкульозу ураження, тільки в 40,0–45,0 % випадків виділяють культури збудника туберкульозу. При цьому ріст банальної мікрофлори на поживних середовищах відмічають у 12,0–30,0 % випадків [8–10]. Разом з цим слід зазначити, що обробка патологічного матеріалу розчинами 8,0–15,0 % сірчаної, щавлевої кислот та лугів суттєво впливає на життєздатність, швидкість та інтенсивність росту мікобактерій на поживному середовищі.

Наведені дані свідчать про те, що універсального хімічного препарату для обробки діагностичного матеріалу і дотепер не розроблено. Тому питання щодо удосконалення існуючих і розробки нових способів, а також пошуку хімічних сполук для передпосівної обробки є актуальним та потребує подальших досліджень з метою підвищення ефективності культурального методу діагностики туберкульозу.

Метою даної роботи було проведення дослідження щодо пошуку більш інформативного способу передпосівної обробки біоматеріалу від тварин при культуральному дослідженні на туберкульоз.

Матеріали та методи. Для проведення досліджень визначали чутливість культури атипичних мікобактерій виду *M. fortuitum* до дії 0,5–1,0 % азотної (HNO_3) та 1,0–3,0 % трихлороцтової кислот (CCl_3COOH) за експозиції 30, 60, 180 хв, а також 5,0, 8,0, 10,0 % щавлевої кислоти ($(\text{COOH})_2$) за експозиції 30, 60 хв. Облік зростання колоній *M. fortuitum* проводили впродовж 20 діб.

Проби біологічного матеріалу відбирали від різних видів тварин (велика рогата худоба, морські свинки, кролі, кури), транспортували до лабораторії вивчення туберкульозу Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» у свіжому вигляді. Бактеріологічним методом на туберкульоз було досліджено 23 проби біоматеріалу від реагуючої на туберкулін великої рогатої худоби з благополучних господарств різних областей України, 5 проб біоматеріалу від зоопаркових курей з державного зоопарку, 12 проб біоматеріалу від мурчаків та 4 проби від кролів.

Для постановки біологічної проби нами були відібрані клінічно здорові мурчаки живою вагою 250,0–300,0 г, а також кролі живою вагою до 2 кг, які до початку експерименту не реагували на туберкулін та алерген з атипичних мікобактерій (ААМ). Дослідним мурчакам вводили суспензію культури *M. bovis* (шт. Vallee) підшкірно в область стегна з медіального боку, а кролям — у крайову вену вуха в дозі $1,0 \text{ см}^3$ у концентрації бактеріальних клітин $1,0 \text{ мг/см}^3$ фізіологічного розчину. Загиблих у процесі експерименту лабораторних тварин, а також евтаназованих через 90 діб піддавали патологоанатомічному дослідженню та відбирали проби біоматеріалу.

Перед посівом біологічного матеріалу на поживне середовище проводили його попередню обробку. Для цього з кожного зразка біологічного матеріалу (лімфатичні вузли, шматочки печінки, селезінки, легень) вирізали ділянки з ознаками гіперемії та гіперплазії розміром $0,3\text{--}0,5 \text{ см}^3$ у стерильному бактеріологічному боксі. Загальна вага кожної проби, що окремо досліджується, становила 20,0–30,0 г. Після цього шматочки кожної проби досліджуваного матеріалу окремо поміщали у стерильні фарфорові ступки, подрібнювали та вносили розчини кислот: 3,0, 5,0 % сірчаної кислоти на 20, 30 хв, 0,5, 1,0, 1,5 % азотної кислоти на 30, 60 хв,

5,0 % щавлевої кислоти на 30 хв, 1,0 % трихлороцтової кислоти на 30, 60 хв. Ступки накривали стерильним пергаментним папером і залишали на зазначений термін експозиції.

Після цього розчини кислот зливали в колбу, а шматочки тканин промивали двічі стерильним фізіологічним розчином з інтервалом 10–15 хв. Після другого промивання фізіологічний розчин зливали, а шматочки тканин розтирали зі стерильним склом або кварцовим піском до одержання гомогенної маси.

До гомогенізату тканини додавали 20,0–25,0 см³ стерильного фізіологічного розчину, змішували стерильною скляною паличкою. Отриману суспензію висівали на поживне середовище для індикації та культивування мікобактерій. Пробірки з посівами розташовували в термостаті за температури 37 °С на 2–3 доби у скошеному положенні. Після цього ватно-марлеві пробки парафінували, а пробірки розміщували в бактеріологічні штативи та культивували в термостаті за температури 37 °С. Облік зростання колоній на поживному середовищі проводили через 5–7 діб впродовж 90 діб. При цьому враховували термін появи первинного росту колоній, їх консистенцію, тинкторіальні властивості.

Для контролю дослідів передпосівну обробку біологічного матеріалу проводили 5,0 %-м розчином сірчаної кислоти за методом А. П. Алікаєвої [16].

Результати досліджень. При визначенні чутливості культури *M. fortuitum* до дії різних концентрацій кислот у певних експозиціях було встановлено, що культура атипичних мікобактерій виду *M. fortuitum* стійка до дослідних концентрацій розчинів діючих речовин у більшості випадків. Результати досліджень щодо визначення чутливості атипичних мікобактерій *M. fortuitum* до дії розчинів кислот наведено в табл. 1.

Таблиця 1 — Чутливість культури *M. fortuitum* до дії розчинів кислот

Діюча речовина	Концентрація розчину, %	Експозиція, хв	Ріст колоній мікобактерій (через діб)										
			2	3	4	5	6	7	10	14	15	20	
HNO ₃	0,5	30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		60	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1	30	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		60	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		180	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
		Контроль	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CCl ₃ COOH	1	30	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		60	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
	3	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		180	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(COOH) ₂	5	30	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		60	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	8	30	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		60	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
	10	30	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
		60	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	

Примітки: «-» — відсутність росту колоній, «+» — наявність росту колоній.

Наведені в табл. 1 дані свідчать про те, що при дії 0,5 %-го розчину азотної кислоти за експозиції 30 хв первинний ріст колоній культури *M. fortuitum* на поживному середовищі відзначали на другу добу після висіву, за експозиції 60 хв — на третю добу культивування. Під дією 1,0 %-го розчину азотної кислоти за експозиції 30 та 60 хв зростання первинних колоній мікобактерій відзначали на третю добу, а за експозиції 180 хв — на п'яту добу.

У разі використання 1,0 %-го розчину трихлороцтової кислоти за експозиції 30 хв ріст колоній відмічали на третю добу, за експозиції 60 хв — на п'яту добу культивування. Розчин 3,0 %-ї трихлороцтової кислоти за експозиції 60 і 180 хв повністю пригнічував ріст *M. fortuitum* на поживному середовищі.

Зростання колоній мікобактерій також відзначали при дії 5,0 %-го розчину щавлевої кислоти за експозиції 30 і 60 хв, 8,0 %-го розчину щавлевої кислоти — 30 хв на третю добу

культивування. Надалі, при обробці культури мікобактерій 8,0 %-м, 10,0 %-м розчином щавлевої кислоти за експозиції 30, 60 хв зростання колоній відзначали на п'яту добу. Однак розчин 10,0 %-ї щавлевої кислоти за 60 хв експозиції пригнічував ріст мікобактерій. Первинний зростання колоній у цьому випадку спостерігали лише на сьому добу.

Інтенсивність росту мікобактерій пропорційно збільшувалася до 20 діб культивування та становила у кількісному відношенні від 20 до 50 колоній у кожній пробірці. Зростання культури *M. fortuitum*, яку не піддавали впливу хімічних сполук (контроль) спостерігався на другу добу культивування.

Після цього було проведено бактеріологічне дослідження щодо передпосівної обробки проб біоматеріалу від реагуючої на туберкулін великої рогатої худоби із благополучних щодо туберкульозу господарств різних областей України. В експерименті застосували 0,5 %-й розчин азотної кислоти, 1,0 %-й розчин трихлороцтової кислоти за експозиції 30, 60 хв. У якості контролю обробку біоматеріалу проводили за методом А. П. Алікаєвої. Результати бактеріологічного дослідження представлені у табл. 2.

Таблиця 2 — Результати бактеріологічного дослідження проб біологічного матеріалу від великої рогатої худоби на туберкульоз із застосуванням розчинів кислот

Діюча речовина	Досліджено зразків	Концентрація розчину, %	Експозиція, хв	Вісяно пробірок, шт.	Ріст колоній у пробірках, шт.	Ріст колоній у пробірках, %	Виділено культур	Виділено культур, %	Мікроскопія	Ріст сторонньої мікрофлори, %
HNO ₃	8	0,5	30	40	34	85,0	5	62,5	+	7,5
		0,5	60	40	37	92,5	5	62,5	+	5,0
CCl ₃ COOH	8	1,0	30	40	32	80,0	3	37,5	+	12,5
		1,0	60	40	30	75,0	2	25,0	+	7,5
H ₂ SO ₄	8	5,0	20	40	34	85,0	3	37,5	+	12,5

Наведені в табл. 2 дані свідчать, що за застосування 0,5 %-го розчину азотної кислоти за експозиції 30–60 хв було виділено 5 культур мікобактерій. За застосування 1,0 %-го розчину трихлороцтової кислоти за експозиції 30 хв було виділено 3 культури, а за експозиції 60 хв — 2 культури мікобактерій. При обробці біоматеріалу за методом А. П. Алікаєвої із застосуванням 3,0 %-го розчину H₂SO₄ виділено 3 культури мікобактерій. Зростання сторонньої мікрофлори (12,5 %) на поживному середовищі спостерігали при обробці проб 5,0 %-м розчином сірчаної кислоти (експозиція 20 хв) та 1,0 %-м розчином трихлороцтової кислоти (експозиція 30 хв).

Надалі було проведено бактеріологічне дослідження 15 проб біоматеріалу від великої рогатої худоби, яка реагувала на туберкулін з благополучних щодо туберкульозу господарств, 5 зоопаркових курей, а також 12 мурчаків і 4 кролів, заражених культурою *M. bovis* шт. Vallee. Попередню обробку біоматеріалу проводили з використанням 0,5 %-го, 1,0 %-го, 1,5 %-го розчинів азотної кислоти за експозиції 30 хв у порівнянні з контрольним методом А. П. Алікаєвої. Результати цих досліджень наведено у табл. 3.

Із матеріалів, наведених у табл. 3 видно, що при обробці 15 проб біоматеріалу від великої рогатої худоби, 5 проб від курей, 12 проб від мурчаків та 4 проби від кролів 0,5 %-м розчином азотної кислоти було ізольовано 22 культури мікобактерій, а також у 25,0 % випадків відмічали ріст сторонньої мікрофлори. При використанні 1,0 %-го розчину азотної кислоти за експозиції 30 хв із проб біоматеріалу було виділено 33 культури мікобактерій, а із застосуванням 1,5 %-го розчину даної хімічної речовини у тій самій експозиції ріст колоній мікобактерій спостерігали у 21 випадку. Наявності росту банальної мікрофлори не відмічали. При цьому потрібно зазначити, що 1,5 %-й розчин азотної кислоти знижував інтенсивність росту епізоотичних культур мікобактерій на поживному середовищі.

При обробці патологічного матеріалу 3,0 %-м розчином сірчаної кислоти ріст мікобактерій на поживному середовищі відмічали у 22 пробірках (ізольовано 22 культури), що на 11 культур менше, ніж у разі використання 1,0 %-го розчину азотної кислоти.

Таблиця 3 — Результати бактеріологічного дослідження проб біоматеріалу від різних видів тварин із застосуванням азотної та сірчаної кислоти

Проби від тварин	Кількість проб	Ізольовано культур при обробці				Ріст сторонньої мікрофлори при обробці			
		HNO ₃			H ₂ SO ₄	HNO ₃			H ₂ SO ₄
		0,5 %	1,0 %	1,5 %	5,0 %	0,5 %	1,0 %	1,5 %	5,0 %
ВРХ	15	9	13	8	9	3	-	-	4
Кури	5	2	5	3	3	2	-	-	4
Мурчаки	12	9	12	8	8	2	-	-	2
Кролі	4	2	3	2	2	2	-	-	2
Всього	36	22	33	21	22	9	-	-	12
%		61,1	91,6	58,3	61,1	25,0	0,0	0,0	33,3

Примітка. «-» — відсутність росту сторонньої мікрофлори при обробці.

При цьому у 33,3 % дослідних проб відмічали ріст супутньої мікрофлори. Застосування 1,0 %-го розчину азотної кислоти за експозиції 30 хв для передпосівної обробки проб біоматеріалу дозволило підвищити виділення культур мікобактерій на 30,5 %. При цьому була забезпечена стерильність посівів на поживному середовищі для індикації та культивування мікобактерій.

Крім цього бактеріологічним методом було досліджено проби біоматеріалу від 8 мурчаків, заражених культурою *M. bovis* шт. Vallee. Передпосівну обробку біоматеріалу проводили з використанням розчинів 1,0 %-ї азотної, 5,0 %-ї щавлевої кислот. Поряд з перерахованими вище кислотами також використовували метод А. П. Алікаєвої. Результати цих досліджень наведено у табл. 4.

Таблиця 4 — Бактеріологічне дослідження біоматеріалу на туберкульоз від мурчаків після передпосівної обробки

Досліджено проб	Діюча речовина	Концентрація, %	Експозиція, хв	Кількість пробірок	Ріст колоній (через діб)					Ріст колоній у пробірках		Ріст сторонньої мікрофлори	
					10	15	20	30	40	проби-рок	%	проби-рок	%
8	HNO ₃	1	30	80	-	-	14,8±0,22	60,01±0,38	89,5±0,31	70	87,5	-	-
8	(COOH) ₂	5	30	80	-	-	8,22±0,18	23,04±0,28	51,22±0,24	58	72,5	6	7,5
8	H ₂ SO ₄	5	30	80	-	-	-	12,83±0,45	65,03±0,25	56	70,0	4	5

Примітка. «-» – відсутність росту колоній мікобактерій.

Із матеріалів табл. 4 видно, що при використанні 1,0 %-го розчину азотної кислоти за експозиції 30 хв первинний ріст колоній мікобактерій на поживному середовищі спостерігали на 20-ту добу. При обробці 5,0 %-м розчином щавлевої кислоти впродовж 30 хв. поодинокі колонії виростали на 20-ту добу, а при застосуванні 5,0 %-го розчину сірчаної кислоти за експозиції 30 хв — на 30-ту добу культивування.

Суцільний ріст колоній було зафіксовано у всіх випадках на 39–42-гу доби культивування. Якщо враховувати загальну кількість пробірок, в яких було відмічено наявність колоній мікобактерій, то при обробці азотною кислотою наявність росту колоній було встановлено у 70 пробірках, при застосуванні щавлевої кислоти — у 58 пробірках, при обробці сірчаною кислотою — у 56 пробірках, що становило 87,5, 72,5 та 70,0 % відповідно.

Зростання сторонньої мікрофлори при обробці біоматеріалу 5,0 %-м розчином сірчаної кислоти спостерігали у 4 пробірках (5,0 %), а при обробці 5,0 %-м розчином щавлевої кислоти — у 6 пробірках (7,5 %). Ріст сторонньої мікрофлори був відсутній на поживному середовищі у всіх пробірках із застосуванням 1,0 %-го розчину азотної кислоти за відповідної експозиції.

Висновки. 1. Результати проведених досліджень свідчать про те, що застосування способу передпосівної обробки проб біоматеріалу з використанням 1,0 %-го розчину азотної кислоти за експозиції 30 хв є більш інформативним, дозволяє на 5–10 діб раніше та на 17,5–30,5 % більше виділити культур мікобактерій з патологічного матеріалу від тварин.

2. Розроблений спосіб забезпечує стерильність посівів від проросту секундарною мікрофлорою та може бути використаний у ветеринарній практиці при бактеріологічному дослідженні на туберкульоз.

Список літератури

1. OIE. Chapter 3.4.6. Bovine tuberculosis. *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals*. 6th ed. Paris : OIE, 2018. URL : https://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.04.06_BOVINE_TB.pdf. (Дата звернення: 28.05.2022).
2. Allen A. R., Skuce R. A., Byrne A. W. Bovine Tuberculosis in Britain and Ireland – A Perfect Storm? the Confluence of Potential Ecological and Epidemiological Impediments to Controlling a Chronic Infectious Disease. *Front. Vet. Sci.* 2018. Vol. 5. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00109>.
3. Thomas J. et al. Diagnosis of tuberculosis in wildlife: a systematic review. *Vet. Res.* 2021. Vol. 52. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00881-y>.
4. Buddle B. M. et al. Epidemiology, diagnostics, and management of tuberculosis in domestic cattle and deer in New Zealand in the face of a wildlife reservoir. *New Zealand veterinary journal.* 2015. Vol. 63. P. 19–27. DOI: <https://doi.org/10.1080/00480169.2014.929518>.
5. Schiller I. et al. Bovine Tuberculosis: A Review of Current and Emerging Diagnostic Techniques in View of their Relevance for Disease Control and Eradication. *Transboundary and emerging diseases.* 2010. Vol. 57. P. 205–220. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01148.x>.
6. WHO. Chapter 3. Tuberculosis – diagnosis. *Tuberculosis laboratory biosafety manual*. Geneva : WHO, 2012. URL : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77949/9789241504638_eng.pdf;jsessionid=1C356C0878F2A28536C1F702117B383D?sequence=1. (Дата звернення: 27.05.2022).
7. Kuria J. K. N. Diseases Caused by Bacteria in Cattle: Tuberculosis. *Bacterial Cattle Diseases.* 2019. URL: <https://doi.org/10.5772/intechopen.82051>.
8. Drobniowski F. A. et al. A national audit of the laboratory diagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases within the United Kingdom. *Journal of clinical pathology.* 1999. Vol. 52, No 5. P. 334–337. DOI: <https://doi.org/10.1136/jcp.52.5.334>.
9. Ratnam S., Stead F. A., Howes M. Simplified acetylcysteine-alkali digestion-decontamination procedure for isolation of mycobacteria from clinical specimens. *Journal of clinical microbiology.* 1987. Vol. 25, No. 8. P. 1428–1432. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.25.8.1428-1432.1987>.
10. Нуратинов Р. А. и др. Метод предпосевной обработки биоматериала для выделения микобактерий. *Проблемы туберкулёза и болезней лёгких.* 2006. № 9. С. 48–50.
11. Lipiec M. *Gruźlica bydła w Polsce* : monografia. Puławy : Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, 2008. 68 p.
12. Кассич Ю. Я., Борзяк А. Т., Кочмарский А. Ф. Туберкулёз животных и меры борьбы с ним. Киев : Урожай, 1990. 304 с.
13. Щуревский В. Е., Косенко В. И., Тажгалиев Н. М. Использование различных химических веществ для обработки патологического материала и их влияние на высеваемость микобактерий. *Бюллетень ВИЭВ.* 1987. № 64. С. 15–19.
14. Аликаева А. П. Методика исследования кормов, фекалий, почвы и другого материала из внешней среды для выявления микобактерий. *Бюллетень ВИЭВ.* 1979. № 34. С. 41–45.
15. Финн Э. Р., Машенцева Н. Н. Упрощённый метод обработки мокроты для посева на микобактерии туберкулёза. *Лабораторное дело.* 1980. № 12. С. 752–754.
16. Настанова по діагностиці туберкульозу тварин та птиці : затв. 26.06.94. Київ, 1994. 39 с.

METHOD OF PRELIMINARY TREATMENT OF BIOMATERIAL AT DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS

**Zavgorodniy A. I., Kalashnyk M. V., Bilushko V. V., Kalashnyk N. V.,
Pozmogova S. A., Kiptenko A. V., Busol V. O.**

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

Postupnyi V. A.

"ATOM STC" Ltd, Kharkiv, Ukraine

*The contamination by secondary microflora complicates the isolation of mycobacterial cultures and their inoculation on the nutrient media. The contamination often occurs at the selection of biological material from slaughtered animals with diagnostic purposes. The chemical agents that are used for preliminary treatment partially inhibit accompanied microflora. It leads to the decrease in the growth rate of mycobacteria cultures. The aim of the study was to develop a more informative method of preliminary treatment of biological material from animals for culture examination for tuberculosis. The sensitivity of *M. fortuitum* culture to the action 0.5–1.0% nitric acid, and 1.0–3.0% trichloroacetic acid at the exposure for 30, 60, 180 min, and also 5.0, 8.0, 10.0% oxalic*

acid at the exposure for 30, 60 min has been studied. The samples of biomaterial were collected from the cattle with the positive reaction to tuberculin, guinea pigs, rabbits, chicken. The above samples have been examined for tuberculosis by bacteriological method. Preliminary treatment of freshly collected biological material was performed with the use of 0.5, 1.0, 1.5% nitric acid solution, 1.0% trichloroacetic acid solution at the exposure for 30 and 60 minutes with the use of solution of 5.0% oxalic acid during 30 min exposure in comparison with standard method by A. P. Alikaeva. The best indication of the primary growth and the growth rate of mycobacteria colonies have been observed at the action of 0.5% nitric acid solution on the atypical mycobacterial culture. The growth of mycobacterial colonies have been observed in the test tubes on a nutrient medium in 87.5%, 72.5%, 75.0%, 70.0% of cases according to the preliminary treatment of biomaterial with the use of 1.0% nitric acid solution, 5.0% oxalic acid solution, 1.0% trichloroacetic solution and 5.0% sulfuric acid solution. At the same time the growth of secondary microflora was also detected in the cultures from biological samples, when the samples of biomaterial were treated by only 0.5% solution of nitric acid was 5.0–25.0% oxalic acid — 7.5%, trichloroacetic acid — 7.5–12.5% and a sulfuric acid solution — 5.0–33.0%. By the results of the studies it was found that the biomaterial preliminary treatment method with the use of 1.0% nitric acid solution at the 30 min exposure is the most informative. This method allows to get mycobacterial isolates from the biological material of animals 5–10 days earlier and it inhibits the growth of secondary microflora on the nutrient medium. This method can be used for cultural examination for tuberculosis in veterinary laboratories

Keywords: mycobacteria, contamination, nitric acid, nutrient medium

УДК 619:616.98:578.891:578.2'21:636.4:599.731.1

DOI 10.36016/VM-2022-108-3

ПОРІВНЯННЯ НАБОРІВ ПРАЙМЕРІВ ТА ЗОНДІВ ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ВІРУСУ ГЕПАТИТУ Е ЗА ДОПОМОГОЮ ПЛР У РЕАЛЬНОМУ ЧАСІ

Рудова Н. Г., Солодянкін О. С., Лиманська О. Ю.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: rudovanatawa@ukr.net

На основі комп'ютерного аналізу консервативних фрагментів відкритих рамок зчитування, що перекриваються, ORF2/ORF3 генома вірусу гепатиту Е (ВГЕ) охарактеризовано набори праймерів і зондів, наведених у наукових публікаціях, для детекції генотипів 1–4 ВГЕ за допомогою ПЛР у реальному часі. Один з наборів перевірено на стандарті ВООЗ, а на другий є багато посилань у наукових публікаціях з ПЛР детекції ВГЕ в базі біомедицинської літератури PubMed. Визначено, що по 38 ізолятів ВГЕ для зазначених вище обох наборів праймерів і зондів мають один–два некомплементарні нуклеотиди у комплексі праймер (зонд)–однонитковий продукт ПЛР для проаналізованих 108 ізолятів ВГЕ генотипів 3 та 4, для яких основними природними резервуарами є свині та дикі кабани

Ключові слова: свині, дикі кабани

Гепатит Е — хвороба печінки — є однією з п'яти відомих форм гепатиту людини [1]. Унаслідок широкого поширення в усьому світі, високого рівня захворюваності, можливості розвинення гострого гепатиту та значної кількості летальних випадків (близько 70 000 щорічно) ВООЗ вважає гепатит Е значною проблемою охорони здоров'я, яка потребує постійної уваги [2].

Збудником гепатиту Е є високоваріабельний безоболонковий вірус, геном якого представлений позитивною одноланцюговою молекулою РНК довжиною приблизно 7 200 нуклеотидів (н) [3]. На основі поверхової подібності морфології та організації генома вірус гепатиту Е (ВГЕ, HEV, *hepatitis E virus*) спочатку було віднесено до сімейства Caliciviridae [4]. Проте, у подальшому за результатами досліджень структури генома ВГЕ таксономію вірусу було офіційно змінено, і, згідно зі сучасною класифікацією, ВГЕ належить до сімейства *Hepeviridae*, який містить два роди: *Orthohepevirus* (до складу якого входять 4 види — *Orthohepevirus A, B, C, D*) та *Piscihepevirus* [5]. ВГЕ, який інфікує людину та деяких ссавців [6], належить до одного з найбільш вивчених видів *Orthohepevirus A* та має 8 генотипів — HEV1–HEV8, з яких HEV1–HEV4 є збудниками захворювання на гепатит Е у людини, HEV5–HEV6 детектовано тільки у диких кабанів у Японії [7], HEV7–HEV8 — у верблюдів [8, 9].

За забруднення води та низького рівня санітарії HEV1–HEV2 є причиною спалахів гострого гепатиту у країнах Азії, Африки, Латинської Америки [10]. Випадки захворювання на гепатит Е як у країнах, що розвиваються, так і у країнах Європи, США, КНР пов'язані з ВГЕ генотипів 3 та 4. HEV3–HEV4 характеризується зоонозним потенціалом, основні природні резервуари цього вірусу — свині та дикі кабани [11–15]. Крім того, HEV3 був виявлений в оленів, дельфінів, а також кролів, дрібної (вівці, кози) та великої рогатої худоби, що є додатковим фактором ризику міжвидової трансмісії вірусу до організму людини від свійських тварин [16–21].

Європейська асоціація з дослідження печінки (EASL) пропонує низку методів визначення ВГЕ, зокрема, таких, що базуються на ампліфікації специфічних фрагментів геномної РНК вірусу за допомогою різних форматів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [2], які до того ж є незамінними для детекції геномного матеріалу ВГЕ у продукції свинарства та, отже, оцінки її якості [22].

У роботі Germer et al. [23] з використанням зондів і набору праймерів, які фланкують фрагмент відкритих рамок зчитування, що перекриваються, ORF2/ORF3 ВГЕ, які є мішенню для праймерів і зондів, розроблено чутливий, точний та відтворюваний метод для детекції та кількісного визначення штамів ВГЕ всіх чотирьох головних генотипів на основі зворотно-транскриптазної (ЗТ) кількісної ПЛР у реальному часі (РЧ).

В роботі Gerber et al. [24] з проведеного експериментального порівняння наборів для детекції та диференціації чотирьох генотипів ВГЕ за допомогою ЗТ ПЛР-РЧ показано, що один з наборів (з роботи Jothikumar et al. [28]) дозволяє виявляти 96 % РНК ВГЕ зі зразків фекалій експериментально інокульованих ВГЕ генотипу 3 свиней та 67 % — для польових зразків.

У даній роботі на основі комп'ютерного аналізу фрагментів ORF2/ORF3 генома ВГЕ з точки зору наявності некомплементарних нуклеотидів у комплексі з мішенню охарактеризовано два набори праймерів і зондів для детекції ВГЕ, один з яких перевірено на першому міжнародному стандарті ВООЗ для РНК ВГЕ для детекції ВГЕ [23] за допомогою ПЛР у реальному часі, а на другий, з роботи Gerber et al. [24], найчастіше є посилання у наукових статтях з ПЛР детекції ВГЕ у базі біомедичної літератури PubMed.

Матеріали та методи. Множинне вирівнювання проводили на основі комп'ютерного аналізу нуклеотидних послідовностей фрагментів відкритих рамок зчитування ORF2/ORF3 для 108 ізолятів геномної РНК ВГЕ з бази даних GenBank за допомогою вбудованої в пакеті програм MEGA 6.0 програми ClustalW [25]. Термодинамічний аналіз праймерів і зондів — за допомогою програм MeltCalc, що є у вільному доступі [26], та Oligo (версія 3.0) [27].

Температуру плавлення праймерів і зондів визначали для таких параметрів (якщо не вказано інше): концентрація праймера — 0,1 мкМ, іонна сила — 60 мМ Na⁺ (відповідне значення для програми MeltCalc становить 220, що було емпірично знайдено нами шляхом порівняння експериментально та теоретично визначених температур плавлення олігонуклеотидів з літературних джерел, результати не наведено).

Результати досліджень. Низку наборів праймерів і зондів розроблено для детекції РНК ВГЕ в різних зразках (сироватка, фекалії, з оточуючого середовища) шляхом ЗТ ПЛР-РЧ з урахуванням гетерогенності штамів ВГЕ. Чутливість аналізів за допомогою ПЛР-РЧ відрізнялася від 10 до 1 000 разів при паралельному тестуванні зразків в одній і тій же лабораторії [24]. Нашу увагу привернули два набори. Один з них, розроблений у 2006 році [28], найбільш широко застосовують для детекції ВГЕ у людини, має високу чутливість (4 еквіваленти генома вірусу) та дозволяє виявляти усі чотири генотипи вірусу, у тому числі HEV3–HEV4 із зоонозним потенціалом.

Другий набір, розроблений в роботі Germer et al. [23] з використанням зондів, які автори назвали зонди Pleiades (плеяди, після спостереження свічення одного найяскравішого сузір'я зірок у нічному небі) [29], для детекції та кількісного визначення штамів ВГЕ всіх чотирьох головних генотипів ВГЕ, перевірено на першому міжнародному стандарті ВООЗ для РНК ВГЕ (код 6329/10) [30].

Результати множинного вирівнювання для фрагментів ORF2/ORF3 38 ізолятів, що мають недосконалі праймери/зонди, з 108 проаналізованих ізолятів ВГЕ генотипів 3 та 4, які містять мішені для праймерів та зондів з двох зазначених вище наборів праймерів і зондів, наведено у табл. 1–2.

Таблиця 1 — Результати множинного вирівнювання для фрагментів ORF2/ORF3 38 зі 108 проаналізованих ізолятів ВГЕ генотипів 3 та 4, що містять ділянки зв'язування праймерів/зонда та які мають недосконалі праймери/зонди з роботи Germer et al. [23], які перевірено на стандарті ВООЗ для детекції РНК ВГЕ за допомогою ЗТ ПЛР-РЧ *

Номер в GenBank	Гено-тип ВГЕ	Прямий праймер 5' -GGTGGTTTCTGGGGTGAC-3'	Зонд 5' -GTGATTCTCAGCCCTTCG-3'	Зворотний праймер 5' -TTCATCCAACCAACCCC-3'	Позиція
AF060669	Н л	GGTGGTTTCTGGGGTGAC	TTGATTCTCAGCCCTTCG	TTCATCCAACCAACCCC	5333
AB425831	3 кк	Т...С.....	5308
AB481228	Н	Т.....С.....	5326
AB593690	3 кк	Т...С.....	5308
AY575857	Н	Т.....С...G.....	5324
AY575859	Н	Т.....	5324
AY594199	Н	А.....	Т.....	5332
DQ279091	4	А.....	Т.....А.....	5319
EU676172	4	А.....	Т.....	5318
FJ426404	3	Т.....С.....	5303
FJ610232	4	А.....	Т.....	5325
FJ998008	3	А.....	Т.....С.....	5283
GU119960	4	А.....	Т.....	5321
KY780957	3 л	А.....	Т.....	5308
KT581445	3fС.....	Т.....	5311
KT581448	3f	А.....	Т.....	5398
KT727028	3	Т.....А.....	5330
KX827238		А.....	Т.....	5324
MN614429	Н	Т.....С.....	5303
MN614430	Н	Т.....С.....	5303
MW355382	3	А.....	Т.....	5299
MW355383	3	А.....	Т.....Т.	5506
MW355384	3	А.....	Т.....	5386
MW355385	3	А.....	Т.....	5297
MW355386	3	А.....	Т.....	5297
MW355387	3	А.....	Т.....	5297
MW355389	3	А.....	Т.....	5299
MK410049	4	А.....	Т.....	5324
MW355390	3	А.....	Т.....	5297
MW355388	3	А.....	Т.....	5387
MW355391	3	А.....	Т.....	5296
MW355393	3	А.....	Т.....Т.	5301
MW355394	3	А.....	Т.....	5385
MW355395	3	А.....	Т.....	5385
MW355396	3	А.....	Т.....	5300
MW355397	3	А.....	Т.....	5389
MW355400	3	А.....	Т.....	5298
MW355402	3	А.....	Т.....	5300

Примітки: * — нуклеотиди, які не збігаються з нуклеотидами консенсусної послідовності ізоляту ВГЕ 6892 AF060669, показано буквами. Н — невідомий генотип. Для зворотного праймера наведено комплементарну послідовність. Позиція — для 5'-кінцевого нуклеотида зонда. Біологічний матеріал: кк — культура клітин; л — людина.

Розділ 2. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

Таблиця 2 — Результати множинного вирівнювання для фрагментів ORF2/ORF3 38 зі 108 проаналізованих ізолятів ВГЕ генотипів 3 та 4, що містять ділянки зв'язування праймерів/зонда та які мають недосконалі праймери/зонди з роботи Gerber et al. [24] з посиланням на роботу Jothikumar et al. [28] *

Номер в GenBank	Гено-тип ВГЕ	Прямий праймер	Зонд	Зворотний праймер	Позиція
		5'-GGTGGTТТСТGGGGTGAC-3'	5'-TGATTCTCAGCCCTTCGC-3'	5'-ТТСАТССААССААССССТ-3'	
AF060669	Н л	GGTGGTТТСТGGGGTGAC	TGATTCTCAGCCCTTCGC	ТТСАТССААССААССССТ	5334
AB425831	3 ккC.....	5309
AB481228	НC.....	5327
AB593690	3 ккC.....	5309
AY575857	НC.....G.....	5325
AY594199	Н	A.....	5333
DQ279091	4	A.....A.....	5320
EU676172	4	A.....	5319
FJ426404	3C.....	5304
FJ610232	4	A.....	5326
FJ998008	3	A.....C.....	5284
GU119960	4	A.....	5322
KT727028	3A.....	5331
KY780957	3 л	A.....	5309
KT581445	3fC.....	5312
KT581448	3f	A.....	5399
KX827238	Н	A.....	5325
KX981911	3A.....	5331
MN614429	НC.....	5304
MN614430	НC.....	5304
MW355382	3	A.....	5300
MW355383	3	A.....T..	5507
MW355384	3	A.....	5387
MW355385	3	A.....	5298
MW355386	3	A.....	5298
MW355387	3	A.....	5298
MW355389	3	A.....	5300
MK410049	4	A.....	5325
MW355390	3	A.....	5298
MW355388	3	A.....	5388
MW355391	3	A.....	5297
MW355393	3	A.....T..	5300
MW355394	3	A.....	5384
MW355395	3	A.....	5384
MW355396	3	A.....	5299
MW355397	3	A.....	5388
MW355400	3	A.....	5297
MW355402	3	A.....	5299

Примітки: * — нуклеотиди, які не збігаються з нуклеотидами консенсусної послідовності ізоляту ВГЕ 6892 AF060669, показано буквами. Н — невідомий генотип. Для зворотного праймера наведено комплементарну послідовність. Позиція — для 5'-кінцевого нуклеотида зонда. Біологічний матеріал: кк — культура клітин; л — людина.

Аналіз ізолятів ВГЕ людини і тварин з повністю секвенованим геномом показав, що геном ВГЕ є варіабельним навіть у консервативних фрагментах, таких, зокрема, як ORF2/ORF3, що ускладнює розробку наборів праймерів і зондів.

Чутливість ПЛР-аналізу може значно змінюватися в залежності від вибраних мішеней для праймерів і зонду, а також від генотипу ВГЕ. Попередні порівняння наборів праймерів і зондів для детекції РНК ВГЕ за допомогою ПЛР-РЧ показали, що вибір як мішені консервативної ділянки ORF2/ORF3 є надійнішим порівняно з використанням недосконалих праймерів і зондів, мішенню для яких є менш консервативні фрагменти генома, ніж ORF2/ORF3.

Висновки. У роботі показано, що всі проаналізовані праймери та зонди є недосконалими, у тому числі, з роботи Jothikumar et al. [28], які дослідники часто вибирають для ПЛР-детекції без їх попереднього аналізу з урахуванням нових сиквенсів ізолятів ВГЕ, незважаючи на те, що їх розроблено понад 15 років тому назад, оскільки для 38 ізолятів ВГЕ мають один–два некомплементарні нуклеотиди у комплексі праймер (зонд)–одноритковий продукт ПЛР для проаналізованих 108 ізолятів ВГЕ генотипів 3 та 4. Такі недосконалості можуть знижувати чутливість і специфічність ПЛР-аналізу через зменшення ефективної концентрації праймера, ускладнення оцінки температури відпалу.

Перспективи використання отриманих результатів. Використання понад одного набору праймерів і зондів, мішенню для яких є різні фрагменти генома ВГЕ з високим рівнем подібності, може підвищити вірогідність детекції ВГЕ. Для РНК-вірусів такими фрагментами є, зокрема, довгі кінцеві повтори.

Проведене порівняння наборів, які використовують, показало можливість створення наборів праймерів і зондів, які не містять некомплементарні нуклеотиди у комплексі праймер (зонд)–одноритковий продукт ПЛР для секвенованих ізолятів ВГЕ.

Список літератури

1. Kamar N. et al. Hepatitis E virus infection. *Nature Reviews. Disease Primers*. 2017. Vol. 3. P. 17086. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.86>.
2. Kamani L., Padhani Z. A., Das J. K. Hepatitis E: Genotypes, strategies to prevent and manage, and the existing knowledge gaps. *JGH Open: An Open Access Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2021. Vol. 5, No 10. P. 1127–1134. DOI: <https://doi.org/10.1002/jgh3.12646>.
3. Tam A. W. et al. Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology*. 1991. Vol. 185, No 1. P. 120–131. DOI: [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(91\)90760-9](https://doi.org/10.1016/0042-6822(91)90760-9).
4. Meng X. J. Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk. *Veterinary Microbiology*. 2010. Vol. 14, No 3-4. P. 256–265. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.017>.
5. Purdy M. A. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Hepeviridae 2022. *The Journal of General Virology*. 2022. Vol. 103, No 9. DOI: <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001778>.
6. Smith D. B. et al. Update: proposed reference sequences for subtypes of hepatitis E virus (species *Orthohepevirus A*). *The Journal of General Virology*. 2020. Vol. 101, No 7. P. 692–698. DOI: <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001435>.
7. Takahashi M. et al. Analysis of the full-length genome of a hepatitis E virus isolate obtained from a wild boar in Japan that is classifiable into a novel genotype. *The Journal of General Virology*. 2011. Vol. 92, Pt 4. P. 902–908. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.029470-0>.
8. Woo P. C. et al. New hepatitis E virus genotype in camels, the Middle East. *Emerging Infectious Diseases*. 2014. Vol. 20, No 6. P. 1044–1048. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2006.140140>.
9. Woo P. C. et al. New hepatitis E virus genotype in bactrian camels, Xinjiang, China, 2013. *Emerging Infectious Diseases*. 2016. Vol. 22, No 12. P. 2219–2221. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2212.160979>.
10. Pérez-Gracia M. T. et al. Current knowledge on hepatitis E. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. 2015. Vol. 3, No 2. P. 117–126. DOI: <https://doi.org/10.14218/JCTH.2015.00009>.
11. Wang B., Meng X. J. Hepatitis E virus: host tropism and zoonotic infection. *Current Opinion in Microbiology*. 2021. Vol. 59. P. 8–15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2020.07.004>.
12. Jemersic L. et al. Genetic diversity of hepatitis E virus (HEV) strains derived from humans, swine and wild boars in Croatia from 2010 to 2017. *BMC Infectious Diseases*. 2019. Vol. 19, No 1. P. 269. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-019-3906-6>.
13. Kozyra I. et al. Genetic diversity and epidemiological significance of wild boar HEV-3 strains circulating in Poland. *Viruses*. 2021. Vol. 13, No 6. P. 1176. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13061176>.
14. Passos-Castilho A. M., Hernandez Granato C. F. High frequency of hepatitis E virus infection in swine from South Brazil and close similarity to human HEV isolates. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2017. Vol. 48, No 2. P. 373–379. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.022>.
15. Liao M.-H. et al. Hepatitis E virus infection in 6-month-old pigs in Taiwan. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, No 1. P. 16869. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74034-8>.
16. Palombieri A. et al. Surveillance study of hepatitis E virus (HEV) in domestic and wild ruminants in northwestern Italy. *Animals*. 2020. Vol. 10, No 12. P. 2351. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10122351>.

17. Fonti N. et al. Molecular and pathological detection of hepatitis E Virus in roe deer (*Capreolus capreolus*) and fallow deer (*Dama dama*) in central Italy. *Veterinary Sciences*. 2022. Vol. 9, No 3. P. 100. DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci9030100>.
18. Villalba M. C. M. et al. Hepatitis E virus in bottlenose dolphins *Tursiops truncatus*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 2017. Vol. 123, No 1. P. 13–18. DOI: <https://doi.org/10.3354/dao03085>.
19. Ciemiak F. et al. A putative novel hepatitis E Virus genotype 3 subtype identified in rabbit, Germany 2016. *Viruses*. 2021. Vol. 13, No 6. P. 1065. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13061065>.
20. Izopet J. et al. Hepatitis E virus strains in rabbits and evidence of a closely related strain in humans, France. *Emerging Infectious Diseases*. 2012. Vol. 18, No 8. P. 1274–1281. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1808.120057>.
21. Huang F. et al. Excretion of infectious hepatitis E virus into milk in cows imposes high risks of zoonosis. *Hepatology*. 2016. Vol. 64, No 2. P. 350–359. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.28668>.
22. Trojnar E. et al. Interlaboratory validation of a detection method for hepatitis E virus RNA in pig liver. *Microorganisms*. 2020. Vol. 8, No 10. P. 1460. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101460>.
23. Germer J. J. et al. Hepatitis E virus (HEV) detection and quantification by a real-time reverse transcription-PCR assay calibrated to the World Health Organization Standard for HEV RNA. *Journal of Clinical Microbiology*. 2017. Vol. 55, No 5. P. 1478–1487. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.02334-16>.
24. Gerber P. F. et al. Comparison of real-time reverse transcriptase PCR assays for detection of swine hepatitis E virus in fecal samples. *Journal of Clinical Microbiology*. 2014. Vol. 52, No 4. P. 1045–1051. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.03118-13>.
25. Tamura K. et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*. 2007. Vol. 24, No 8. P. 1596–1599. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msm092>.
26. Schütz E., Von Ahsen N. Spreadsheet software for thermodynamic melting point prediction of oligonucleotide hybridization with and without mismatches. *BioTechniques*. 1999. Vol. 27, No 6. P. 1218–1224. DOI: <https://doi.org/10.2144/99276bc04>.
27. Rychlik W., Spencer W., Rhoads R. Optimization of the annealing temperature for DNA amplification *in vitro*. *Nucleic Acids Research*. 1990. Vol. 18, No 21. P. 6409–6412. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/18.21.6409>.
28. Jothikumar N. et al. A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *Journal of Virological Methods*. 2006. Vol. 131, No 1. P. 65–71. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.07.004>.
29. Lukhtanov E. A. et al. Novel DNA probes with low background and high hybridization-triggered fluorescence. *Nucleic acids Research*. 2007. Vol. 35, No 5. P. e30. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkl1136>.
30. Baylis S. A. et al. World Health Organization International Standard to harmonize assays for detection of hepatitis E virus RNA. *Emerging Infectious Diseases*. 2013. Vol. 19, No 5. P. 729–735. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1905.121845>.

COMPARISON OF PRIMER AND PROBE SETS FOR HEPATITIS E VIRUS DETECTION BY REAL TIME PCR

Rudova N. G., Solodianskin O. S., Lymanska O. Yu.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

Hepatitis E virus (HEV) infects humans and several mammals and it has eight genotypes (HEV1–HEV8). HEV1–HEV4 is the causative agent of hepatitis E in humans. HEV5–HEV6 was detected only in wild boar in Japan. HEV7–HEV8 was detected in camels. HEV3–HEV4 is characterized by zoonotic potential and main natural reservoirs for this virus are swines and wild boars. Besides, HEV3 was detected in deers, dolphins, rabbits, cattle, goats that is additional risk for virus interspecies transmission from domestic animals to humans. In this paper two primer and probe sets for HEV detection by real time PCR were characterized on the basis of computer analysis of conservative fragments of overlapping open reading frames ORF2/ORF3 of HEV genome. Availability of mismatched nucleotides in the complexes of primer/probe with viral targets was applied for estimation of primer sets. One of those primer sets from literature data was tested on the first World Health Organization International Standard for HEV RNA. The second primer set is highly cited in scientific articles on PCR HEV detection in PubMed biomedical literature database. Multiple alignment was performed on the basis of computer analysis of nucleotide sequences of overlapping open reading frames ORF2/ORF3 for 108 isolates of RNA HEV genomes from GenBank by MEGA 6.0 software. It was determined that 38 HEV isolates from 108 HEV3–HEV4 analyzed isolates for mentioned above primer and probe sets have one or two mismatched nucleotides for primer (probe) complex with single-stranded amplicon. These degeneracies may reduce sensitivity and specificity of PCR assay due to decreasing effective primer concentration, complication of estimating primer annealing temperatures

Keywords: swines, wild boars

3. ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 619:616.98-036.22:578.832.1А:598.28/.29

DOI 10.36016/VM-2022-108-4

ПТАХИ РЯДУ ГОРОБЦЕПОДІБНИХ (PASSERIFORMES) ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ РЕЗЕРВУАР ТА ПЕРЕНОСНИКИ ВІРУСУ ГРИПУ А (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Нікітіна А. О., Музика Д. В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: anastasiyaolegovna1996@gmail.com

Подано результати опрацювання зарубіжної літератури стосовно птахів ряду Горобцеподібних як одного з потенційно можливих переносників вірусу грипу А. Взагалі водоплавні птахи є основним резервуаром вірусів грипу А, від яких вірус розповсюджується до свійської птиці. Птахи ряду Горобцеподібні становлять загрозу для птахофабрик, домашньої птиці, оскільки вони можуть харчуватись на спільній території та виділяти вірус. Експериментальні дослідження показують, що горобцеподібні сприйнятливі до вірусу грипу А та мають досить непогані титри вірусу, а це означає, що потенційно вони сприяють його циркуляції у природі

Ключові слова: епізоотологічний моніторинг, особливо небезпечні інфекції

Особливо небезпечні інфекції представляють значну загрозу для галузі птахівництва — віруси грипу птиці, бурсальної хвороби, ньюкаслської хвороби, інфекційного бронхіту, лихоманки Західного Нілу [52]. Особливо це стосується грипу птиці — небезпечної для усіх видів птиці хвороби. Але найбільша увага у світі приділяється саме вірусам грипу А, тому що особливо небезпечні високопатогенні віруси грипу належать саме до цього типу. До грипу, у першу чергу, сприйнятлива домашня птиця (індички, качки, гуси, цесарки, перепели), також синантропна та дика перелітна птиця (лебеді, чайки, горобці та інші). Дика водоплавна птиця може бути вірусоносієм збудника за відсутності клінічних ознак, але в деяких випадках за інфікування високопатогенними варіантами вірусу її загибель може складати до 80 %. Чутливі до інфекції птахи можуть бути інфіковані, коли вони контактують із зараженими виділеннями чи секретом. Свійські птахи можуть бути інфіковані вірусом пташиного грипу через безпосередні контакти з інфікованими водоплавними птахами чи іншими інфікованими птахами, або через контакт із поверхнею (земля, глина чи клітки), або з матеріалами (вода або корм), що були контаміновані вірусом.

Існує чотири типи вірусів грипу — А, В, С та D. Вірус грипу типу А може інфікувати людей, птахів, свиней, коней, тюленів, китів та інших тварин, але дикі птахи є природними носіями цих вірусів. Віруси грипу типу А постійно видозмінюються і поділяються на підтипи на основі двох білків на поверхні вірусу. Ці білки називаються гемаглютинін (HA) і нейромінідаза (NA). Існує 16 різних підтипів HA і дев'ять різних підтипів NA. Можливо багато різних комбінацій білків HA і NA. Тільки деякі підтипи грипу А (H1N1, H1N2 і H3N2) нині поширені серед людей. У птахів виявлені віруси грипу всіх підтипів. Що стосується інших видів, то, наприклад, віруси H7N7 і H3N8 уражують коней, H1 та H3 можуть інфікувати свиней. Вірус грипу містить вісім внутрішніх генетичних сегментів. Віруси грипу В зазвичай знаходять тільки у людей. Хоча віруси грипу В можуть спричинити епідемії, вони не призводять до пандемій. Віруси грипу типу С здатні спричинити неважкі захворювання у людей і не призводять до епідемії чи пандемії. Віруси грипу D виявлені нещодавно у корів, їхні епідеміологічне та епізоотичне значення не вивчені.

У цьому огляді літератури ми зосередилися на аналізі ролі диких птахів ряду Горобцеподібних у розповсюдженні вірусу грипу. Ураховуючи той факт, що основним природним носієм вірусу грипу є дикі водоплавні, Горобцеподібні потенційно можуть відігравати роль у підтриманні циркуляції деяких підтипів. Ряд Горобцеподібних налічує понад 150 родин. Незважаючи на таку велику кількість, синантропні птахи обмежені сімома родинами, а саме:

Corvidae (воронові), Hirundae (ластівкові), Sturnidae (шпакові), Turdidae (дроздові), Passeridae (горобцеві), Fringillidae (в'юркові). Саме птахи з цих родин зустрічаються на фермах, хоча більшість з них присутня й за їх межами. Вони відіграють важливу роль у динаміці вірусу, бо мають спільну територію, а також ресурси [1]. Наприклад, більшість горобцеподібних маленькі, і їм доведеться виділяти значну кількість вірусу аби забезпечити достатній рівень вірусу для передачі, особливо для птахів, які не є зграйними [8]. Багато горобцеподібних є комахоїдними, тому вони не будуть ділитися спільною їжею та забруднювати продовольчі ресурси, проте можуть співіснувати з іншими видами в урбанізованих екосистемах і мати багато контактів з іншими видами на обмеженій території, що цілком імовірно може сприяти поширенню грипу птиці [1].

Corvidae (воронові) є дуже поширеними на земній кулі. Оскільки ці види птахів затяті падальники, їх приваблюють ферми, де можуть бути доступні трупи, яйця, та полігони твердих побутових відходів. Кілька досліджень підтверджують постійну присутність цих птахів на фермах у Канаді, Німеччині та Нідерландах [2–4]. У Німеччині на фермах зазвичай виявляли воронів (*Corvus corax*), а в Нідерландах — сорок (*Pica pica*). У Бангладеш під час спалаху пташиного грипу H5N1 на фермах було виявлено мертвих індійських ворон (*Corvus splendens*) — поширеного синантропного виду, які виступають найбільшим патогенним фактором спалаху грипу. У 2004 р. в Японії геном вірусу грипу H5N1 було виявлено у дев'яти великодзьобих ворон (*C. macrorhynchos*) після спалаху пташиного грипу на фермі [5]. Усі птахи були знайдені в радіусі 30 км від ферми, де вид зазвичай спостерігався, тобто, ймовірно, інфікування відбулося в осередку спалаху. Подібним чином H5N1 був ізольований у двох ворон з джунглів (Бангладеш) [6]. Але, наприклад, масштабне дослідження воронових в Італії, де оцінювали як ризик зараження, так і захворюваність, не виявило жодних доказів наявності вірусу грипу у птахів цієї родини [7]. Проте ці дослідження показують, що воронові є сприйнятливими до вірусу грипу, як особливо небезпечної інфекції, але, через обмеженість досліджень, динаміка інфекції є невідомою.

Hirundae (ластівкові). Ластівки зазвичай зустрічаються у відкритих місцях проживання і тому вони можуть бути дуже поширеними на фермерських господарствах. Ці види є виключно комахоїдними, тому це може обмежити їх взаємодію з іншими птахами або харчовими ресурсами. Однак, ураховуючи кількість і чисельність ластівок на багатьох птахофабриках, де вони зазвичай використовують приміщення ферми для гніздування, дослідження цих птахів є пріоритетним, адже вони відіграють потенційну роль у динаміці поширення пташиного грипу типу А [3, 8–10].

Сільська ластівка (*Hirundo rustica*) наявна на багатьох птахофабриках у Канаді, Мексиці, Зімбабве. Під час досліджень змивів від деяких особин було виявлено наявність вірусної РНК, тому ластівки були ідентифіковані як потенційні господарі для передачі грипу А. Крім того, ластівки були найбільш досліджуваними з птахів під час спалаху пташиного грипу на фермі у штаті Айова у США [10]. Оглядові дослідження підтверджують, що ластівки можуть бути інфіковані вірусом пташиного грипу типу А. Крім того, віруси H4, H9, H10 і H11 були виділені з трьох ластівок у Словаччині [11]. У В'єтнамі вірус H5N1 був виділений від клінічно здорової ластівки [12]. Хоча ці ізоляції вказують, що ластівки можуть бути заражені, проте немає жодних експериментальних досліджень, які б характеризували динаміку інфекції.

Sturnidae (шпакові). Шпак звичайний (*Sturnus vulgaris*) — основний синантропний вид родини Шпакові. Він має досить різноманітний раціон, що дозволяє йому адаптуватися до місцевих харчових ресурсів. Його часто приваблює корм для худоби, тому він став звичайним мешканцем ферм, або його можна зустріти на полігонах твердих побутових відходів. У Канаді, Нідерландах спостерігали як шпаки через вентиляційні отвори проникали до сараїв або на ферми для добування корму, а потім бачили їх на водно-болотних угіддях.

Зразки від шпаків були відібрані на предмет зараження пташиним грипом типу А у низькі країнах світу (табл. 1). Вірус грипу птиці, точніше вірусну РНК, було виявлено у 26 птахів з 1 450, тобто частка позитивних зразків склала 1,79 %. Серологічними дослідженнями виявлено, що лише 0,58 % проб були позитивними (табл. 1). Стосовно поширення та експериментальних досліджень шпаків, в яких оцінювали сім різних підтипів грипу птиці, первинними дослідженнями від шпака ізолювали вірус грипу птиці підтипу H7N7 [13]. У двох дослідженнях оцінювали рівні вірусів H5N1. У першому випадку в тканинах шпаків не було виявлення ураження або вірусних

антигенів [14]. У другому дослідженні оцінювали чотири різні штами H5N1 [15]. У більшості птахів виявляли високі титри вірусу в оральних мазках, але захворіла тільки одна особина, проте жодна не загинула. Автори висловлюють таку думку, що шпаки можуть бути вторинним господарем вірусу пташиного грипу, але також допускають, що обмежений контакт з іншими птахами буде ймовірно запобігати стійкості передачі вірусу.

Таблиця 1 — Спостереження за вірусом грипу А у шпаків звичайних

Місце розташування	Відбір проб	Серологічне обстеження (N вибірок)	Серологічне обстеження (позитивних)	Вірус/РНК виявлення (N вибірок)	Вірус/РНК виявлення (N позитивних)	Цитата
Ізраїль	1978–1979	–	–	42	1 H1	[42]
Велика Британія	1981	–	–	?	1 H7	[43]
Ізраїль	1981	–	–	282	1	[44, 45]
Австралія	1985	–	–	< 208	1 H7N7	[13]
Огайо США	1988?	868	0	–	–	[41]
Грузія	1999	15	0	–	–	[46]
Словенія	2004	–	–	670	1	[47]
Росія	2007	–	–	5	1	[48]
Ірак	2007	60	0	–	–	[49]
Огайо США	2007–2008	–	–	328	21	[50]
Австралія	2008–2009	–	–	50	0	[51]
Айова США	2015	69	6	69	1	[10]
Айова США	2015–2016	5	0	5	0	[40]
Разом		1032	6 (0,58 %)	1451	26 (1,79 %)	

Більшість птахів передають вірусу РНК пероральним, фекально-оральним шляхом, але контактної передачі немає. Експериментальне дослідження щодо зараження шпака у Китаї, було присвячене тому, що вони регулярно інфікуються вірусом грипу птиці, але не мають його постійного виділення вірусу, бо обмежена контактна передача вказує на те, що роль шпаків в епідеміології вірусу пташиного грипу залежить від штаму та його патогенності.

Turdidae (дроздові) — це дуже поширені птахи, що зустрічаються в міських і сільських місцевостях. Наприклад, дрізд мандрівний (*Turdus migratorius*) широко зустрічається на птахофабриках у Північній Америці, особливо в період розмноження, бо ці птахи, як і ластівки, використовують сільськогосподарські будівлі як місця гніздування [3, 16, 17]. Вони харчуються комахами та дрібними фруктами, тому їхню увагу не привертає корм для домашньої птиці, яйця або трупи, проте ці птахи постійно присутні на птахофабриці і саме це може становити небезпеку, оскільки вони також можуть грати певну роль у передачі вірусу грипу птиці типу А. Саме інфекції у дрозда мандрівного не було виявлено, проте два птахи були серопозитивними до вірусу H5N8 [19].

Чорний дрізд (*Turdus merula*) може грати аналогічну роль, оскільки його також спостерігали на птахофабриках у Нідерландах, Німеччині [2, 18]. У дослідженні з наглядом за вірусом пташиного грипу А у диких птахів у США вірусу РНК цієї хвороби було виявлено у змивах з клоаки як у дроздів мандрівних, так і у дроздів Свенсона (*Catharus ustulatus*) у п'яти зі 133 і у 10 з 265 особин відповідно [19]. Експериментальні дослідження щодо інфікування дроздів мандрівних з використанням трьох різних штамів H5 показали, що дрозди мандрівні були дуже чутливими до вірусів (було інфіковано 22 з 25 особин), при цьому високі титри вірусу було виявлено в оральних змивах [20]. З огляду на поширення дроздів мандрівних на фермах у Північній Америці і потенційну сприйнятливість до вірусу пташиного грипу, цей вид повинен стати високо пріоритетним для подальших досліджень, щоб оцінити ризик, який ці птахи можуть зіграти в потенційній вторинній передачі інфекції домашній птиці.

Блідий дрізд (*Turdus pallidus*), що мешкає в Японії. Цей вид, як відомо, населяє крайові середовища проживання, і тому був вивчений як потенційний господар для вірусу пташиного грипу [21]. У дослідженні птиці були заражені вірусом H5N1. Дрозди були дуже сприйнятливими

до інфекції, а інфіковані загиблі птахи мали високі титри вірусу в тканинах легень. У висновках автори припускають, що дрозди можуть бути сприйнятливі до кількох вірусів пташиного грипу, але потрібна додаткова робота для оцінки ризику вторинного поширення, пов'язаного з цим сімейством птахів.

Passeridae (горобцеві). Є два синантропні види в цьому сімействі — це польовий горобець (*Passer montanus*) і хатній горобець (*Passer domesticus*). Обидва види є дуже поширеними як в містах, так і в сільській місцевості. Під час обліку птахів на птахофабриках, цей вид помічено у Нідерландах, Німеччині, Канаді, на південному сході Бразилії та у Мексиці [2, 3, 9, 18, 22], де вони зазвичай мешкали у приміщеннях, а також на прилеглих водно-болотних угіддях. Було проведено багато досліджень з відбором проб на предмет впливу вірусу пташиного грипу. У 13 дослідженнях, присвячених епідеміологічному нагляду за горобцями, серологічна поширеність є дуже високою та складала 11,4 % позитивних досліджених, при значно нижчому рівні вивченості вірус-РНК-позитивних 0,64 % (табл. 2).

Таблиця 2 — Спостереження за вірусом грипу А у домашнього і польового горобців

Місце розташування	Відбір проб	Серологічне обстеження (N вибірок)	Серологічне обстеження (позитивних)	Вірус/РНК виявлення (N вибірок)	Вірус/РНК виявлення (N позитивних)	Цитата
Австралія	1985	?	1 H7N7	–	–	[13]
Гонконг, <i>P. montanus</i>	2002	–	–	1	1 H5N1	[33]
Китай, <i>P. montanus</i>	2004	–	–	38	4	[34]
Таїланд, <i>P. montanus</i>	2004–2008	–	–	118	0	[35]
Китай, <i>P. montanus</i>	2008	–	–	68	1 H5N1	[25]
Каліфорнія США, <i>P. domesticus</i>	2005–2008	–	–	77	1	[36]
Китай, <i>P. montanus</i>	2011	800	94	1300	0	[24]
Індонезія, <i>P. montanus</i>	2010	–	–	1	1	[37]
Китай, <i>P. montanus</i>	2013	–	–	?	–	[38]
Китай, <i>P. montanus</i>	2006–2009	–	–	?	4	[37]
Огайо, США, <i>P. domesticus</i>		–	–	373	0	[39]
Айова, США, <i>P. domesticus</i>	2015–2016	44	0	44	0	[40]
Мексика, <i>P. domesticus</i>	2010–2012	–	–	9	5	[41]
Разом		844	94 (11,14%)	2029	13 (0,64 %)	

Багато експериментальних досліджень присвячено інфікуванню горобців. У цілому, ці дослідження показують, що горобці сприйнятливі до більшості вивчених вірусів пташиного грипу А, вони часто виділяють його у високих титрах і можуть передавати шляхом контакту. У дослідженні вірусу H7N7 на домашніх горобцях, у експериментально інфікованих птахів виявляли високі титри вірусу в багатьох тканинах, одна третина птахів загинула, але контактні не були інфіковані [14]. Домашні горобці також були заражені H5N1 у трьох дослідженнях. В одному дослідженні у домашніх горобців спостерігалися легкі клінічні ознаки, відсутність вираженої хвороби та відсутність смертності, і лише обмежені докази наявності антигену в тканинах [14]. Цікаво, що це дослідження показало обмежену захворюваність і смертність горобців від цього штаму H5N1. Учені виявили, що в другому дослідженні, в якому оцінювали чотири штами H5N1, домашні горобці були сприйнятливими до всіх чотирьох штамів вірусу, виділяли помірні титри вірусу і мали високі показники смертності [15]. Третє дослідження H5N1 у домашніх горобців показало, що птахи були дуже сприйнятливими до вірусу навіть за низьких

інфекційних доз [23]. Аналогічним чином, одне дослідження H5N1 у горобців показало, що більшість птахів померло від інфекції [24], а друге дослідження показало, що всі птахи були інфікованими, виділяли помірні титри вірусу, і двоє з восьми птахів, що контактували, заразилися. [25].

У трьох дослідженнях вірусу H5N1 у польових горобців у Камбоджі, яка є країною Південно-Східної Азії, показали внутрішньовидову і міжвидову передачу. В одному випадку горобці з прямою інокуляцією були дуже сприйнятливими до вірусу, мали високий рівень вірусного навантаження і смертність, але жоден контактний польовий горобець не заразився [26]. Однак контактна передача зустрічалася з курчатами, і більше половини горобців, які контактували з інфікованими курчатами, показали високі титри вірусної РНК в мазках, взятих з пір'я. В іншому дослідженні вірусу H5N1 польові горобці, які безпосередньо були заражені, вмирали як за низьких, так і високих дозах, а контактні курчата заражалися водою, зараженою інфікованими горобцями [27]. Третє дослідження H5N1 у домашніх горобців підтвердило високу сприйнятливість і линьку у безпосередньо щеплених птахів, деяку контактну передачу горобцями, що контактували з інфікованими курчатами, і відсутність контактної передачі від курчат, які контактували з інфікованими горобцями [28].

Домашні горобці, які були експериментально інфіковані вірусом H3N8, показали помірну сприйнятливість [29]. Експериментальне дослідження домашніх горобців у Пакистані, інфікованих вірусом H9N2, показало ефективну передачу інфекції від домашніх горобців до курчат в обох напрямках [30], але птахи, інфіковані H7N9, в іншому дослідженні показали обмежену контактну передачу, хоча інфіковані птиці виділяли вірус у високих титрах [31]. Таким чином, аналізуючи дані представлених досліджень можна зробити висновок, що домашні горобці є сприйнятливими до більшості штамів вірусу пташиного грипу з виділенням від помірної до високої і здатністю контактної передачі, але їхня реакція на вірус пташиного грипу може бути більш варіабельною.

Fringillidae (в'юркові) — родина, яка складається з великої кількості видів, але тільки деякі з них виявляють синантропні тенденції, у першу чергу мексиканська чечевиця (*Haemorrhous mexicanus*) в Північній Америці і зяблик звичайний (*Fringilla coelebs*) в Європі. У Північній Америці чечевиці були частими гостями як на птахофермах, так і на заболочених територіях [3], у Німеччині зяблики — звичайним явищем. Зяблика звичайного часто знаходили в межах 500 м від пташників, при цьому були випадки гніздування всередині пташників [2]. Хоча ці птахи часто відвідують ферми, проведено мало досліджень з оцінювання вірусу пташиного грипу А у цих видів. При дослідженні 131 зяблика в Гельголанді (Німеччина) вірусів грипу не було ізольовано [32]. У Каліфорнії, США, у зразках від 420 мексиканських чечевиць виявили тільки два позитивних результати на РНК вірусу грипу. Ці результати дають нам можливість припускати, що в'юркові навряд чи будуть грати роль в епідеміології вірусу пташиного грипу, але для підтвердження потрібні додаткові дослідження.

Ряд Горобцеподібних налічує найбільшу кількість птахів в Україні — близько 177 видів, а тому горобцеподібні найчастіше зустрічаються у найближчому оточенні. В Україні поширені співучі горобцеподібні, які належать до 21 родини. Унаслідок інтенсивного, майже безперервного споживання їжі, рухливості і повсюдного поширення ця група тварин має надзвичайно важливе значення в житті екологічних систем, а отже, і в житті людини. З 360 видів птахів, які населяють східні області України, особливої уваги заслуговують птахи-синантропи, тобто ті птахи, які живуть постійно або частково біля житла людини. Сюди належать і горобці (ареал проживання — поширений в Україні повсюдно), галка (мешкає всюди), грак (завойовує урбанізовані ландшафти і повністю пов'язаний з діяльністю людини), сорока (осілий птах), велика синиця (на Україні осілий птах), чорний дрізд (перелітний птах), шпак (є одним з найчисленніших птахів європейського регіону), сіра мухоловка (на Україні цей вид птахів гніздовий на всій території, перелітний), снігур, ластівки (найчисленніший перелітний птах) та інші. Таким чином, можна вважати що дикі птахи родини Горобцеподібні можуть представляти небезпеку у поширенні вірусу грипу в природному резервуарі та передачі його свійським птахам. Також це доводить необхідність проведення досліджень цієї групи птахів в Україні [53, 54].

Висновки. З птахами пов'язані епідеміологічні проблеми, адже грип птиці представляє небезпеку для усіх видів птиці, це емерджентна інфекція, за якою потрібен епідеміологічний нагляд. У ході огляду зарубіжної літератури та досліджень, які були проведені за кордоном,

з'ясовано, що дикі птахи ряду Горобцеподібних з родин Corvidae, Hirundae, Sturnidae, Turdidae, Passeridae, Fringillidae є потенційними носіями вірусу грипу птиці. Хоча кількість задокументованих випадків захворювання та виділення вірусу грипу від птахів цієї групи є значно меншою у порівнянні з водоплавними та навколводними птахами, ця група птахів потенційно може бути переносниками чи ланкою в ланцюзі переносу вірусу від водоплавних до свійських через горобцеподібних птахів. Особливо це стосується видів, які є синантропними чи можуть ними бути за певних умов. Ураховуючи розвинене птахівництво України, актуальність грипу птиці, широку циркуляцію вірусу грипу в природному резервуарі серед диких водоплавних птахів, а також величезну кількість горобцеподібних птахів, виникає необхідність з'ясування ролі цих птахів у розповсюдженні та підтриманні циркуляції вірусу грипу в Україні.

Подяка. Частина даних, використаних для написання цієї статті, отримана в рамках реалізації проекту № 2021.01/0006 «Вивчення циркуляції зоонотичних вірусів грипу А в природному резервуарі, оцінка їх епідемічних ризиків та небезпеки для здоров'я людини в Україні», який реалізується завдяки грантовій підтримці Національного фонду досліджень України.

Список літератури

1. Shriner S. A., Root J. J. A review of avian influenza A virus associations in synanthropic birds. *Viruses*. 2020. Vol. 12, No 11. P. 1209. DOI: <https://doi.org/10.3390/v12111209>.
2. Römer A., Fiedler W. Contacts between wild birds and domestic poultry — A serious factor in transmission of avian influenza? *Vogelwarte*. 2011. Vol. 49, No 3. P. 149–61.
3. Burns T. E. et al. Use of observed wild bird activity on poultry farms and a literature review to target species as high priority for avian influenza testing in 2 regions of Canada. *The Canadian Veterinary Journal*. 2012. Vol. 53, No 2. P. 158–166. PMID: [22851777](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22851777/).
4. Boender G. J. et al. Risk maps for the spread of highly pathogenic avian influenza in poultry. *PLoS Computational Biology*, 2007. Vol. 3, No 4. e71. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0030071>.
5. Biswas P. K. et al. Risk for highly pathogenic avian influenza H5N1 virus infection in chickens in small-scale commercial farms, in a high-risk area, Bangladesh, 2008. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2011. Vol. 58, No 6. P. 519–525. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01235.x>.
6. Khan S. U. et al. Investigating a crow die-off in January–February 2011 during the introduction of a new clade of highly pathogenic avian influenza virus H5N1 into Bangladesh. *Archives of Virology*. 2014. Vol. 159, No 3. P. 509–518. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1842-0>.
7. Ferrazzi V. et al. Microbiological and serological monitoring in hooded crow (*Corvus corone cornix*) in the Region Lombardia, Italy. *Italian Journal of Animal Science*. 2007. Vol. 6, No 3. P. 309–312. DOI: <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.309>.
8. Caron A. et al. Bridge hosts for avian influenza viruses at the wildlife/domestic interface: an eco-epidemiological framework implemented in southern Africa. *Preventive Veterinary Medicine*. 2014. Vol. 117, No 3–4. P. 590–600. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.09.014>.
9. Valdez-Gómez H. E. et al. Risk factors for the transmission of infectious diseases agents at the wild birds-commercial birds interface. A pilot study in the region of the Altos de Jalisco, Mexico. *Bulletin De L'academie Veterinaire De France*. 2017. Vol. 170. P. 142–150. URL: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/5852192>.
10. Shriner S. et al. Surveillance for highly pathogenic H5 avian influenza virus in synanthropic wildlife associated with poultry farms during an acute outbreak. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. P. 36237. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep36237>.
11. Gronesova P. et al. Using nested RT-PCR analyses to determine the prevalence of avian influenza viruses in passerines in western Slovakia, during summer 2007. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2008. Vol. 40, No 11–12. P. 954–957. DOI: <https://doi.org/10.1080/00365540802400576>.
12. Zhong G. et al. Isolation of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in 2009–2013 in Vietnam. *Frontiers in Microbiology*. 2019. Vol. 10. P. 1411. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01411>.
13. Nestorowicz A. et al. Molecular analysis of the hemagglutinin genes of Australian H7N7 influenza viruses: Role of passerine birds in maintenance or transmission? *Virology*. 1987. Vol. 160, Issue 2. P. 411–418. DOI: [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(87\)90012-2](https://doi.org/10.1016/0042-6822(87)90012-2).
14. Perkins L. E., Swayne D. E. Comparative susceptibility of selected avian and mammalian species to a Hong Kong-origin H5N1 high-pathogenicity avian influenza virus. *Avian Diseases*. 2003. Vol. 47, Suppl. 3. P. 956–967. DOI: <https://doi.org/10.1637/0005-2086-47.s3.956>.
15. Boon A. C. et al. Role of terrestrial wild birds in ecology of influenza A virus (H5N1). *Emerging Infectious Diseases*. 2007. Vol. 13, No 11. P. 1720–1724. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1311.070114>.
16. Bahl J. et al. Ecosystem interactions underlie the spread of avian influenza A viruses with pandemic potential. *PLoS Pathogens*. 2016. Vol 12, No 5. e1005620. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005620>.
17. Peiris J. S., de Jong M. D., Guan Y. Avian influenza virus (H5N1): a threat to human health. *Clinical Microbiology Reviews*. 2007. Vol. 20, No 2. P. 243–267. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00037-06>.
18. Elbers A. R. W., Gonzales J. L. Quantification of visits of wild fauna to a commercial free-range layer farm in the Netherlands located in an avian influenza hot-spot area assessed by video-camera monitoring. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2020. Vol. 67, No 2. P. 661–677. DOI: <https://doi.org/10.1111/tbed.13382>.

19. Fuller T. L. et al. Mapping the risk of avian influenza in wild birds in the US. *BMC Infectious Diseases*. 2010. Vol. 10. P. 187. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-187>.
20. Root J. J. et al. Viral shedding of clade 2.3.4.4 H5 highly pathogenic avian influenza A viruses by American robins. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2018. Vol. 65, No 6. P. 1823–1827. DOI: <https://doi.org/10.1111/tbed.12959>.
21. Fujimoto Y. et al. Susceptibility of two species of wild terrestrial birds to infection with a highly pathogenic avian influenza virus of H5N1 subtype. *Avian Pathology*. 2010. Vol. 39, No 2. P. 95–98. DOI: <https://doi.org/10.1080/03079451003599268>.
22. Guimarães M. B. et al. Surveillance for Newcastle Disease Virus, Avian Influenza Virus and *Mycoplasma gallisepticum* in wild birds near commercial poultry farms surrounded by Atlantic Rainforest remnants, southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 2016. Vol. 18. P. 387–394. DOI: <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2015-0164>.
23. Brown J. D. et al. Infectious and lethal doses of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus for house sparrows (*Passer domesticus*) and rock pigeons (*Columbia livia*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2009. Vol. 21, No 4. P. 437–445. DOI: <https://doi.org/10.1177/104063870902100404>.
24. Han Y. et al. A survey of avian influenza in tree sparrows in China in 2011. *PLoS One*. 2012. Vol. 7, No 4. e33092. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033092>.
25. Liu Q. et al. Characterization of a highly pathogenic avian influenza H5N1 clade 2.3.4 virus isolated from a tree sparrow. *Virus Research*. 2010. Vol. 147, No 1. P. 25–29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.09.014>.
26. Gutiérrez R. A. et al. Eurasian Tree Sparrows, risk for H5N1 virus spread and human contamination through Buddhist ritual: an experimental approach. *PLoS One*. 2011. Vol. 6, No 12. e28609. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028609>.
27. Yamamoto Y. et al. Pathogenesis in Eurasian tree sparrows inoculated with H5N1 highly pathogenic avian influenza virus and experimental virus transmission from tree sparrows to chickens. *Avian Diseases*. 2013. Vol. 57, No 2. P. 205–213. DOI: <https://doi.org/10.1637/10415-101012-Reg.1>.
28. Forrest H. L., Kim J. K., Webster R. G. Virus shedding and potential for interspecies waterborne transmission of highly pathogenic H5N1 influenza virus in sparrows and chickens. *Journal of Virology*. 2010. Vol. 84, No 7. P. 3718–3720. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.02017-09>.
29. Nemeth N. M. et al. Shedding and serologic responses following primary and secondary inoculation of house sparrows (*Passer domesticus*) and European starlings (*Sturnus vulgaris*) with low-pathogenicity avian influenza virus. *Avian Pathology*. 2010. Vol. 39, No 5. P. 411–418. DOI: <https://doi.org/10.1080/03079457.2010.513043>.
30. Iqbal M. et al. Infectivity and transmissibility of H9N2 avian influenza virus in chickens and wild terrestrial birds. *Veterinary Research*. 2013. Vol. 44, No 1. P. 100. DOI: <https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-100>.
31. Jones, J. C. et al. Possible role of songbirds and parakeets in transmission of influenza A(H7N9) virus to humans. *Emerging Infectious Diseases*. 2014. Vol. 20, No 3. P. 380–385. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2003.131271>.
32. Schnebe B. et al. Investigations on infection status with H5 and H7 avian influenza virus in short-distance and long-distance migrant birds in 2001. *Avian Diseases*. 2007. Vol. 51. P. 432–433. DOI: <https://doi.org/10.1637/7546-033106R.1>.
33. Ellis T. M. et al. Investigation of outbreaks of highly pathogenic H5N1 avian influenza in waterfowl and wild birds in Hong Kong in late 2002. *Avian Pathology*. 2004. Vol. 33, No 5. P. 492–505. DOI: <https://doi.org/10.1080/03079450400003601>.
34. Kou Z. et al. New genotype of avian influenza H5N1 viruses isolated from tree sparrows in China. *Journal of Virology*. 2005. Vol. 79, No 24. P. 15460–15466. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.79.24.15460-15466.2005>.
35. Amonsin A. et al. Influenza virus (H5N1) in live bird markets and food markets, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*. 2008. Vol. 14, No 11. P. 1739–1742. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1411.080683>.
36. Siembieda J. L. et al. Influenza A viruses in wild birds of the Pacific flyway, 2005–2008. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*. 2010. Vol. 10, No 8. P. 793–800. DOI: <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0095>.
37. Poetranto E. D. et al. An H5N1 highly pathogenic avian influenza virus isolated from a local tree sparrow in Indonesia. *Microbiology and Immunology*. 2011. Vol. 55, No 9. P. 666–672. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2011.00361.x>.
38. Zhao B. et al. Novel avian influenza A(H7N9) virus in tree sparrow, Shanghai, China, 2013. *Emerging Infectious Diseases*. 2014. Vol. 20, No 5. P. 850–853. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2005.131707>.
39. Morishita T. Y. et al. Survey of pathogens and blood parasites in free-living passerines. *Avian Diseases*. 1999. Vol. 43, No 3. P. 549–552. DOI: <https://doi.org/10.2307/1592655>.
40. Houston D. D. et al. Evaluating the role of wild songbirds or rodents in spreading avian influenza virus across an agricultural landscape. *PeerJ*. 2017. Vol. 5. P. e4060. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.4060>.
41. Cerda-Armijo C. et al. High prevalence of avian influenza virus among wild waterbirds and land birds of Mexico. *Avian Diseases*. 2020. Vol. 64, No 2. P. 135–142. DOI: <https://doi.org/10.1637/0005-2086-64.2.135>.
42. Lipkind M. A. et al. Characterization of avian influenza viruses isolated in Israel in 1978–1979. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 1980. Vol. 3, No (1-2). P. 185–192. DOI: [https://doi.org/10.1016/0147-9571\(80\)90055-7](https://doi.org/10.1016/0147-9571(80)90055-7).
43. Alexander D. J. Isolation of influenza A viruses from birds in Great Britain during 1980 and 1981. *The Veterinary Record*. 1982. Vol. 111, No 14. P. 319–321. DOI: <https://doi.org/10.1136/vr.111.14.319>.
44. Lipkind, M. A. et al. Review of the three-year studies on the ecology of avian influenza viruses in Israel. *Avian Diseases*. 2003. Vol. 47, Special Issue, 69–78. URL: <https://www.jstor.org/stable/3298871>.
45. Stallknecht D. E., Shane S. M. Host range of avian influenza virus in free-living birds. *Veterinary Research Communications*. 1988. Vol. 12. P. 125–141. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00362792>.

46. Brown J. D. et al. Prevalence of antibodies to type A influenza virus in wild avian species using two serologic assays. *Journal of Wildlife Diseases*. 2010. Vol. 46, No 3. P. 896–911. DOI: <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.3.896>.
47. Račnik J. et al. Evidence of avian influenza virus and paramyxovirus subtype 2 in wild-living passerine birds in Slovenia. *European Journal of Wildlife Research*. 2008. Vol. 54. P. 529–532. DOI: <https://10.1007/s10344-007-0164-5>.
48. L'vov D. K. et al. [Interpretation of the epizootic outbreak among wild and domestic birds in the south of the European part of Russia in December 2007]. *Voprosy Virusologii*. 2008. Vol. 53, No 4. P. 18–23. PMID: 18756811.
49. AL-Attar M. Y., Danial F. A., Al-Baroodi S. Y. Detection of antibodies against avian influenza virus in wild pigeons and starlings. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2008. Vol. 7. P. 448–449. URL: <https://medwelljournals.com/abstract/?doi=javaa.2008.448.449>.
50. Qin Z. et al. Detection of influenza viral gene in European starlings and experimental infection. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2011. Vol. 5, No 4. P. 268–275. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1750-2659.2010.00190.x>.
51. Pearson H. E. et al. Pathogen presence in European starlings inhabiting commercial piggeries in South Australia. *Avian Diseases*. 2016. Vol. 60, No 2. P. 430–436. DOI: <https://doi.org/10.1637/11304-101815-Reg>.
52. Клестова З. С. Емерджентні вірусні захворювання тварин та прогнозування біоризиків. *Ветеринарна біотехнологія*. 2016. Вип. 29. С. 117–131. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb_2016_29_15.
53. Музика Д. В., Стегній Б. Т. Дикі птахи як один з головних факторів розповсюдження збудників інфекцій птиці, тварин і людей. *Ветеринарна медицина*. 2012. Вип. 96. С. 222–224. URL: <https://www.jvm.kharkov.ua/sbornik/96/89.pdf>.
54. Булахов В. Л. та ін. Біологічне різноманіття України. Дніпропетровська область. Птахи: Горобцеподібні (Aves: Passeriformes): монографія / за заг. ред. проф. О. Є Пахомова. Дніпропетровськ: Вид-во ДНУ, 2015. 522 с. URL: https://www.zoology.dp.ua/wp-content/downloads/pahomov/PA_15_01.pdf.

PASSERIFORM BIRDS AS POTENTIAL RESERVOIRS AND VECTORS OF INFLUENZA A VIRUS (LITERATURE REVIEW)

Nikitina A. O., Muzyka D. V.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

The article presents the results of the study of foreign literature on birds of the Passeriformes order as one of the potential vectors of influenza A virus. In general, waterfowl are the main reservoir of influenza A viruses from which the virus spreads to poultry. Passerines pose a threat to poultry farms and poultry because they can feed in a common area and release the virus. Experimental studies show that passerines are susceptible to influenza A virus and have relatively high titers of the virus, meaning that they may contribute to its circulation in nature

Keywords: epizootic monitoring, emerging dangerous infections

УДК 619:616.98-036.22:579:636.085.55:[636.5+598.2]

DOI 10.36016/VM-2022-108-5

МОНІТОРИНГ БАКТЕРІАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ТА ДИКОЇ ПТИЦІ У 2016–2020 РОКАХ В УКРАЇНІ, ПРОГНОЗУВАННЯ ЕПІЗООТИЧНОЇ СИТУАЦІЇ

Майборода О. В., Ечкенко Р. В., Рула О. М., Стегній Б. Т., Музика Д. В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: maiboroda.olga@gmail.com

У статті наведено узагальнені результати бактеріологічних досліджень біологічного матеріалу від сільськогосподарської та дикої птиці, комбікормів та їхніх складових для годування птиці. Епізоотологічний моніторинг щодо циркуляції збудників бактеріальних хвороб птиці та бактеріологічні дослідження було проведено впродовж 2016–2020 років. У сільськогосподарської птиці встановлено циркуляцію широкого спектру збудників бактеріальних інфекцій. Умовно-патогенні мікроорганізми з родини Enterobacteriaceae, які ізолювали від сільськогосподарської птиці були доміантними, їх ізолювали в 73,4 % випадків. Інфікованість птиці збудниками з родин Clostridiaceae, Staphylococcaceae, Pseudomonadaceae, Bacillaceae та грибовою флорою не є значною (від 1,5 до 8,3 %). Збудники сальмонельозів у різні роки становили від 0,5 до 3,7 % випадків від загальної кількості бактерій з родини Enterobacteriaceae. Escherichia coli ізолювали в 38,9 % випадках, мікроорганізми роду

Enterobacter spp. — 26,6 %; *Citrobacter spp.* — 13,0 %; *Proteus spp.* — 10,5 %. У диких птахів доміантними, як і в минулі роки, були збудники з родини *Enterobacteriaceae*, що становили від 62 до 100 % від загальної кількості виділених бактеріальних патогенів. Мікроорганізми роду *Escherichia spp.* ізолювали у 28,3 % випадків, *Salmonella spp.* — 1,1 %, *Enterobacter spp.* — 34,2 %, *Citrobacter spp.* — 16,1 %, *Proteus spp.* — 15,5 %, *Serratia spp.* — 2,3 %, *Morganella spp.* — 0,9 %, *Edwardsiella spp.* — 0,6 %. За результатами бактеріологічних досліджень комбікормів та їхніх складових установлено, що 59 % (110 проб) не відповідали критеріям якості та безпечності, які наведені у наказі МінАППУ № 131 від 19.03.2012 р. Так комбікорми не відповідали нормам за наявністю сульфитредукуючих клостридій у 14,9 % випадків, за загальною бактеріальною забрудненістю — у 54,4 % та перевищенням загальної кількості ентеробактерій — у 30,7 %. Основними бактеріальними контамінантами комбікормів були умовно-патогенні мікроорганізми з родини *Enterobacteriaceae* (72,7 %), *Clostridiaceae* (19,0 %) та *Bacillaceae* (6,6 %).

Ключові слова: *Enterobacteriaceae*, *Salmonella*, контамінація кормів

Птахівництво — одна з провідних галузей у виробництві продукції м'ясного походження для вживання людиною. Інтенсифікація виробництва птахівничої продукції пов'язана з утриманням значної вирощуваної кількості птиці на обмеженій території, що може сприяти посиленню передачі інфекційних патогенів серед птахопоголов'я. Патогени птиці, такі як кишкова паличка та сальмонела, здатні спричиняти захворювання та є небезпечними для людини.

Інтегрований нагляд у ланцюзі виробництва птахопродукції (включаючи ферми, роздрібну торгівлю, громадське харчування та споживачів), дотримання стратегії стримування інфекцій, контроль патогенів у людини та птиці, відповідно до концепції «Єдине здоров'я» дозволить мінімізувати забруднення та зменшити передачу збудників по харчовому ланцюгу. Даний підхід є обов'язковим у світовому масштабі. Крім того, постійне спостереження за рівнем резистентності збудників бактеріальних патогенів є надзвичайно важливим [1].

Незважаючи на успіхи останніх років в оптимізації годівлі м'ясної і яєчної птиці, роль мікробної контамінації корму в зниженні ефективності виробництва, без сумніву, вимагає додаткової уваги. За даними багатьох науковців кормові компоненти для приготування комбікорму для птиці часто є контамінованими різними мікроорганізмами [2, 3]. При цьому, частина мікроорганізмів залишаються відносно нешкідливими, у той час як інші, включаючи кишкову паличку, клостридії та сальмонелу, потребують суворого контролю. З метою забезпечення бактеріальної безпечності вітчизняні виробники комбікормів проводять дослідження компонентів та готової продукції згідно вимог Наказу МінАППУ № 131 від 19.03.2012 р. зі змінами № 550 від 11.10.2017 р.

У контексті поширення серед людей зоонозних інфекцій, необхідно звернути увагу на природні резервуари патогенів. До таких резервуарів відносяться дикі птахи. За літературними даними [4] одним з факторів збільшення кількості реєстрації інфекційних хвороб серед сільськогосподарської птиці, а також людей, є безпосередній контакт їх з дикою, синантропною та екзотичною птицею. За рахунок такого тісного обміну виникають нові властивості мікроорганізмів. Дикі птахи, з їхніми широкими географічними ареалами та тісною взаємодією з людьми, історично відіграють важливу роль як носії збудників хвороб людини і тварин та як резервуари для стійких до антибіотиків мікроорганізмів.

Мета роботи. Моніторинг бактеріальних збудників серед сільськогосподарської і дикої птиці та комбікормів для годівлі птиці, а також аналіз розвитку епізоотичної ситуації в Україні.

Матеріали та методи. Дослідження проведені у відділі хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ» у 2016–2020 рр.

Бактеріологічні дослідження птиці проведено в птахогосподарствах різної форми власності 16 областей України, усього було досліджено 2 172 проби біологічного матеріалу (внутрішні органи) від сільськогосподарської птиці (курчата, кури-несучки, качки, гуси, індики) та декоративної птиці (перепелів, куріпок, фазанів, павичів).

З метою вивчення циркуляції бактеріальних збудників серед дикої навколородної та водоплавної птиці ряду Гусеподібних (*Anseriformes*) та Сивкоподібних (*Charadriiformes*) було відібрано 615 об'єднаних проб біологічного матеріалу (проби посліду, клоакальні змиви) від 2 568 гол. птиці у містах відпочинку та годівлі на території заповідників Півдня України (крижень,

чоботар, гуска білолоба, галагаз, мартин сивий, чирянка мала, лиска, огар, свищ, лебідь-кликун, лебідь-шипун, гуска сіра), також від синантропних птахів (сизий голуб) у містах та на територіях фермерських господарств.

Під час роботи з біологічним матеріалом дотримувались правила відбору зразків патологічного матеріалу, крові, кормів, води та транспортування їх для лабораторного дослідження, затверджених наказом Державного департаменту ветеринарної медицини Мінагрополітики України від 15.04.1997 № 15-14/111, постанови Комісії CR 1168/2006/ЄС та ДСТУ 4769:2007 [5].

Бактеріологічні дослідження з біологічного та патологічного матеріалів від птахів проводили за загальноприйнятою методикою з використанням рідких селективних збагачуючих поживних та щільних диференційно-діагностичних середовищ [6–8].

Для встановлення рівня контамінації кормів для птиці та їхніх складових збудниками бактеріальних інфекцій було досліджено 185 проб комбікормів та сировини для їх виготовлення (пшениця, кукурудза, шрот соняшниковий, просо тощо) з 10 областей України згідно з чинними нормативними документами за загальноприйнятими методиками [6–8].

Результати досліджень. За результатами бактеріологічних досліджень серед сільськогосподарської птиці (n = 2 172) переважають ентеробактеріози, які складають найбільший потенційний ризик для здоров'я людини (у разі контамінації збудниками продуктів птахівництва). Ми провели розрахунки щодо відсоткового співвідношення ізольованих бактеріальних патогенів (табл. 1).

Таблиця 1 — Родини ізольованих бактеріальних патогенів серед сільськогосподарської птиці в Україні (2016–2020 рр.)

Найменування культур	Частка від загальної кількості культур, %					
	2016 р.	2017 р.	2018 р.	2019 р.	2020 р.	2016–2020 рр.
Enterobacteriaceae	72,7	69,1	84,0	76,6	64,8	73,4
Staphylococcaceae (<i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>St. aureus</i> , <i>St. pneumoniae</i>)	8,3	2,4	0,5	5,9	4,8	4,4
Streptococcaceae	–	–	1,5	–	–	0,3
Enterococcaceae (<i>Enterococcus faecalis</i>)	4,9	–	–	–	2,6	1,5
Pseudomonadaceae (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	1,2	5,6	1,5	2,9	1,5	2,5
Corynebacteriaceae (<i>Corynebacterium</i> spp.)	0,9	1,6	–	–	–	0,5
Pasteurellaceae (<i>Haemophilus gallinarum</i>)	0,5	–	–	–	–	0,1
Neisseriaceae (<i>Neisseria</i> spp.)	–	2,3	–	–	–	0,5
Alcaligenaceae (<i>Alcaligenes faecalis</i>)	–	0,8	–	–	–	0,2
Clostridiaceae (<i>Clostridium</i> spp.)	–	11,9	9,5	2,9	17,0	8,3
Bacillaceae (<i>Bacillus</i> spp.)	–	–	0,5	2,9	5,9	1,9
Mycoplasmataceae (<i>Mycoplasma gallisepticum</i>)	11,5	6,3	2,5	2,9	1,8	5,2
грибкова флора	–	–	–	5,9	1,8	1,5
Інші представники родин	27,3	30,9	16,0	23,4	35,2	26,6

Установлено, що 73,4 % виділених культур від сільськогосподарської птиці відносяться до родини Enterobacteriaceae. Це майже у дев'ять разів більше, ніж культур з родини Clostridiaceae (8,3 %), або у 15–20 разів більше, ніж з родин Mycoplasmataceae (5,2 %) та Staphylococcaceae (4,4 %). У інших восьми родин (Streptococcaceae, Enterococcaceae, Pseudomonadaceae, Corynebacteriaceae, Pasteurellaceae, Neisseriaceae, Alcaligenaceae, Bacillaceae) цей показник ще нижчий.

Що стосується культур ентеробактерій, ізольованих від сільськогосподарської птиці, результати наведені у табл. 2.

Упродовж останніх років спостерігається тенденція до збільшення ролі умовно-патогенної бактеріальної флори роду *Escherichia* spp. (38,9 %), *Enterobacter* spp. (26,6 %), *Citrobacter* spp. (13,0 %), *Proteus* spp. (10,5 %) (табл. 2). Особливу увагу необхідно звернути на епідеміологічно

значимі інфекції, наприклад, сальмонельоз. Так, збудники сальмонельозів у різні роки становили від 0,5 до 3,7 % випадків від загальної кількості бактерій з родини Enterobacteriaceae. Установлено одночасний перебіг клостридіозів із колибактеріозом, цитробактеріозом та іншими хворобами, що спричиняються збудниками родини Enterobacteriaceae.

Таблиця 2 — Культури кишкової групи (Enterobacteriaceae) від сільськогосподарської птиці (2016–2020 рр.)

Найменування культур	Частка від загальної кількості культур ентеробактерій, %					
	2016 р.	2017 р.	2018 р.	2019 р.	2020 р.	2016–2020 рр.
<i>Escherichia</i> (<i>E. coli</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. fergusonii</i> , <i>E. hermannii</i>)	31,9	12,7	32,2	22,4	45,8	38,9
<i>Citrobacter</i> (<i>C. diversus</i> , <i>C. freundii</i>)	17,2	11,9	18,0	–	1,5	13,0
<i>Proteus</i> (<i>P. vulgaris</i> , <i>P. mirabilis</i>)	11,8	19,3	2,2	3,3	2,6	10,5
<i>Enterobacter</i> (<i>E. aerogenes</i> , <i>E. agglomerans</i> , <i>E. cancerogenus</i> , <i>E. dissolvens</i> , <i>E. asburiae</i> , <i>E. amnigenus</i> , <i>E. intermedius</i> , <i>E. sakazakii</i>)	11,3	10,3	15,2	49,6	12,9	26,6
<i>Morganella</i> spp. (<i>M. morganii</i>)	–	4,0	3,5	–	–	1,3
<i>Providencia</i> spp.	–	3,2	–	1,3	–	1,2
<i>Edwardsiella</i> spp.	–	8,0	1,5	–	–	2,6
<i>Serratia</i> (<i>S. plymuthica</i> , <i>S. ficaria</i>)	–	4,0	2,2	–	0,7	1,9
<i>Salmonella</i> spp.	0,5	3,7	2,2	–	1,1	2,0
<i>Kluyevera</i> (<i>K. ascorbata</i>)	–	0,8	2,2	–	–	0,8
<i>Klebsiella</i> spp.	–	–	4,8	–	–	1,3

Відмічено випадки асоційованого перебігу бактеріозів і мікоплазмозів птиці. У декоративної птиці з невеликих приватних господарств було виявлено субклінічний перебіг респіраторного мікоплазмозу, який здебільшого реєструвався в асоціації зі стафілококкозом, стрептококкозом. Випадки важкої пневмонії, спричиненої *Streptococcus avium* та/або *Staphylococcus aureus* виникали, якщо в господарстві не дотримувалися ветеринарно-санітарного режиму.

Що стосується диких птахів, то під час проведення моніторингових досліджень установлено циркуляцію умовно-патогенних мікроорганізмів з родин Enterobacteriaceae, Corynebacteriaceae, Alcaligenaceae, Moraxellaceae, Enterococcaceae, Pseudomonadaceae, Clostridiaceae (табл. 3).

Таблиця 3 — Бактеріальні збудники, ізольовані від диких і синатропних птахів (2017–2020 рр.)

Найменування культур (родина)	Частка від загальної кількості культур, %				
	2017 р.	2018 р.	2019 р.	2020 р.	у середньому за чотири роки, %
Enterobacteriaceae	62	100	100	66,7	84,3
Corynebacteriaceae	13,5	–	–	–	3,0
Alcaligenaceae	3,0	–	–	–	0,7
Moraxellaceae	3,5	–	–	–	0,8
Enterococcaceae	0,5	–	–	–	0,1
Pseudomonadaceae (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	–	–	–	13,3	2,9
Clostridiaceae (<i>Clostridium</i> spp.)	–	–	–	20,0	4,4
інші представники	17,5	–	–	–	3,8

Розділ 3. Епізоотологія та інфекційні хвороби

Найбільш масовою родиною була група Enterobacteriaceae (85,9 %), яка була представлена умовно-патогенними представниками (*Enterobacter* spp. — 34,2 %, *Escherichia coli* — 28,3 %), так і небезпечними патогенними — *Salmonella* spp. у різні роки становили від 0,5 до 3,7 % випадків від загальної кількості бактерій та була ізольована від гуски сірої (*Anser anser*) у 2017 р. (с. Приморське, Татарбунарський р-н, Одеська обл.) та крякви (*Anas platyrhynchos*) у 2018 р. (с. Олексіївка, Генічеський р-н, Херсонська обл.) (табл. 4).

Таблиця 4 — Бактеріальні культури кишкової групи (Enterobacteriaceae), ізольовані від диких та синатропних птахів (2017–2020 рр.)

Найменування культур	Частка від загальної кількості культур ентеробактерій, %				
	2017 р.	2018 р.	2019 р.	2020 р.	у середньому за чотири роки, %
<i>Enterobacter</i> (<i>E. agglomerans</i> , <i>E. dissolvens</i> , <i>E. cancerogenus</i> , <i>E. sakazakii</i> , <i>E. intermedius</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. asburiae</i>)	21	20	47,4	26,6	34,2
<i>Citrobacter</i> (<i>C. freundii</i> , <i>C. diversus</i>)	18,5	26,7	2,3	6,7	16,1
<i>Proteus</i> (<i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i>)	17,5	22,2	12,9	–	15,5
<i>Providencia</i> (<i>P. stuartii</i> , <i>P. rettgeri</i>)	–	2,2	1,2	–	1,0
<i>Escherichia</i> (<i>E. coli</i> , <i>E. fergusonii</i>)	12,5	20,0	31,0	33,4	28,3
<i>Serratia</i> (<i>S. marcescens</i> , <i>S. entomophila</i>)	3,5	–	5,8	–	2,3
<i>Morganella</i>	3,0	–	–	–	0,9
<i>Edwardsiella</i>	2,0	–	–	–	0,6
<i>Salmonella</i>	1,5	2,2	–	–	1,1

При дослідженні кормів та їхніх складових із дослідженої кількості 110 проб не відповідало наказу МінАППУ № 131 від 19.03.2012 р. зі змінами № 550 від 11.10.2017 за наявністю сульфідредуючих клостридій у 14,9 % випадків, за загальною бактеріальною забрудненістю — у 54,4 % та загальною кількістю ентеробактерій — у 30,7 %, а такий з показників, як загальна мікробна забрудненість зростає влітку в декілька разів, що може вказувати на незадовільне зберігання їхніх складових.

Основними контамінантами виступали наступні бактерії: *Enterobacter* spp. (виявлена у 41,31 % досліджених кормів), *Escherichia coli* (6,3 %), *Citrobacter* spp. (11,2 %) та сульфідредуючі *Clostridium* spp. (16,9 %) (табл. 5).

Таблиця 5 — Бактеріальні культури, ізольовані з комбікормів для годівлі птиці (2017–2020 рр.)

Бактеріальні культури	Частка від загальної кількості культур, %				
	2017 р.	2018 р.	2019 р.	2020 р.	у середньому за чотири роки, %
<i>Escherichia coli</i>	7,3	18,1	–	–	6,3
<i>Citrobacter</i> spp.	23,6	18,6	2,6	–	11,2
<i>Enterobacter</i> spp.	–	41,3	69,7	54,3	41,31
<i>Proteus</i> spp.	–	2,7	6,7	–	2,4
<i>Clostridium</i> spp.	39,5	19,3	6,7	2,2	16,9
<i>Staphylococcus</i> spp.	–	–	–	6,5	1,6
<i>Bacillus</i> spp.	–	–	1,3	23,9	6,3
<i>Kluyevera</i> spp.	–	–	2,6	6,5	2,3
<i>Serratia</i> spp.	–	–	10,5	2,2	3,2
<i>Providencia</i> spp.	–	–	–	4,4	1,1
інші представники	29,6	–	–	–	7,4

Ми вважаємо дуже важливим той факт, що ріст бактерій з роду *Clostridium* spp. був відмічений навіть при дослідженні проб кормів, ступінь бактеріальної забрудненості яких була

низькою та дуже низькою, що може вказувати на те, що режими технічної обробки (екструдвання, гранулювання) під час первинної підготовки комбікормів не дозволяють знищити спори збудників клостридіозів. Також необхідно додати, що дані аналізу біологічних властивостей ізолятів, виділених від хворої птиці та кормів у птахогосподарствах свідчать про те, що дуже часто джерелом вторинної контамінації кормів на складах стає послід хворої птиці, частки якого можуть потрапляти до комбікормів через недотримання співробітниками птахогосподарств санітарних норм.

Таким чином, проведений моніторинг щодо бактеріальних збудників серед сільськогосподарської і дикої птиці, а також комбікормів показав циркуляцію широкого спектру бактеріальних патогенів. Навіть дотримання ветеринарно-санітарних вимог не дає можливості повністю позбавитись від патогенних агентів, тому постійний моніторинг щодо розповсюдження збудників бактеріальних інфекцій серед сільськогосподарської, дикої та синантропної птиці є вкрай необхідним. Данні моніторингу дозволяють прогнозувати подальше ускладнення епізоотичної ситуації щодо небезпечних бактеріальних патогенів у разі відсутності належного контролю на усіх етапах.

Висновки. 1. Аналіз епізоотичної ситуації у птахогосподарствах України за 2016–2020 рр. свідчить про те, що серед бактеріальних інфекцій переважають ентеробактеріози (73,49 %), серед яких є потенційно зоонозні бактерії, а саме сальмонели.

2. Збудників сальмонельозів у різні роки ізолювали у 0,5–3,7 % випадків від загальної кількості мікроорганізмів з родини *Enterobacteriaceae*, що свідчить про постійну циркуляцію їх серед сільськогосподарського птахопоголів'я.

3. У порівнянні з попередніми роками встановлено збільшення частки умовно-патогенних бактерій з родини *Enterobacteriaceae*, зокрема мікроорганізмів роду *Escherichia* spp., які виділяли у 38,9 % випадків, *Enterobacter* spp. — 26,6 %, *Citrobacter* spp. — 13,0 %, *Proteus* spp. — 10,5 % та інші — 11 %, що також призводить до збільшення ролі умовно-патогенних мікроорганізмів з родини *Enterobacteriaceae* у розвитку патогенного процесу при утворенні асоціацій.

4. Ступінь інфікованості сільськогосподарської птиці представниками родин *Clostridiaceae*, *Mycoplasmataceae*, *Staphylococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Bacillaceae* та грибової флори не є значним — від 1,5 до 5,9 %.

5. У диких птахів доміантними також були умовно-патогенні мікроорганізми з родини *Enterobacteriaceae*, які ізолювали у 62–100 % від загальної кількості виділених бактеріальних патогенів. Ступінь інфікованості дикої птиці мікроорганізмами з родин *Corynebacteriaceae*, *Alcaligenaceae*, *Moraxellaceae*, *Enterococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Clostridiaceae* становила від 0,1 до 5,2 %.

6. Від дикої птиці мікроорганізми роду *Escherichia* spp. ізолювали у 28,3% випадків, *Salmonella* spp. — 1,1 %, *Enterobacter* spp. — 34,2 %, *Citrobacter* spp. — 16,1 %, *Proteus* spp. — 15,5 %, *Serratia* spp. — 2,3 %, *Morganella* spp. — 0,9 %, *Edwardsiella* spp. — 0,6 %.

7. Корми для птиці та їхні компоненти не відповідали існуючим вимогам у 59 % випадків. У 14,9 % випадків у кормах встановлено наявність сульфитредукуючих клостридій, у 54,4 % — перевищення загальної бактеріальної забрудненості та у 30,7 % — перевищення загальної кількості ентеробактерій. Зберігається тенденція до збільшення кількості випадків виділення з кормів та компонентів для їх виготовлення бактерій з родини *Enterobacteriaceae* (72,7 %) по відношенню до інших бактерій.

8. Основними контамінантами кормів та їхніх складових були мікроорганізми роду *Enterobacter* spp. — 43,6 %, *Clostridium* spp. — 19,0 %, *Citrobacter* spp. — 11,8 %, *Escherichia* spp. — 7,9 %, *Bacillus* spp. — 6,6 %. Згодовування кормів, контамінованих навіть умовно-патогенними мікроорганізмами, може призводити до захворювання птиці, її загибелі та зниженню якості птахівничої продукції.

9. Для прогнозування епізоотичної ситуації необхідно належним чином контролювати циркуляцію збудників бактеріальних захворювань, у тому числі серед дикої птиці. Скринінгові дослідження щодо контамінації кормів для годівлі птиці також необхідно проводити постійно. Таким чином, проведення епізоотологічного моніторингу надає можливість визначити епізоотичну ситуацію щодо бактеріальних захворювань та проводити своєчасне контролювання та управління перебігом інфекційного процесу серед птахопоголів'я.

Перспективи подальших досліджень. Представлені результати досліджень є початковою ланкою з визначення у бактеріальних патогенів механізмів набуття резистентності до антибактеріальних препаратів серед домашніх і диких птахів.

Список літератури

1. Antunes P., Mourão J., Campos J., Peixe L. Salmonellosis: the role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016. Vol. 22, iss. 2. P. 110–121. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.004>.
2. Matthew O., Chiamaka R., Chidinma O. Microbial analysis of poultry feeds produced in Songhai Farms, Rivers State, Nigeria. *Journal of Microbiology and Experimentation*. 2017. Vol. 4, iss. 2. P. 00110. DOI: <https://doi.org/10.15406/jmen.2017.04.00110>.
3. Sultana N., Haque M. A., Rahman M. M., Akter M., Begum M. D., Fakhruzzaman M., Akter Y., Amin M. N. Microbiological quality of commercially available poultry feeds sold in Bangladesh. *Asian Journal of Medical and Biological Research*. 2003. Vol. 3, iss. 1. P. 52–60. DOI: <https://doi.org/10.3329/ajmbr.v3i1.32036>.
4. Reed K. D., Meece J. K., Henkel J. S., Shukla S. K. Birds, migration and emerging zoonoses: West Nile virus, Lyme disease, Influenza A and enteropathogens. *Clinical Medicine and Research*. 2003. Vol. 1, iss. 1. P. 5–12. DOI: <https://doi.org/10.3121/cm.1.1.5>.
5. ДСТУ 4769:2007. Бактеріологічне дослідження патологічного матеріалу від тварин. Методи виявлення сальмонел: чинний від 2009-01-01. Київ: Держспоживстандарт України, 2009. 31 с.
6. Определитель бактерий Берджи: в 2 тт. / под ред. Дж. Хулта и др. Москва: Мир, 1997. 432 с.
7. Стандартна операційна процедура МС-03-2014 «Прискорена індикація патогенних ентеробактерій в біологічному матеріалі, кормах та об'єктах зовнішнього середовища».
8. Стандартна операційна процедура МС-02-2014 «Визначення мікробіологічних та мікологічних забруднювачів (контамінантів) у кормах та кормовій сировини для тварин».

MONITORING OF BACTERIAL DISEASES OF POULTRY AND WILD BIRDS IN 2016–2020 IN UKRAINE, FORECASTING THE EPIZOOTIC SITUATION

Maiboroda O. V., Yechkenko R. V., Rula O. M., Stegnyy B. T., Muzyka D. V.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

The article presents the generalized results of bacteriological research of biological material from poultry and wild birds, compound feeds and their components for poultry feeding. Epizootological monitoring of the circulation of pathogens of bacterial diseases of poultry and bacteriological studies have been conducted during 2016–2020. A wide range of pathogens of bacterial infections has been established in poultry. Opportunistic microorganisms from the family Enterobacteriaceae isolated from poultry were dominant, they were isolated in 73.4% of cases. Infection of birds with pathogens of the family Clostridiaceae, Staphylococcaceae, Pseudomonadaceae, Bacillaceae and fungal flora was not significant (from 1.5 to 8.3%). The causative agents of salmonellosis in different years ranged from 0.5 to 3.7% of the total number of bacteria from the family Enterobacteriaceae. Escherichia coli was isolated in 38.9% of cases, microorganisms of the genus Enterobacter spp. — 26.6%; Citrobacter spp. — 13.0%; Proteus spp. — 10.5%. In wild birds, as in previous years, pathogens from the family Enterobacteriaceae, which ranged from 62 to 100% of the total number of isolated bacterial pathogens, were the dominant. Microorganisms of the genus Escherichia spp. were isolated in 28.3% of cases, Salmonella spp. — 1.1%, Enterobacter spp. — 34.2%, Citrobacter spp. — 16.1%, Proteus spp. — 15.5%, Serratia spp. — 2.3%, Morganella spp. — 0.9%, Edwardsiella spp. — 0.6%. According to the results of bacteriological studies of compound feeds and their components, it has been found that 59% (110 samples) did not meet the criteria of quality and safety, which are given in the Order of the Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine No. 131 of 19.03.2012. Thus, compound feeds did not meet the standards by the presence of sulfite-reducing clostridia in 14.9% of cases, by total bacterial contamination — in 54.4% of cases and by exceeding the total number of enterobacteria — in 30.7% of cases. The main bacterial contaminants of compound feeds were opportunistic pathogens from the family Enterobacteriaceae (72.7%), Clostridiaceae (19.0%) and Bacillaceae (6.6%)

Keywords: Enterobacteriaceae, Salmonella, feed contamination

4. ЯКІСТЬ І БЕЗПЕЧНІСТЬ ПРОДУКЦІЇ ТВАРИННИЦТВА. ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНА ЕКСПЕРТИЗА. ВЕТЕРИНАРНА ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ТОКСИКОЛОГІЯ

УДК 619:579:614.94:636.5.082.474

DOI 10.36016/VM-2022-108-6

ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ КОНТАМІНАЦІЇ ПОВЕРХОНЬ ПРИМІЩЕНЬ, ОБЛАДНАННЯ, ШКАРАЛУПИ ЯЄЦЬ В УМОВАХ ВИРОБНИЦТВА

Богач М. В., Стегній О. О., Селіщева Н. В., Богач Д. М.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: bogach_nv@ukr.net

Метою роботи було проведення санітарно-гігієнічної оцінки середовища інкубаторію, визначення рівня мікробної контамінації об'єктів птахівництва, встановлення рівня мікробного забруднення поверхні осередків картонних чарунок, в яких транспортують яйця різних видів домашньої птиці до місць інкубації. Для визначення ступеня мікробної забрудненості поверхонь робили змиви стерильним тампоном з фізіологічним розчином із внутрішніх частин інкубаційних шаф (двері, стіни) та з поверхні шкаралупи яєць. Проби висівали на поживні і елективні середовища з метою визначення кількості колонієутворюючих організмів. Встановлено, що рівень контамінації поверхонь приміщень, обладнання, шкаралупи яєць, змивів зі стін приміщень вивідної зали та кімнати уволювання пуху в умовах виробництва коливається в межах від $\geq 10^4$ до $8,1 \times 10^2$ КУО/см². У залі сортування курчат під час дослідження змивів зі стін і повітропроводу ізольовано культури *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus* spp. на рівні $\geq 10^4$ КУО/см². На стрічці кормороздавача рівень контамінації становив $3,1 \times 10^2$ КУО/см², на поверхні яйця та кришці сідала — $\geq 10^4$ КУО/см². Було ізольовано такі культури: *Candida* spp., *Escherichia coli*, *Corynebacterium* spp. Ступінь контамінації поверхні яйцесбірника пташника, а також стін, столу сортування яєць яйцесховища знаходився майже на одному рівні ($\geq 10^4$ КУО/см²), ізольовані культури: *Candida* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp. Встановили високий рівень мікробної контамінації після одноразового використання картонних прокладок під час транспортування інкубаційних яєць до місць інкубації, а саме $5,5 \times 10^2 - 1,1 \times 10^4$ КУО/см². При багаторазовому використанні тари ступінь забруднення збільшується майже у 40 разів (від $1,1 \times 10^5$ КУО/см² — курячих до $120,00 \times 10^4$ КУО/см² — качиних яєць). Виявлено контамінацію поверхні об'єктів птахівництва мікроорганізми *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Proteus vulgaris*, *Candida* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* у кількості $\geq 10^4$ КУО/см² кожний. Грибна мікрофлора виявлена на поверхні яєць була представлена *Candida* spp., *Aspergillus flavus* у кількості $0,925 \times 10^4$ КУО/см². Рівень бактеріальної та мікозної контамінації поверхні картонних чарунок після одноразового їх використання під час транспортування інкубаційних яєць до місць інкубації становить $5,5 \times 10^2 - 1,1 \times 10^4$ КУО/см². У разі багаторазового використання тари ступінь забруднення збільшується майже у 40 разів

Ключові слова: інкубаційні яйця, санітарно-гігієнічна оцінка

Виробництво продуктів птахівництва є однією з найважливіших складових світового та вітчизняного агропромислового комплексу, важко переоцінити позиції внеску його у продовольчу безпеку [1]. Від якості інкубаційних яєць залежить рівень важливих біоекономічних показників — вивід молодняку, життєздатність і продуктивність птиці [2].

Контамінація інкубаційних і вивідних шаф залежить від ступеня обсіменіння мікроорганізмами яєць, що надходять на інкубацію. Підвищений вміст патогенної мікрофлори на поверхні шкаралупи, у повітряному басейні приміщень інкубаторію, на поверхні його обладнання та вентиляційних каналів призводить до зниження виводимості яєць [3–5].

Внаслідок цього відбувається масове інфікування ембріонів, а в подальшому — значне відставання в рості та розвитку виведеного молодняку, зниження його резистентності та збереженості в процесі вирощування [6–8].

Досягнення світової науки та передового виробництва дозволяють значно підвищити виводимість яєць та якість добового молодняку [9].

Для одержання позитивних результатів необхідне виконання низки умов, до яких належить наявність сучасних інкубаторів, основних і допоміжних приміщень, біологічно повноцінних яєць, кваліфікованого персоналу, суворе дотримання послідовності технологічного процесу [10–12].

Оскільки виведення молодняку сільськогосподарської птиці є складною ланкою виробництва, то впровадження високоефективних технологій інкубування шляхом застосування різних хімічних, фізичних і технічних засобів є першочерговим завданням науки і практики.

Метою роботи було проведення санітарно-гігієнічної оцінки середовища інкубаторію, визначення рівня мікробної контамінації об'єктів птахівництва, встановлення рівня мікробного забруднення поверхні осередків картонних чарунок, в яких транспортують яйця різних видів домашньої птиці до місць інкубації.

Матеріали та методи. Роботу виконували в лабораторії епізоотології, паразитології, моніторингу хвороб тварин і провайдингу Одеської дослідної станції ННЦ «ІЕКВМ», у відділі з вивчення хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ» та в умовах промислових інкубаторіїв «Роздільнянський» Іванівського району та ФОП «Манько» Великомихайлівського району Одеської області.

Визначення рівня бактеріального та мікозного забруднення повітря, поверхонь приміщень, обладнання, тари та інкубаційних яєць проводили з використанням існуючих методів контролю та вимог чинних стандартів [13–16].

Для визначення ступеня мікробної забрудненості поверхонь робили змиви стерильним тампоном з фізіологічним розчином із внутрішніх частин інкубаційних шаф (двері, стіни) та з поверхні шкаралупи яєць. Проби висівали на поживні і елективні середовища з метою визначення кількості колонієутворюючих організмів (КУО). Видовий склад мікрофлори, виділеної на рідких та щільних поживних середовищах, ідентифікували за морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями, згідно з визначником бактерій Берджі (1997).

Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою методів кореляційного аналізу з визначенням вірогідності різниці між середніми арифметичними вибірових сукупностей за *t*-критерієм Стьюдента у програмному середовищі Microsoft Excel.

Результати досліджень. Мікробіологічними дослідженнями встановлено, що рівень контамінації поверхонь приміщень, обладнання, шкаралупи яєць в умовах виробництва коливається в межах від $\geq 10^4$ до $8,1 \times 10^2$ КУО/см².

Аналогічні результати було отримано під час дослідження змивів зі стін приміщень вивідної зали та кімнати уловлювання пуху. У залі сортування курчат під час дослідження змивів зі стін і повітропроводу було ізольовано культури *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus* spp. на рівні $\geq 10^4$ КУО/см². На стрічці кормороздавача рівень контамінації становив $3,1 \times 10^2$ КУО/см², на поверхні яйця та кришці сідала — $\geq 10^4$ КУО/см². При цьому було ізольовано такі культури: *Candida* spp., *Escherichia coli*, *Corynebacterium* spp.

Ступінь контамінації поверхні яйцезбірника пташника, стін, столу сортування яєць, яйцесховища знаходився майже на одному рівні ($\geq 10^4$ КУО/см²) і ізольовані аналогічні культури.

Рівень контамінації годівниць і на стрічці яйцезбирача становив $6,1 \times 10^4$ КУО/см², стін на висоті 1,5 м — $3,1 \times 10^4$ КУО/см², на стрічці кормороздавача — $3,6 \times 10^4$ КУО/см². Дещо меншу кількість мікроорганізмів фіксували в яйцесховищі (стіни, стіл сортування яєць) — $3,1 \times 10^2$ КУО/см². Склад ізольованих культур в усіх випадках був ідентичний (*Staphylococcus* spp.).

Результати досліджень показали високий рівень бактеріальної та мікозної контамінації поверхні картонних прокладок (табл. 1).

Встановили, що навіть після одноразового використання картонних прокладок під час транспортування інкубаційних яєць до місць інкубації мали високий рівень мікробної контамінації, а саме $5,5 \times 10^2$ – $1,1 \times 10^4$ КУО/см².

У разі багаторазового використання тари ступінь забруднення збільшується майже у 40 разів (від $1,1 \times 10^5$ КУО/см² — курячих до $120,00 \times 10^4$ КУО/см² — качиних яєць) (табл. 2).

Таблиця 1 — Рівень бактеріальної та мікозної контамінації поверхні картонних прокладок в яких одноразово транспортували яйця до місць інкубації

Чисельність використання тари	Яйця	Ізольовані культури	Ступінь контамінації, КУО/см ²
Одноразова	качині	<i>Enterobacter agglomerans</i>	1,1×10 ⁴
	гусячі	<i>Enterobacter agglomerans</i>	2,2×10 ⁴
		<i>Corynebacterium spp.</i>	3,6×10 ³
	курячі	<i>Corynebacterium spp.</i>	3,2×10 ⁴
		<i>Enterobacter agglomerans</i>	3,6×10 ³
		<i>Staphylococcus spp.</i>	5,5×10 ²

Таблиця 2 — Рівень бактеріальної та мікозної контамінації поверхні картонних прокладок в яких багаторазово транспортували яйця до місць інкубації

Чисельність використання тари	Яйця	Ізольовані культури	Ступінь контамінації, КУО/см ²
Багаторазова	курячі	<i>Citrobacter freundii</i>	1,1×10 ⁵
		<i>Staphylococcus spp.</i>	2,1×10 ⁵
	курячі, індичі	<i>Corynebacterium spp.</i>	5,6×10 ⁴
		<i>Enterobacter agglomerans</i>	6,7×10 ³
		<i>Staphylococcus spp.</i>	8,7×10 ²
	качині	Грибкова флора	44,75×10 ⁴
		<i>Enterobacter agglomerans</i>	6,8×10 ⁵
		<i>Enterococcus faecalis</i>	5,9×10 ⁴
		<i>Proteus vulgaris</i>	6,6×10 ⁶
		<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3,3×10 ³
		<i>Escherichia coli</i>	3,2×10 ⁵
		Грибкова флора	120,00×10 ⁴

Отже, в процесі аналізу на поверхні картонних прокладок встановлено наявність бактерій, пліснявих грибів, у тому числі й гнильних мікроорганізмів. Згідно з даними табл. 1 і 2 було виявлено та ідентифіковано таку мікрофлору: *Enterobacter agglomerans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium spp.*, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus spp.*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus spp.*, *Candida spp.*

Поряд з цим встановлено, що найвищий рівень забрудненості фіксували у господарствах, де використовували картонні чарунки для перевезення яєць водоплавної птиці (67,25–114,45×10⁴ КУО/см²).

Висновки. У складі мікрофлори поверхні об'єктів птахівництва виявлено мікроорганізми *Bacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Proteus vulgaris*, *Candida spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli* у кількості ≥ 10⁴ КУО/см² кожний. Грибна мікрофлора, виявлена на поверхні яєць, була представлена *Candida spp.*, *Aspergillus flavus* у кількості 0,925×10⁴ КУО/см². Рівень бактеріальної та мікозної контамінації поверхні картонних чарунок після одноразового їх використання під час транспортування інкубаційних яєць до місць інкубації становить 5,5×10²–1,1×10⁴ КУО/см². У разі багаторазового використання тари ступінь забруднення збільшується майже у 40 разів.

Список літератури

1. Ярошенко Ф. Сучасні світові тенденції розвитку птахівництва. Київ : Новий друк, 2003. 335 с.
2. Бесулін В. І. та ін. Птахівництво і технологія виробництва яєць та м'яса птиці / за ред. В. І. Бесуліна. Біла Церква, 2003. 448 с.
3. Grizard S. et al. Dynamics of bacterial and fungal communities associated with eggshells during incubation. *Ecology and evolution*. 2014. Vol. 4. P. 1140–1157. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.1011>.
4. Kutsira G. V., Nwulu N. I., Dogo E. M. Development of a Small Scaled Microcontroller-Based Poultry Egg Incubation System. *2019 International Artificial Intelligence and Data Processing Symposium (IDAP)*. Malatya, Turkey, 2019. P. 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1109/IDAP.2019.8875897>.

5. Hincke M. T. et al. Dynamics of Structural Barriers and Innate Immune Components during Incubation of the Avian Egg: Critical Interplay between Autonomous Embryonic Development and Maternal Anticipation. *Journal of innate immunity*. 2019. Vol. 11, No 2. P. 111–124. DOI: <https://doi.org/10.1159/000493719>.
6. Стегний Б. Т. И др. Дезобработка воздуха, подаваемого в помещения или удаляемого из них — путь к снижению эмбриональной смертности и повышению выводимости молодняка, обеспечению благополучия птицеводства. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2008. Вип. 5. С. 121–134.
7. Wang J. M., Firestone M. K., Beissinger S. R. Microbial and environmental effects on avian egg viability: do tropical mechanisms act in a temperate environment? *Ecology*. 2011. Vol. 92, No 5. P. 1137–1145. DOI: <https://doi.org/10.1890/10-0986.1>.
8. Бордунова О. Г. Теоретичне обґрунтування та розробка інноваційної технології передінкубаційної обробки яєць курей : автореф. дис. д-ра с.-г. наук. Миколаїв, 2016. 40 с.
9. Almeida J. G. et al. Hatching distribution and embryo mortality of eggs. *Brazilian Journal of Poultry Scienc.* 2008. Vol. 10, No 2. P. 89–96. URL: <https://www.redalyc.org/pdf/1797/179713999003.pdf>.
10. Boleli I. C. et al. Poultry egg incubation: integrating and optimizing production efficiency. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 2016. Vol. 18, No 2. P. 1–16. DOI: <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0292>.
11. Paliy A. P. et al. Influence of new frost-resistant disinfectant on the ultra structural organization of atypical mycobacteria. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, No. 3. P. 95–101. URL: <https://www.ujecology.com/articles/influence-of-new-frostresistant-disinfectant-on-the-ultrastructural-organization-of-atypical-mycobacteria.pdf>.
12. Nasri H. et al. Egg storage and breeder age impact egg quality and embryo development. *Journal of animal physiology and animal nutrition*. 2020. Vol. 104, No. 1. P. 257–268. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpn.13240>.
13. Рекомендації щодо санітарно-мікробіологічного дослідження змивів з поверхонь тест-об'єктів та об'єктів ветеринарного нагляду і контролю : затверджені науково-технічною радою Державного департаменту ветеринарної медицини МАП України 23.12.2004 р., протокол № 4.
14. Стегний Б. Т. та ін. Методичні рекомендації з визначення мікробіологічної та мікологічної забрудненості (контамінантів) : затверджені науково-методичною радою Держпродспоживслужби України 19.12.2013 р., протокол № 1.
15. ДСТУ 4655:2006. Яйця інкубаційні. Технологія передінкубаційного оброблення. Основні параметри. [Чинний від 2007-07-01]. Київ, 2007. 10 с.
16. ДСТУ 4769:2007. Бактеріологічне дослідження патологічного матеріалу від тварин. Метод виявлення сальмонел. [Чинний від 2009-01-01]. Київ, 2009. 38 с.

DETERMINATION OF THE LEVEL OF CONTAMINATION OF THE SURFACES OF PREMISES, EQUIPMENT, EGG SHELLS IN PRODUCTION CONDITIONS

Bogach M. V., Stegnyy O. O., Selishcheva N. V., Bogach D. M.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

*The aim of the work was to carry out a sanitary and hygienic assessment of the hatchery environment, to determine the level of microbial contamination of poultry facilities, to establish the level of microbial contamination of the surface of the cells of cardboard cells in which eggs of various types of poultry are transported to places of incubation. To determine the degree of microbial contamination of the surfaces, we took the swabs from the inner parts of the incubation cabinets (doors, walls) and the surface of the egg shells with a sterile tampon with physiological solution. Samples were inoculated on nutrient and elective media in order to determine the number of colony-forming organisms. It has been established that contamination level of the surfaces of the premises, equipment, eggshells, swabs from the hatcher walls and the fluff collection room in production conditions ranges from $\geq 10^4$ to 8.1×10^2 CFU/cm². In the chick sorting room, during the study of swabs from the walls and air duct, cultures of *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus* spp. were isolated at a level of $\geq 10^4$ CFU/cm². On the feeder belt, the contamination level was 3.1×10^2 CFU/cm², on the surface of the egg and the saddle cover — $\geq 10^4$ CFU/cm². The following cultures were isolated: *Candida* spp., *Escherichia coli*, *Corynebacterium* spp. The degree of contamination of the surface of the poultry house egg collector, as well as the walls, egg sorting table of the egg store was almost at the same level ($\geq 10^4$ CFU/cm²), isolated cultures: *Candida* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp. A high level of microbial contamination after a single use of cardboard pads during transportation of hatching eggs to the hatching sites has been determined, namely 5.5×10^2 – 1.1×10^4 CFU/cm². With repeated use of containers, the degree of contamination increases almost 40 times (from 1.1×10^5 CFU/cm² for chicken eggs to 120.00×10^4 CFU/cm² for duck eggs). *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Proteus vulgaris*, *Candida* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* microorganisms in the amount of $\geq 10^4$ CFU/cm² have been detected. The fungal microflora found on the surface of the eggs was represented by *Candida* spp., *Aspergillus flavus* in the amount of 0.925×10^4 CFU/cm². The level of bacterial and mycotic contamination of the surface of cardboard cells after their one-time use during the transportation of hatching eggs to the places of incubation was 5.5×10^2 – 1.1×10^4 CFU/cm². In the case of repeated use of containers, the degree of contamination increased almost 40 times*

Keywords: *hatching eggs, sanitary and hygienic assessment*

ЗАСТОСУВАННЯ ДЕЗІНФЕКЦІЙНОГО ПРЕПАРАТУ БЛАНІДАС ДЛЯ ЗНЕЗАРАЖЕННЯ ГРЕНИ ШОВКОВИЧНОГО ШОВКОПРЯДА (*BOMBYX MORI L.*) ВІД БОВЕРІОЗУ НА ВИГОДІВЛЯХ

Ісиченко Н. В., Дегтяр І. І., Степанов В. В., Хазикова Н. М.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: isichenko.natasha@gmail.com

Розроблено режим застосування дезінфекційного препарату для знезараження грени шовковичного шовкопряда *Bombyx mori L.* Використання препарату Бланідас у концентрації 0,045 % за експозиції 20 хв дозволяє підвищити життєздатність гусениць молодших віків у середньому на 4,2 % ($p < 0,05$), загальну життєздатність — на 7,15 % ($p < 0,05$), урожай коконів — на 0,69 кг ($p < 0,01$) та сприяє зниженню кількості інфікованих боверіями гусениць — на 2,91 %

Ключові слова: життєздатність, *Bombyx mori*, *Beauveria bassiana*

Вагомим збитків галузі шовківництва завдає широко поширене захворювання шовкопряда на боверіоз [1, 2]. Боверіоз (біла мускардина), займає значне місце в інфекційній патології шовковичного шовкопряда. Збудник хвороби — ентомопатогенний гриб *Beauveria bassiana* Bals. — паразитує не тільки на шовкопряді, але й інших комах-шкідниках фруктових, городинних та польових культур, які є резервуаром мікозної інфекції в природі [3].

У 2013 році була створена база даних мікроскопічних досліджень метеликів-самок за 2001–2013 роки, яка може використовуватися для аналізу епізоотичної ситуації, щодо збудників основних інфекційних захворювань шовкопряда колекційних порід. За результатами створеної бази встановлена загальна інфікованість шовкопряда на стадії метелика: збудником ядерного поліедрозу — 0,42 %, збудниками бактеріозів — 0,54 %, збудником боверіозу — 0,52 %. В результаті аналізу епізоотичної ситуації встановлено, що загибель шовкопряда від боверіозу відбувається на всіх стадіях розвитку шовкопряда і за розповсюдженням займає друге місце після ядерного поліедрозу.

Таким чином, доцільно провести пошук нових ефективних вітчизняних препаратів для профілактики та боротьби з боверіозом шовковичного шовкопряда на стадії грени.

Бланідас — засіб для дезінфекції об'єктів та обеззаражування води. Має широкий спектр протимікробної активності, високоефективний при низьких концентраціях. Випускається у вигляді пігулок білого кольору, вагою 3,2 г. При розчиненні однієї пігулки у воді виділяється 1,6 г активного хлору (50 %). Призначений для знищення збудників внутрішньо-лікарняних інфекцій, бактерій (включно туберкульоз), вірусів (включно гепатити А, В, С, ВІЛ, поліовіруси, грип), грибків (кандидоз, дерматомікози, плісняві грибки), спор (*B. subtilis*, *B. anthracis*). А також використовується для дезінфекції поверхонь у приміщеннях, санітарно-гігієнічного обладнання, посуду, білизни, виробів медичного призначення при інфекціях бактеріальної, вірусної, грибкової етіології у вогнищах інфекційних хвороб; для дезінфекції у навчальних та дитячих закладах тощо. Застосовується при дезінфекції овочів, фруктів, яєць та для знезараження води.

Мета роботи — розробити спосіб застосування нового препарату Бланідас для профілактики та боротьби з боверіозом шовковичного шовкопряда в промисловому шовківництві та визначити його вплив на основні біологічні показники.

Матеріали та методи. При визначенні фунгіцидної дії досліджуваного препарату Бланідас застосовували *in vitro* метод батистових тест-об'єктів (загальноприйнятого розміру 5×10 мм). Інфікували дослідні й контрольні тест-об'єкти 2-мільярдною зависсю збудника *Beauveria bassiana* Bals. за експозиції 20 хв.

Випробовували препарат в дослідах *in vitro* методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі (пивне сусло розведене вдвічі) та методом «заражених батистових тест-об'єктів», які підлягали зараженню суспензією гриба — *B. bassiana* Bals. згідно з методичними рекомендаціями [4], а також *in vivo* на грени (яйцях) шовковичного шовкопряда, контамінованій вищезазначеним збудником. Контаміновані мікроорганізмами тест-об'єкти вносили в пробірки з

**Розділ 4. Якість і безпечність продукції тваринництва.
Ветеринарно-санітарна експертиза. Ветеринарна фармакологія та токсикологія**

відповідними розчинами та витримували до закінчення експозиції, потім двічі промивали у змінюваній воді. Відмивну рідину об'єднували та витримували 30 хв, після чого надосадову рідину зливали, а з осаду проводили висів по 1,0 мл рідини на МПБ. Повторність висівів в розрізі дослідів й контролі — 3-кратна. Інкубували пробірки з висівами 2 доби за температури 37 °С. Контроль — стерильна вода.

При вивченні фунгіцидного ефекту препарату Бланідас на грені після її обробки, останню висівали в чашки Петрі на поживне середовище (2 %-й сусло-агар). Повторність — 5-разова, по 20 яєць в кожній. Інкубували чашки з посівами грені, знезараженої препаратом Бланідас, як найбільш перспективним препаратом, гіпохлоритом натрію (умовний еталон) концентрацією 0,2 % за експозиції 25 хв [1, 3] та обробленою стерильною водою (контроль) за температури 27 °С протягом 30 хв. Ефективність визначали за відсутністю росту колоній боверій в зоні висіву грені на живильному середовищі, при наявності в контролі.

Випробовували препарат у формі розчинів концентраціями: 0,015 % при експозиціях від 10 до 30 хв (з інтервалом 5 хв) та 0,045 % при експозиціях від 5 до 20 хв з аналогічним інтервалом за кімнатної температури.

Найбільш ефективні концентрації та експозиції застосування випробовували надалі *in vivo* на предмет їхньої нешкідливості шляхом визначення життєздатності грені, зокрема, дружність її оживлення і загальна частка виходу (відродження) гусениць шовкопряда зі знезараженої грені (повторність 4-кратна, по 100 яєць у кожній) з подальшим проведенням контрольної вигодівлі — повторність дослідних і контрольних варіантів триразова, по 50 мг гусениць-«мурашів» у кожній.

Дослідження проводили згідно з методичними вказівками [5] та методами, викладеними у відповідних посібниках [6–11].

Враховували наступні показники: життєздатність шовкопряда (%), урожай коконів з 1 г гусениць (кг), сортових коконів (%), кількість коконів-«глухарів» (%).

Результати досліджень. При визначенні фунгіцидних властивостей препарату Бланідас щодо збудника боверіозу (*Beauveria bassiana* Bals.) шовковичного шовкопряда встановлено, що 100 % ефективним для знезараження контамінованих батистових тест-об'єктів є застосування препарату в концентраціях 0,015 % за експозиції 30 хв та 0,045 % за експозиції 15 хв (табл. 1).

Таблиця 1 — Зведені дані щодо ефективності застосування препарату Бланідас стосовно збудника боверіозу шовкопряда (порода Б-2 пол.)

Препарат	Концентрація, %	Експозиція, хв.	Результати застосування препарату
Бланідас	0,015	10	–
		15	±
		20	±
		25	+
		30	+
	0,045	5	–
		10	±
		15	+
NaCl (умовний еталон)	0,2	25	+
Контроль (стерильна вода)	–	30	–

Примітки: «+» — відсутність розвитку мікроорганізмів у поживному середовищі; «±» — частковий розвиток мікроорганізмів у поживному середовищі; «–» — наявність розвитку мікроорганізмів у поживному середовищі.

Препарат у досліджуваних концентраціях та експозиціях обробки не проявив шкочинності на стадії розвитку грені. Експозиція обробки грені 5 та 10 хв не впливає на життєздатність грені. Експозиція 30 хв концентрацією 0,015 % та експозиція 15 хв і 20 хв концентрацією 0,045 % — вірогідно збільшує її на 5 % та на 6,48 % і 4,81 % ($p < 0,05$) (табл. 2).

Таблиця 2 — Вплив препарату Бланідас на життєздатність греди шовковичного шовкопряда ($M \pm m$) (порода Б-2 пол.)

Препарат	Концентрація, %	Експозиція, хв	Життєздатність греди, %
Бланідас	0,015	10	91,00±0,42
		15	92,15±0,24
		20	92,33±0,67
		25	93,87±1,10
		30	95,34±0,11 ¹⁾
	0,045	5	89,96±1,09
		10	91,30±0,67
		15	96,82±0,19 ¹⁾
		20	95,15±0,18 ¹⁾
NaCl (умовний еталон)	0,2	25	94,10±0,26
Контроль (стерильна вода)	–	30	90,34±0,33

Примітки: ¹⁾ — $p < 0,05$ порівняно з контролем.

Показники життєздатності греди у контрольних варіантах з обробленням препаратом Бланідас концентрацією 0,015 % експозицією 30 хв та концентрацією 0,045 % експозицією 15 хв знаходяться майже на рівні показнику умовного еталону (лише помітна невелика тенденція щодо їх підвищення у дослідних варіантах).

У весняний період 2022 року було проведено контрольну вигодівлю гусениць, отриманих зі знезараженої препаратом греди. Отримані результати наведено у табл. 3.

Таблиця 3 — Вплив знезаражуючої дії препарату Бланідас на біологічні показники шовковичного шовкопряда ($M \pm m$) (порода Б-2 пол.)

Препарат	Концентрація, %	Життєздатність гусениць, %		Загальна життєздатність гусениць, %	Урожай коконів з 1 г гусениць, кг	Сортових коконів, %	Коконів-«глухарів», %
		II віку	III віку				
Бланідас	0,015	92,21 ±1,05	92,76 ±0,28	88,24 ±1,16	4,00 ±0,08	82,10 ±1,35	5,87 ±1,16
	0,045	94,81 ±0,18 ¹⁾	93,70 ±0,32	92,83 ±0,40 ²⁾	4,55 ±0,04 ¹⁾	87,30 ±1,09	2,33 ±0,23 ¹⁾
NaCl (умовний еталон)	0,2	93,18 ±0,34	93,67 ±0,21 ¹⁾	90,33 ±0,67 ¹⁾	4,48 ±0,10 ¹⁾	89,80 ±0,77 ¹⁾	2,28 ±0,31 ¹⁾
Контроль		90,60 ±0,32	89,87 ±0,67	85,68 ±0,37	3,86 ±0,09	83,00 ±0,80	6,261 ±0,28

Примітки: ¹⁾ — $p < 0,05$ порівняно з контролем; ²⁾ — $p < 0,01$ порівняно з контролем.

Встановлено, що застосування препарату Бланідас для знезараження греди сприяло зниженню загибелі гусениць молодших віків. Так, застосування препарату Бланідас у концентраціях 0,015 % за експозиції 30 хв та 0,045 % за експозиції 20 хв сприяє вірогідному підвищенню життєздатності гусениць у II віці на 1,61 % і 4,21 % ($p < 0,05$), на 2,89 % ($p < 0,05$) і 3,83 % ($p < 0,05$) — у III віці та на 0,21 % і 4,72 % — у IV, порівняно з контролем. Загальна життєздатність гусениць у цих варіантах перевищує контроль на 2,56 % та 7,15 % ($p < 0,01$).

При порівнянні дослідних показників з показниками умовного еталону (NaCl) слід зазначити, що у варіанті з використанням дезінфекційного препарату Бланідас концентрацією 0,045 % спостерігається чітка тенденція щодо підвищення життєздатності у II віці на 1,63 %, у III — знаходиться майже на рівні еталону та на 0,71 % — у IV. Загальна життєздатність гусениць перевищує на 2,50 % аналогічний показник еталону, який, у свою чергу, перевищує контроль на 4,65 % ($p < 0,05$).

Необхідно відмітити, що використання дезінфікуючого препарату Бланідас у концентрації 0,045 % за експозиції 20 хв призводить до вірогідного підвищення урожаю коконів на 0,69 кг

($p < 0,05$), сприяє помітній тенденції збільшення сортових коконів на 4,30 % та зниженню коконів-«глухарів» — на 3,93 %, у порівнянні з контролем. У порівнянні з аналогічним показником еталону урожай коконів у варіанті з використанням дезінфікуючого препарату Бланідас у концентрації 0,045 % знаходиться майже на рівні, але показник еталону перевищує контроль на 0,62 кг ($p < 0,05$).

Показник коконів-«глухарів» у дослідному варіанті концентрацією 0,045 % знаходиться на рівні показника еталону (NaCl) який, у свою чергу, перевищує контроль на 3,98 % ($p < 0,05$).

Експериментально встановлено, що застосування препарату Бланідас за концентрації 0,045 % є найефективнішим і сприяє вірогідному підвищенню усіх біологічних показників шовковичного шовкопряда у низькожиттєздатних порід.

У табл. 4 подано ефективність пливу препарату Бланідас на частку інфікованих особин на стадії гусениці.

Таблиця 4 — Вплив препарату Бланідас на відсоток інфікованих особин на стадії гусениці ($M \pm m$) (порода Б-2 пол.)

Варіант	Концентрація, %	Боверіоз, %
Бланідас	0,015	3,80±0,76
	0,045	1,37±0,24 ¹⁾
NaCl (умовний еталон)	0,2	1,88±0,69
Контроль	-	4,28±0,34

Примітки: ¹⁾ — $p < 0,05$ порівняно з контролем.

Оброблення греди препаратом Бланідас концентрацією 0,045 % знижує кількість інфікованих боверіями особин на стадії гусениці. У цьому варіанті спостерігається найвища тенденція зниження частки зараження боверіями на 2,91 %, за концентрацією 0,015 % — на 0,44 %, у порівнянні з контролем. У порівнянні з показниками умовного еталону (1,88 %), то у варіанті обробленої греди препаратом Бланідас концентрацією 0,045 % частка зараження боверіями зменшилася на 0,51 %.

Слід відмітити, що аналогічні показники умовного еталону на 2,40 % зменшують частку зараження боверіями порівняно з контролем, але вірогідного значення не досягли.

Таким чином, дезінфекція греди шовковичного шовкопряда препаратом Бланідас призводить до вірогідного підвищення життєздатності гусениць, урожаю коконів і знижує захворюваність на боверіоз лише за застосування концентрації 0,045 % з експозицією 20 хв та рекомендується для подальшого впровадження.

Висновки. 1. Встановлено високу ефективність використання препарату Бланідас у концентрації 0,045 % за експозиції 20 хв, що дозволяє підвищити життєздатність гусениць молодших віків у середньому на 4,2 % ($p < 0,05$), загальну життєздатність — на 7,15 % ($p < 0,05$) та урожай коконів — на 0,69 кг ($p < 0,01$) та зниження показнику коконів-«глухарів» на 3,93 % ($p < 0,05$).

2. Підгодівля гусениць препаратом Бланідас з концентрацією 0,045 % за експозиції 20 хв сприяє зниженню кількості інфікованих боверіями гусениць на 2,91 %.

Перспективи подальших досліджень полягають у пошуку нових дезінфекційних препаратів органічного походження широкого спектру дії для більш ефективного знезараження греди шовковичного шовкопряда.

Список літератури

1. Кириченко И. А. Основные инфекционные болезни тутового шелкопряда в Украине и меры борьбы с ними. Харьков : РИП Оригинал, 1998. 208 с.
2. Ісиченко Н. В., Литвин В. М., Дегтяр І. І. Застосування нових вітчизняних дезінфекційних препаратів для профілактики та боротьби з інфекційними хворобами шовкопряда. *Ветеринарна медицина*. 2019. № 105. С. 69-74.
3. Головки В. О. та ін. Фунгіцидні властивості перспективного препарату апікон щодо боверіозу шовковичного шовкопряда. *Ветеринарна медицина: міжвідомчий тематичний науковий збірник ННЦ «ІЕКВМ»*. 2009. Вип. 92. С. 126–128.
4. Методические указания «О порядке испытания новых дезинфицирующих средств в ветеринарной практике». М.: Госагропром СССР, 1987. 157 с.

5. Методические указания «О порядке испытания новых дезинфицирующих средств в ветеринарной практике». Москва : Госагропром СССР, 1987. 157 с.
6. Мейнелл Дж., Мейнелл Э. Экспериментальная микробиология / пер. с англ. Л. Меклер. Москва : Мир, 1967. 347 с.
7. Селибер Г. Л. Большой практикум по микробиологии. Москва : Высшая школа, 1962. 490 с.
8. Головки В. О. та ін. Шовківництво. Харків : РВП Оригінал, 1998. 416 с.
9. Основные методические положения по племенной работе с тутовым шелкопрядом. Москва : Среднеазиатское отделение ВАСХНИЛ, 1983. 18 с.
10. Лакин Г. Ф. Биометрия : учебное пособие. Москва : Высшая школа, 1990. 352 с.
11. Кириченко І. О. та ін. Практичний посібник по шовківництву : довідник. Київ : Урожай, 1991. 144 с.

APPLICATION OF PREPARATION BLANIDAS FOR DISINFECTION OF THE GRAIN OF THE SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.) FROM *BEAUVERIA BASSIANA* BALS. AT BREEDING

Isichenko N. V., Degtyar I. I., Stepanov V. V., Khazykova N. M.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

Regimes for the use of new disinfectants for disinfection of grains of Bombyx mori L. silkworms have been developed. The use of the preparation Blanidas at a concentration of 0.045 % with an exposure of 20 min allows to increase the viability of young caterpillars by an average of 4.2% ($p < 0.05$), the overall viability by 7.15% ($p < 0.05$), the yield of cocoons — by 0.69 kg ($p < 0.01$) and reduces the number of caterpillars infected with Beauveria bassiana Bals. by 2.91 %

Keywords: *viability, Bombyx mori, Beauveria bassiana*

УДК 619:579:636.4.15.085.55

DOI 10.36016/VM-2022-108-8

БАКТЕРІАЛЬНО-МІКОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ КОРМІВ ДЛЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ПТИЦІ І СВИНЕЙ З РІЗНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ ЗА 2022 РІК

Ярошенко М. О., Кольчик О. В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: margarita.yaroshenko.69@ukr.net

*Метою роботи було провести бактеріально-мікологічний моніторинг кормів для с.-г. птиці і свиней з різних регіонів України у 2022 році. Визначення мікробної забрудненості зразків кормів для с.-г. птиці і свиней проводили відповідно до наказу МАППУ № 131 від 19.03.2012 р.. Ідентифікацію виділених польових ізолятів бактерій проводили за загальноприйнятими мікробіологічними методами, визначником Берджи та СОП МС-03-2014 «Прискорена індикація патогенних ентеробактерій в біологічному матеріалі, кормах та об'єктах зовнішнього середовища». Ступінь контамінації кормів мікроскопічними грибами визначали за кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) у перерахунку на 1 г корму; видову належність виділеної мікобіоти встановлювали шляхом порівняння культурально-морфологічних ознак з описами, наведеними у визначниках мікроміцетів та з музейними штамами тест-культур. За визначення бактеріальної забрудненості 26 проб комбікормів для с.-г. птиці встановлено, що перевищення допустимого ступеня контамінації бактеріальною мікрофлорою (більше $5,0 \times 10^5$ КУО у 1 г корму) виявили у 42,3 % проб (у 4 пробах виявлено патогенні ентеробактерії — ізоляти *E. coli*), відповідно 57,7 % кормів мали допустиму бактеріальну контамінацію. Показник загальної мікробної забрудненості при перевищенні МДР у кормах становив від $5,3 \times 10^5$ до $5,6 \times 10^6$ КУО в 1 г корму. За результатами бактеріологічних досліджень 23 проб кормів для свиней перевищення допустимого ступеня контамінації бактеріальною мікрофлорою виявили у 65,2 % досліджуваних проб (у 6 пробах виявлено сульфитредукуючі клостридії), відповідно ступінь контамінації в межах МДР знаходився на рівні 34,8 %. Сальмонели, патогенні їрсинії та коагулазо-позитивні *S. aureus* у всіх пробах кормів не було виявлено. Показник загальної мікробної забрудненості при перевищенні МДР у кормах становив від $6,3 \times 10^5$ до $46,0 \times 10^5$ КУО в 1 г корму. За мікологічного моніторингу 32 проб комбікормів для с.-г. птиці встановили, що недоброякісні склали 59,4 %,*

корми з допустимим ступенем контамінації 40,6 %. Основними контамінантами кормів були представники плісневих грибів родів *Aspergillus Mich.* — 48 %, *Penicillium Linc.* — 23 %, *Fusarium Linc.* — 5,6 %, родини *Mucoraceae* — 12,2 %, представники інших родів склали 11,2 %. Токсигенутворюючі таксони мікроміцетів роду *Aspergillus Mich.* були представлені *Asp. flavus*, *Asp. amstelodami*, *Asp. niger*, *Asp. fumigatus*, *Asp. glaucus*, *Asp. oryzae*; роду *Penicillium Linc.* — видами *Pen. lanosum*, *Pen. commune*, роду *Fusarium Linc.* — *Fusarium moniliforme*. За мікологічного моніторингу 29 проб комбікормів для свиней встановили, що недоброякісні склали 62,1 %, корми з допустимим ступенем контамінації 37,9 %. Основними контамінантами кормів були представники плісневих грибів родів *Aspergillus Mich.* — 53,8%, *Penicillium Linc.* — 17,8 %, *Fusarium Linc.* — 8,2 %, родини *Mucoraceae* — 13,9 %, представники інших родів склали 6,3 %. Токсигенутворюючі таксони мікроміцетів роду *Aspergillus Mich.* були представлені *Asp. flavus*, *Asp. niger*, *Asp. sydowi*, *Asp. fumigatus*, *Asp. glaucus*, *Asp. oryzae*, *Asp. ochraceus*; роду *Penicillium Linc.* — видами *Pen. lanosum*, *Pen. commune*, *Pen. stoloniferum*; роду *Fusarium Linc.* — *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*

Ключові слова: біотичні контамінанти, бактерії, мікроміцети

В останні роки питанням якості і безпеки тваринницької продукції на міжнародному рівні приділяється величезна увага. Ці питання обговорюються в ООН, ВООЗ, Міжнародній продовольчій і сільськогосподарській організації (FAO), СОТ. Міжнародні нормативні документи, які регламентують якість та безпечність тваринницької продукції, включені до угоди СОТ як санітарні і фітосанітарні заходи, що забезпечують однакові правила для всіх країн, які здійснюють торгівлю сільськогосподарською продукцією. Особливе місце в технології виробництва продукції тваринництва відводять кормам [1].

Інтенсифікація тваринницької галузі неможлива без створення відповідної кормової бази, здатної задовольнити потреби тварин у повноцінних кормах. У той же час комбікорми, кормові добавки, а також сировина для їх виготовлення у процесі виробництва, зберігання та застосування можуть набувати ризиків для здоров'я та життя тварин і людей [2].

Порушення санітарно-гігієнічних норм на всіх етапах виробництва, зберігання, транспортування і реалізації продукції тваринництва призводить до різкого зростання кількості мікроорганізмів у тому числі патогенних — бактерій з групи сальмонел, ентеропатогенних типів кишкової палички, пастерел, стафілококів, клостридій та інших. Мікроорганізми здатні спричиняти захворювання у сполученні з токсинами, які накопичуються в кормах у результаті їхньої життєдіяльності.

Небезпека виникнення інфекційного захворювання або харчового отруєння при вживанні небезпечної продукції тваринництва залежить від вірулентності певного виду мікроорганізму та інтенсивності забруднення продукції [3]. Відомо, що у період вегетації, заготівлі, транспортування, зберігання, підготовки до згодовування корми вражають плісневі сапрофіти, які надають їм більш темний колір і неприємний запах. Зокрема, під час зберігання склад мікобіоти млинових відходів, зерна, комбікормів і грубих кормів практично подібний і представлений наявністю факультативних паразитів і епіфітів родів *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Botrytis*, *Helminthosporium*, *Nigrospora*, *Diplodia*, *Sclerotinia*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Cephalosporium*, *Acremonia* (*Monopodium*), *Mucor*, *Rhizopus* та ін. [4–6].

Під час розвитку плісневих грибів в асоціації з бактерійними агентами не тільки змінюються фізичні властивості кормів, а й спостерігається розпад органічних речовин, з утворенням токсичних сполук, які, внаслідок споживання сільськогосподарськими тваринами, можуть спричинити отруєння. При отруєнні у тварин порушується діяльність органів травлення, знижується апетит, спостерігаються слинотеча, кольки, тимпанія, запори або проноси, ураження печінки і нирок [7, 8].

Сучасний спектр мікологічних досліджень кормів і кормової сировини обов'язково повинен включати родову та видову ідентифікацію бактерійних забруднювачів, мікроміцетів не тільки для таксонометричної характеристики, але і для встановлення видоспецифічності до токсинування мікроскопічних грибів [9, 10].

У зв'язку з тим, що контроль забрудненості мікроорганізмами і мікроскопічними грибами є актуальним питанням безпечності кормів, тому **метою** наших досліджень був бактеріально-мікологічний моніторинг кормів для с.-г. птиці і свиней з різних регіонів України.

Матеріали та методи. На бактеріальну контамінацію у 2022 році було досліджено 26 проб комбікормів для с.-г. птиці із 7 господарств Київської, Харківської, Дніпропетровської та Запорізької областей та 23 проби комбікормів для свиней із 5 господарств Харківської, Дніпропетровської та Полтавської областей.

Визначення мікробної забрудненості зразків кормів для с.-г. птиці і свиней проводили відповідно до «Переліку максимально допустимих рівнів небажаних речовин у кормах та кормовій сировині для тварин» [20].

Ідентифікацію виділених польових ізолятів бактерій проводили за загальноприйнятими мікробіологічними методами та визначником Берджи [11, 13] та СОП МС-03-2014 «Прискорена індикація патогенних ентеробактерій в біологічному матеріалі, кормах та об'єктах зовнішнього середовища».

Дослідження на лабораторних тваринах (мишах) проводили відповідно до існуючих нормативних документів, що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

На мікологічну контамінацію досліджено 32 проби комбікормів для с.-г. птиці із 7 господарств Київської, Харківської, Дніпропетровської, Запорізької областей та 29 проб комбікормів для свиней із 5 господарств Харківської, Дніпропетровської та Полтавської областей. Проби досліджували відповідно до загальноприйнятих методик мікологічного аналізу. Зокрема, визначали:

— ступінь контамінації кормів мікроскопічними грибами — шляхом первинного виділення за умов висіву у поживне середовище агарів сусло та Чапека; загальну кількість спор грибів у 1 г корму, виділяли у чисту культуру [12, 14];

— видову належність ізолятів мікроскопічних грибів шляхом порівняння культурально-морфологічних ознак виділеної мікобіоти (особливостей росту культур на різних поживних середовищах, їх розміри, форму, ширину, будову країв та центру колоній, інтенсивність росту, характеристики поверхні, кольору колоній, їх реверзumu, міцелію тощо) з описами, наведеними у визначниках мікроміцетів та з музейними штамами тест-культур [15–19].

Інтерпретацію результатів досліджень здійснювали відповідно до Переліку максимально допустимих рівнів небажаних речовин у кормах та кормовій сировині для тварин» [20].

Результати досліджень та обговорення. За визначення бактеріальної забрудненості комбікормів для с.-г. птиці встановлено (табл. 1), що з 26 досліджених проб перевищення допустимого ступеня контамінації бактеріальною мікрофлорою (більше $5,0 \times 10^5$ КУО у 1 г корму) виявили у 42,3 % проб (у 4 пробах виявлено патогенні ентеробактерії — ізоляти *E. coli* та перевищення за вмістом ентеробактерій), відповідно 57,7 % кормів мали допустиму бактеріальну контамінацію.

Сальмонели, сульфитредукуючі клостридії, патогенні їрсинії та коагулазо-позитивні *S. aureus* у всіх пробах кормів виявлено не було. Виділена мікробіота кормів була представлена мікроорганізмами, що не входять у перелік мікробної забрудненості зразків кормів, а саме: *Bacillus* spp.; *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Enterobacter sakazakii*, *Pseudomonas aeruginosa*. Показник загальної мікробної забрудненості при перевищенні МДР у кормах становив від $5,3 \times 10^5$ до $5,6 \times 10^6$ КУО в 1 г корму (табл. 1).

Аналіз мікробної контамінації кормів відносно області розташування господарства свідчить про те, що найменш контаміновані корми (у яких рівень контамінації відповідав МДР у 100 % проб) надійшли з Київської області, а найбільш контаміновані корми були отримані для дослідження з господарств Запорізької області (у яких рівень контамінації не відповідав МДР у 55,6 % проб та в 4 пробах виявлені патогенні ізоляти *E. coli*), тоді як рівень мікробної контамінації комбікормів для с.-г. птиці з Харківської і Дніпропетровської областей перевищував МДР у 42,9 і 37,5 % проб.

**Розділ 4. Якість і безпечність продукції тваринництва.
Ветеринарно-санітарна експертиза. Ветеринарна фармакологія та токсикологія**

Таблиця 1 — Результати моніторингу бактеріальної контамінації кормів у птахівничих господарствах з різних регіонів України

Область, кількість господарств	Вид кормів	Виділені патогенні мікроорганізми	Мікробна забрудненість, КУО в 1 г	
			Загальна	Наказ № 131
1	2	3	4	5
Київська (n = 1)	Комбікорм предкладковий для курей батьківського стада Росс 308	<i>Citrobacter freundii</i>	1,9×10 ⁵	–
	Комбікорм гроуер для батьківського стада птиці кросу Росс 308	<i>Citrobacter freundii</i>	2,1×10 ²	–
Дніпро- петровська (n = 2)	Комбікорм для курей несучок ПК 29-45	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter diversus</i>	4,1 × 10 ⁵	–
	Комбікорм для курей несучок ПК 46-65	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter diversus</i>	1,0 × 10 ⁵	–
	Комбікорм для курей несучок ПК 66-80	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter diversus</i>	12,0 × 10 ⁵	–
	Комбікорм для курей несучок ПК 46-65	<i>Enterobacter sakazakii</i>	6,1 × 10 ⁵	–
	Комбікорм для курей несучок ПК 46-65	<i>Enterobacter sakazakii</i>	5,0 × 10 ⁶	Ентеробактерії 250
	Комбікорм для курей несучок 5%-28	<i>Enterobacter sakazakii</i>	3,0 × 10 ⁵	–
	Комбікорм для курей несучок ПК 29-45	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,3 × 10 ⁵	–
	Комбікорм для курей несучок ПКк 1-28	<i>Enterobacter sakazakii</i>	1,2×10 ⁵	–
Запорізька (n = 2)	Комбікорм для курей несучок ПКк 1-28	<i>Enterobacter sakazakii</i>	1,8×10 ⁵	Ентеробактерії 150
	Комбікорм для курей несучок ПКк 46-65	<i>Enterobacter sakazakii</i>	1,6×10 ⁵	Ентеробактерії 100
	Комбікорм для курей несучок ПКк 66-80	<i>Enterobacter sakazakii</i>	4,3 × 10 ⁵	Ентеробактерії 100
	Комбікорм для курей несучок ПКк 9-16	<i>Enterobacter sakazakii</i>	2,0 × 10 ⁵	–
	Комбікорм для курей несучок БО ПКк 46-65	<i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E. coli</i>	6,3×10 ⁵	Ентеробактерії 1,1×10 ⁶
	Комбікорм для курей несучок ПКк 66-80	<i>Enterobacter sakazakii</i> , <i>Bacillus spp.</i>	1,1×10 ⁶	Ентеробактерії 150
	Комбікорм для курей несучок БО ПКк 29-45	<i>Enterobacter sakazakii</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>E. coli</i>	1,9×10 ⁶	Ентеробактерії 6,0×10 ⁴
	Комбікорм для курей несучок БО ПКк 46-65	<i>Enterobacter sakazakii</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>E. coli</i>	1,3×10 ⁶	Ентеробактерії 1,0×10 ⁵
	Комбікорм для курей несучок ПК 66-80	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Citrobacter diversus</i> <i>Bacillus spp.</i> , <i>E. coli</i>	5,6×10 ⁶	Ентеробактерії 2,3×10 ⁵

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5
Харківська (n = 2)	Комбікорм для курей несучок ПК 29-45	<i>Enterobacter sakazakii</i>	$5,3 \times 10^5$	–
	Комбікорм для курей несучок ПК 46-65	<i>Enterobacter sakazakii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$7,8 \times 10^5$	–
	Комбікорм для курей несучок ПК 66-80	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$9,9 \times 10^5$	Ентеробактерії 150
	Комбікорм для курей несучок ПК 9-16	<i>Citrobacter freundii</i>	$1,6 \times 10^5$	–
	Комбікорм РОСТ-1 для бройлерів Росс 308	<i>Citrobacter freundii</i>	$3,3 \times 10^5$	–
	Комбікорм РОСТ-2 для бройлерів Росс 308	<i>Citrobacter freundii</i>	$4,6 \times 10^5$	–
	Комбікорм для батьківського стада Росс 308	<i>Enterobacter sakazakii</i> , <i>Bacillus spp.</i>	$2,8 \times 10^5$	–

Примітка: «–» — не виділено.

Окрім цього, відмічено зміни бактеріальної контамінації кормів, зокрема, для курей-несучок відносно рецепту комбікорму (за віковими групами). Так, найбільш забрудненими були корми для найстаршої вікової групи курей (66–80 тижнів) — з 5 досліджених кормів 80 % мали перевищення бактеріальної контамінації від $9,9 \times 10^5$ до $5,6 \times 10^6$ КУО в 1 г корму, дещо нижчою була контамінація кормів групи 46–65 тижнів — 71,4 % проб мали перевищення бактеріальної контамінації від $6,1 \times 10^5$ до $5,0 \times 10^6$ КУО в 1 г корму, ще нижчою була контамінація кормів групи 29–45 тижнів — 50,0 % проб мали перевищення бактеріальної контамінації від $5,3 \times 10^5$ до $1,9 \times 10^6$ КУО в 1 г корму. Корми для групи до 28 тижнів та курей-бройлерів не мали перевищень бактеріальної контамінації, що ймовірно пов'язано з наявністю температурної обробки (були гранульовані).

За результатами бактеріологічних досліджень кормів для свиней встановлено, що з 23 досліджених проб перевищення допустимого ступеня контамінації бактеріальною мікрофлорою (більше $5,0 \times 10^5$ КУО у 1 г корму) виявили у 65,2 % досліджуваних проб (в 6 пробах виявлено сульфитредукуючі клостридії: *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*), відповідно ступінь контамінації в межах МДР знаходився на рівні 34,8 % (табл. 2). Сальмонели, патогенні їрсинії та коагулазо-позитивні *S. aureus* у всіх пробах кормів не було виявлено. Виділена мікробіота кормів, окрім того, була представлена мікроорганізмами, що не входять у перелік мікробної забрудненості зразків кормів, а саме: *Neisseria sicca*, *Leptothrix ochracea*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumonia*, *Haemophilus parasuis*, *Bacillus subtilis*. Показник загальної мікробної забрудненості при перевищенні МДР у кормах становив від $6,3 \times 10^5$ до $46,0 \times 10^5$ КУО в 1 г корму (табл. 2). Аналіз мікробної контамінації кормів відносно області розташування господарства свідчить про те, що найменш контаміновані корми (у яких рівень контамінації відповідав МДР у 100 % проб) надійшли з Полтавської області, тоді як рівень мікробної контамінації комбікормів для свиней з Харківської і Дніпропетровської областей був майже на одному рівні і перевищував МДР у 72,7 і 70,0 % проб.

Таблиця 2 — Результати моніторингу бактеріальної контамінації кормів у свинарських господарствах з різних регіонів України

Область, кількість господарств	Вид кормів	Виділені патогенні мікроорганізми	Мікробна забрудненість, КУО в 1 г	
			Загальна	Наказ № 131
1	2	3	4	5
Полтавська (n = 1)	Передстартерний комбікорм для поросят	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Pasteurella multocida</i>	$3,0 \times 10^5$	–
	Комбікорм для свиней на відгодівлі	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	$3,7 \times 10^5$	–

**Розділ 4. Якість і безпечність продукції тваринництва.
Ветеринарно-санітарна експертиза. Ветеринарна фармакологія та токсикологія**

Продовження табл. 2

1	2	3	4	5
Дніпро-петровська (n = 2)	Комбікорм для свиней на відгодівлі	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Leptothrix ochracea</i>	12,0×10 ⁵	Ентеробактерії 150
	Комбікорм для поросних свиноматок	<i>Leptothrix ochracea</i>	8,0×10 ⁵	–
	Комбікорм для дорощування поросят	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Clostridium botulinum</i>	17,0×10 ⁵	СПК
	Комбікорм для свиней відгодівлі	<i>Actinobacillus pleuropneumonia</i> , <i>Clostridium botulinum</i>	15,0×10 ⁵	СПК
	Комбікорм для лактуючих свиноматок	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Neisseria sicca</i> , <i>Haemophilus parasuis</i>	7,0×10 ⁵	–
	Гранульований комбікорм для поросят ПК Порося «Premium»	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Pasteurella multocida</i>	21,0×10 ⁵	СПК
	Комбікорм для ремонтних свиноматок	<i>Neisseria sicca</i> <i>Leptothrix ochracea</i>	12,0×10 ⁵	–
	Передстартерний комбікорм для поросят	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Pasteurella multocida</i>	3,0×10 ⁵	–
	Стартерний комбікорм для поросят	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Pasteurella multocida</i>	4,2×10 ⁵	Ентеробактерії 200
	Комбікорм для свиней відгодівлі	<i>Neisseria sicca</i> <i>Leptothrix ochracea</i>	2,0×10 ⁵	–
Харківська (n = 2)	Комбікорм для лактуючих свиноматок	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Haemophilus parasuis</i>	6,3 × 10 ⁵	–
	Комбікорм для поросних свиноматок	<i>Actinobacillus pleuropneumonia</i> , <i>Leptothrix ochracea</i>	18,0×10 ⁵	–
	Комбікорм для свиней на відгодівлі	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Leptothrix ochracea</i>	26,0×10 ⁵	Ентеробактерії 150
	Комбікорм для свиней на відгодівлі	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Pasteurella multocida</i>	28,0×10 ⁵	–
	Комбікорм для свиней на відгодівлі	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Pasteurella multocida</i>	31,0×10 ⁵	–
	Передстартерний комбікорм для поросят	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Pasteurella multocida</i>	3,6×10 ⁵	–
	Стартерний комбікорм для поросят	<i>Neisseria sicca</i> , <i>Pasteurella multocida</i>	3,8×10 ⁵	–
	Комбікорм для свиней на відгодівлі	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Neisseria sicca</i>	46,0 × 10 ⁵	СПК
	Комбікорм для свиней на відгодівлі	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Neisseria sicca</i>	36,0×10 ⁵	СПК
	Комбікорм для свиней на відгодівлі	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Neisseria sicca</i>	29,0×10 ⁵	СПК
	Комбікорм для поросних свиноматок	<i>Pasteurella multocida</i>	1,9×10 ⁵	–

Примітка: «–» — не виділено.

Окрім цього по 3 проби комбікормів з кожної області містили сульфїтредукуючі клостридії. Також простежувалася тенденція до вищої контамінації комбікормів для свиней старших вікових груп (86,6 % проб мали контамінацію вище МДР), тоді як перевищення бактеріальної контамінації реєстрували у 25,0 % передстартерних і стартерних кормів.

Мікологічному моніторингу та визначенню ступеня контамінації мікроскопічними грибами підлягали 32 проби комбікормів для с.-г. птиці (рис. 1).

Встановлено (рис. 1), що з перевищення допустимого ступеня контамінації плісневими грибами (більше $5,0 \times 10^4$ КУО у 1 г корму) виявили у 59,4 % проб, відповідно 40,6 % кормів мали допустиму мікологічну контамінацію

Показник загальної мікологічної забрудненості при перевищенні МДР у кормах становив від $8,0 \times 10^4$ до $96,0 \times 10^4$ КУО в 1 г корму.

За визначення складу мікобіоти комбікормів для птиці було виділено та ідентифіковано 196 ізолятів плісневих і дріжджеподібних грибів (рис. 2). Зокрема, основними із виділених ізолятів були плісневі гриби родів *Aspergillus* Mich. — 94 ізоляти, *Penicillium* Linc. — 45 ізолятів, *Fusarium* Linc. — 11 ізолятів, родини Mucoraceae — 24 ізоляти. Представники інших родів склали 22 ізоляти.



Рис. 1. Ступінь контамінації мікроміцетами кормів для с.-г. птиці у 2022 році.

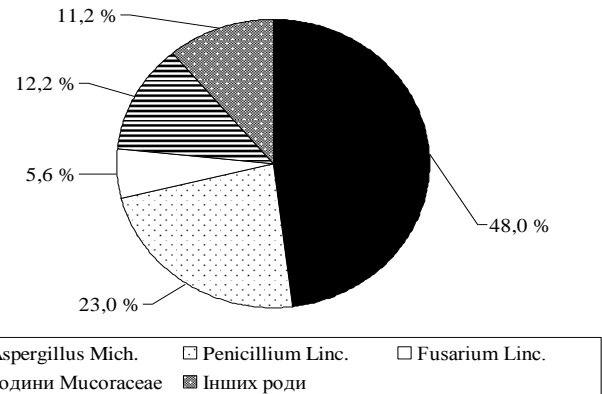


Рис. 2. Родовий склад мікобіоти комбікормів, що використовувалися у птахівничій галузі у 2022 році.

Наступним етапом наших досліджень була видова ідентифікація виділених ізолятів плісневих грибів, з урахування наявності токсин-утворюючих таксонів (табл. 3), велика кількість яких у кормі може сприяти підвищенню токсигенності кормів за рахунок накопичення вторинних метаболітів — мікотоксинів [6–9].

Отже, за мікологічного моніторингу 32 проб комбікормів для сільськогосподарської птиці встановили, що недоброякісні склали 59,4 %, корми з допустимим ступенем контамінації 40,6 %. Основними контамінантами кормів були представники плісневих грибів родів *Aspergillus* Mich. — 48 %, *Penicillium* Linc. — 23 %, *Fusarium* Linc. — 5,6 %, родини Mucoraceae — 12,2 %, представники інших родів склали 11,2 %.

Токсигенуючі таксони мікроміцетів роду *Aspergillus* Mich. були представлені *Asp. flavus*, *Asp. amstelodami*, *Asp. niger*, *Asp. fumigatus*, *Asp. glaucus*, *Asp. oryzae*; роду *Penicillium* Linc. — видами *Pen. lanosum*, *Pen. commune*, роду *Fusarium* Linc. — *Fusarium moniliforme*.

За мікологічного моніторингу та під час визначення ступеня контамінації мікроскопічними грибами 29 проб кормів для свиней встановлено, що з досліджених проб перевищення допустимого ступеня контамінації плісневими грибами (більше $5,0 \times 10^4$ КУО у 1 г корму) виявили у 62,1 % проб, відповідно 37,9 % кормів мали допустиму мікологічну контамінацію. Показник загальної мікологічної забрудненості при перевищенні МДР у кормах становив від $6,0 \times 10^4$ до $149,0 \times 10^4$ КУО в 1 г корму (рис. 3).

За визначення складу мікобіоти кормів та кормової сировини було виділено та ідентифіковано 208 ізолятів плісневих та дріжджеподібних грибів (рис. 4).

Основними із виділених ізолятів (рис. 4) були плісневі гриби родів *Aspergillus* Mich. — 112 ізолятів, *Penicillium* Linc. — 37 ізолятів, *Fusarium* Linc. — 17 ізолятів, родини Mucoraceae — 29 ізолятів.

Наступним етапом наших досліджень була видова ідентифікація виділених ізолятів плісневих грибів, з урахування наявності токсин-утворюючих таксонів (табл. 4), велика кількість яких у кормі може сприяти підвищенню токсигенності кормів за рахунок накопичення продуктів життєдіяльності — мікотоксинів.

Таблиця 3 — Видовий склад токсинутворюючих мікроміцетів, виділених з проб кормів та кормової сировини

Вид токсин-утворюючого мікроміцета, назва токсичного метаболіту	Кількість ізолятів, шт.	Загальна видова кількість ізолятів у середині роду, %
Рід <i>Aspergillus</i> Mich.		
<i>Asp. flavus</i> — афлатоксини В ₁ , В ₂ , G ₁ , G ₂ , Н ₁ , Н ₂ , стеригматоцистін, пенітреми, тремогени, охалатес тощо	34	36,7
<i>Asp. fumigatus</i> — афлатоксин, фумігатин, фумітоксин А-Д, фумітреморгіни тощо	16	17,0
<i>Asp. niger</i> — афлатоксин, охалатес	5	5,3
<i>Asp. glaucus</i> — афлатоксин, патулін тощо	5	5,3
<i>Asp. oryzae</i> — афлатоксин, оризохлорин, мальторицин	5	5,3
<i>Asp. amstelodami</i> — афлатоксин, стеригматоцистін	4	4,2
Інші види	25	26,2
Всього	94	100
Рід <i>Penicillium</i> Linc.		
<i>Pen. lanosum</i> — цитринін	17	37,7
<i>Pen. commune</i> — охратоксин, пенітрем, афлатоксин тощо	16	35,6
Інші види	12	26,7
Всього	45	100
Родина Mucoraceae		
Рід <i>Rhizopus</i> Ehrenb. — афлатоксин, токсичні властивості	14	51,8
Рід <i>Mucor</i> Mich. — токсичні властивості	13	48,2
Всього	27	100
Рід <i>Fusarium</i> Linc.		
<i>Fusarium moniliforme</i> — моніліформін, вомітоксин, Т-2 токсин тощо	11	100,0
Всього	11	100



Рис. 3. Ступінь контамінації мікроміцетами кормів для свиней у 2022 році.

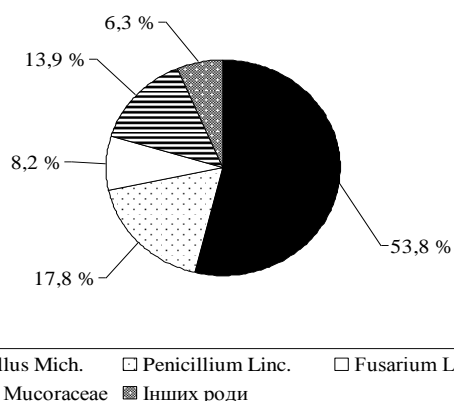


Рис. 4. Родовий склад мікобіоти комбікормів, що використовувалися у свинарській галузі у 2022 році.

За видової ідентифікації виділених ізолятів мікроскопічних грибів встановлено (табл. 4), що основними представниками роду *Aspergillus* Mich. були токсигенні види — *Asp. flavus*, *Asp. oryzae*, *Asp. fumigatus*, *Asp. glaucus*, *Asp. niger*, *Asp. ochraceus*. З представників роду *Penicillium* Linc. найчастіше ідентифікували види *Pen. lanosum*, *Pen. commune*, *Pen. stoloniferum*. Родина Mucoraceae була представлена родами *Mucor*, *Absidia* та *Rhizopus*. З роду *Fusarium* Linc. були виділені види *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*.

Таблиця 4 — Видовий склад токсин-утворюючих мікроміцетів, виділених з проб комбікормів для свиней

Вид токсин-утворюючого мікроміцета, назва токсичного метаболіту	Кількість ізолятів, шт.	Загальна видова кількість ізолятів у середині роду, %
Рід <i>Aspergillus</i> Mich.		
<i>Asp. flavus</i> — афлатоксини В ₁ , В ₂ , G ₁ , G ₂ , Н ₁ , Н ₂ , стеригматоцистин, пенітреми, тремогени, охалатес тощо	33	29,5
<i>Asp. fumigatus</i> — афлатоксин, фумігатин, фумітоксин А-Д, фумітреморгіни тощо	12	10,7
<i>Asp. oryzae</i> — афлатоксин, оризохлорин, мальторицин	11	9,8
<i>Asp. glaucus</i> — афлатоксин, патулін тощо	9	8,0
<i>Asp. niger</i> — афлатоксин, охалатес	9	8,0
<i>Asp. sydowi</i> — стеригматоцистин	7	6,2
<i>Asp. ochraceus</i> — охратоксини А, В, С, Д, афлатоксин, патулін тощо	5	4,5
Інші види	26	23,3
Всього	112	100
Рід <i>Penicillium</i> Linc.		
<i>Pen. lanosum</i> — цитринін	15	40,5
<i>Pen. commune</i> — охратоксин, пенітрем, афлатоксин тощо	10	27,1
<i>Pen. stoloniferum</i> — пеніцилова та мікофенолова кислоти	5	13,5
Інші види	7	18,9
Всього	37	100
Родина <i>Mucoraceae</i>		
Рід <i>Rhizopus</i> Ehrenb. — афлатоксин, токсичні властивості	11	37,9
Рід <i>Mucor</i> Mich. — токсичні властивості	10	34,5
Рід <i>Absidia</i> spp. — токсичні властивості	8	27,6
Всього	29	100
Рід <i>Fusarium</i> Linc.		
<i>Fusarium moniliforme</i> — моніліформін, вомітоксин, Т-2 токсин тощо	10	58,8
<i>Fusarium oxysporum</i> — фузаренон-Х, зеараленон, моніліформін, Т-2 токсин тощо	7	41,2
Всього	17	100

Отже, за мікологічного моніторингу 29 проб комбікормів для свиней встановили, що недоброякісні склали 62,1 %, корми з допустимим ступенем контамінації 37,9 %. Основними контамінантами кормів були представники плісневих грибів родів *Aspergillus* Mich. — 53,8 %, *Penicillium* Linc. — 17,8 %, *Fusarium* Linc. — 8,2 %, родини *Mucoraceae* — 13,9 %, представники інших родів склали 6,3 %.

Токсигенуючі таксони мікроміцетів роду *Aspergillus* Mich. були представлені *Asp. flavus*, *Asp. niger*, *Asp. sydowi*, *Asp. fumigatus*, *Asp. glaucus*, *Asp. oryzae*, *Asp. ochraceus*; роду *Penicillium* Linc. — видами *Pen. lanosum*, *Pen. commune*, *Pen. stoloniferum*; роду *Fusarium* Linc. — *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*.

Таким чином, отримані дані свідчать про незадовільний санітарний стан кормів для с.-г. птиці і свиней та недотримання режимів грануляції, що може призвести до інфекційних захворювань з ураженням респіраторної та травної системи на фоні розвитку вторинного імунодефіциту, який спричиняють віруси. Тому у птахівничих і свинарських господарствах необхідно проводити систематичні бактеріологічні та мікотоксикологічні дослідження кормів (не рідше, ніж 1 раз на 2 місяці), які зберігаються в господарствах, для своєчасного визначення початку псування і попередження негативної дії на організм тварин.

Висновки. 1. За визначення бактеріальної забрудненості 26 проб комбікормів для с.-г. птиці встановлено, що перевищення допустимого ступеня контамінації бактеріальною мікрофлорою (більше $5,0 \times 10^5$ КУО у 1 г корму) виявили у 42,3 % проб (у 4 пробах виявлено патогенні ентеробактерії — ізоляти *E. coli*), відповідно 57,7 % кормів мали допустиму бактеріальну контамінацію. Показник загальної мікробної забрудненості при перевищенні МДР у кормах становив від $5,3 \times 10^5$ до $5,6 \times 10^6$ КУО в 1 г корму.

2. За результатами бактеріологічних досліджень 23 проб кормів для свиней перевищення допустимого ступеня контамінації бактеріальною мікрофлорою виявили у 65,2 % досліджуваних проб (у 6 пробах виявлено сульфїтредукуючі клостридії), відповідно ступінь контамінації в межах МДР знаходився на рівні 34,8 %. Сальмонели, патогенні їрсинії та коагулазо-позитивні *S. aureus* у всіх пробах кормів не було виявлено. Показник загальної мікробної забрудненості при перевищенні МДР у кормах становив від $6,3 \times 10^5$ до $46,0 \times 10^5$ КУО в 1 г корму.

3. За мікологічного моніторингу 32 проб комбікормів для с.-г. птиці встановили, що недоброякісні склали 59,4 %, корми з допустимим ступенем контамінації 40,6 %. Основними контамінантами кормів були представники плісєневих грибів родів *Aspergillus* Mich. — 48 %, *Penicillium* Linc. — 23 %, *Fusarium* Linc. — 5,6 %, родини Mucogaseae — 12,2 %, представники інших родів склали 11,2 %. Токсигенуючі таксони мікроміцетів роду *Aspergillus* Mich. були представлені *Asp. flavus*, *Asp. amstelodami*, *Asp. niger*, *Asp. fumigatus*, *Asp. glaucus*, *Asp. oryzae*; роду *Penicillium* Linc. — видами *Pen. lanosum*, *Pen. commune*, роду *Fusarium* Linc. — *Fusarium moniliforme*.

4. За мікологічного моніторингу 29 проб комбікормів для свиней встановили, що недоброякісні склали 62,1 %, корми з допустимим ступенем контамінації 37,9 %. Основними контамінантами кормів були представники плісєневих грибів родів *Aspergillus* Mich. — 53,8 %, *Penicillium* Linc. — 17,8 %, *Fusarium* Linc. — 8,2 %, родини Mucogaseae — 13,9 %, представники інших родів склали 6,3 %. Токсигенуючі таксони мікроміцетів роду *Aspergillus* Mich. були представлені *Asp. flavus*, *Asp. niger*, *Asp. sydowi*, *Asp. fumigatus*, *Asp. glaucus*, *Asp. oryzae*, *Asp. ochraceus*; роду *Penicillium* Linc. — видами *Pen. lanosum*, *Pen. commune*, *Pen. stoloniferum*; роду *Fusarium* Linc. — *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*.

5. Отримані дані свідчать про незадовільний санітарний стан кормів для с.-г. птиці і свиней та недотримання режимів грануляції, що може призвести до інфекційних захворювань з ураженням респіраторної та травної системи на фоні розвитку вторинного імунодефіциту, який спричиняють віруси. Для своєчасного визначення початку псування кормів і попередження негативної дії на організм тварин необхідно проводити систематичні бактеріологічні та мікотоксикологічні дослідження.

Перспективи подальших досліджень полягають у систематичному контролі санітарно значущих контамінантів біотичного походження (бактерії, мікроміцети) кормової сировини та кормів, які використовуються для годівлі свиней та птиці, для запобігання їхнього негативного впливу на здоров'я та продуктивність тварин і зменшення економічних збитків у свинарській та птахівничій галузі.

Список літератури

1. Законодательно-нормативные акты Европейского Союза (ЕС) в отношении пищевой промышленности. 97 с. URL: http://www.icc-iso.ru/upload/information_system_27/6/1/0/item_610/Zakonodatelno_normat_aky_ES.pdf.
2. Про безпечність та гігієну кормів : Закон України від 21.12.2017 № 2264-VIII. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2264-19#Text>.
3. Кирилюк І. М. Управління безпечністю продукції тваринництва в сучасних умовах. *Ефективна економіка*. 2019. № 11. DOI: <https://doi.org/10.32702/2307-2105-2019.11.68>.
4. Arroyo-Manzanares N. et al. Mycotoxin Analysis: New Proposals for Sample Treatment. *Advances in Chemistry*. 2014. Article ID 547506, 12 p. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/547506>.
5. Серєгин И. Г., Боровков М. Ф., Карелина Е. А. Ветеринарно-санитарная экспертиза кормов. Москва : URSS, 2013. 456 с.
6. Cegielska-Radziejewska R., Stuper-Szablewska K., Szablewski T. Microflora and mycotoxin contamination in poultry feed mixtures from western Poland. *Annals of agricultural and environmental medicine*. 2013. Vol. 20, No 1. P. 30–35.
7. Harčárová M., Čonková E., Sihelská Z. Mycobiota and Mycotoxic Contamination of Feed Cereals. *Folia Veterinaria*. 2018. Vol. 62, No 4. P. 5-11. DOI: <https://doi.org/10.2478/fv-2018-0031>.

8. Васянович О. М., Руда М. Є., Янголь Ю. А. Встановлення видової приналежності мікроміцетів та вивчення їх здатності продукувати фузаріотоксини. *Ветеринарна біотехнологія*. 2017. № 30. С. 34–39.
9. Куцан О. та ін. Оцінка ступеня контамінації мікроміцетами та мікотоксинами кормів у скотарській галузі України за останні роки. *Вісник аграрної науки*. 2020. № 2(803) С. 52-57.
10. Кирилук І. М. Управління безпечністю продукції тваринництва в сучасних умовах. *Ефективна економіка*. 2019. № 11. DOI: <https://doi.org/10.32702/2307-2105-2019.11.68>.
11. Определитель бактерий Берджи : в 2 т. / под. ред. Дж. Хоулта та ін. Москва : Мир, 1997. Т. 1-2.
12. Ображей А. Ф. та ін. Методичні вказівки по санітарно-мікологічній оцінці та поліпшенню якості кормів : затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства АПК України 06 березня 1998 року № 15-14/73. Київ, 1998. 107 с.
13. Скибіцький В. Г. та ін. Ветеринарна мікробіологія. Київ : ТОВ Дорадо-Друк, 2012. 367 с.
14. Саттон Д., Фотергилл М., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов : учебное пособие для вузов. Москва : Мир, 2001. 487 с.
15. Билай В. И. Фузариин. Киев : Наукова думка, 1977. 443 с.
16. Пидопличко Н. М., Милько А. А. Атлас мукоральных грибов. Киев : Наукова думка, 1971. 187 с.
17. Пидопличко Н. М. Пенициллин: определитель. Киев : Наукова думка, 1972. 150 с.
18. Билай В. И., Коваль Э. З. Аспергиллы: определитель. Киев : Наукова думка, 1988. 204 с.
19. Даньшина М. С. Атлас токсичных грибов поражающих корма. Кишинев, 1985. 95 с.
20. Перелік максимально допустимих рівнів небажаних речовин у кормах та кормовій сировині для тварин : затверджено Наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України № 131 від 19.03.2012, у редакції наказу Міністерства економічного розвитку і торгівлі № 550 від 11.10.2017 року.

BACTERIAL AND MYCOLOGICAL MONITORING OF FODDER FOR POULTRY AND PIGS FROM DIFFERENT REGIONS OF UKRAINE IN 2022

Yaroshenko M. O., Kolchuk O. V.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

The goal is to carry out bacterial and mycological monitoring of fodder for poultry and pigs from different regions of Ukraine in 2022. Determination of microbial contamination of fodder samples for poultry and pigs were carried out in accordance with Order of MAPFU No. 131 dated 19.03.2012. The identification of selected field isolates of bacteria was carried out according to generally accepted microbiological methods and *Bergey's Manual* and SOP MC-03-2014 "Accelerated indication of pathogenic enterobacteria in biological material, fodder and objects of the external environment". The degree of contamination of feed with microscopic fungi was determined by the number of colony-forming units (CFU) per 1 g of feed; the species affiliation of the isolated mycobiota was established by comparing the cultural and morphological features with the descriptions given in the determinants of micromycetes and with museum strains of test cultures. For the determination of bacterial contamination of 26 samples of compound feed for poultry, it was established that exceeding the permissible degree of contamination by bacterial microflora (more than 5.0×10^5 CFU in 1 g of feed) was found in 42.3% of samples (pathogenic enterobacteria — *E. coli* isolates were detected in 4 samples), respectively 57.7% of feeds had acceptable bacterial contamination. The indicator of total microbial contamination when the MPL in feed was exceeded was from 5.3×10^5 to 5.6×10^6 CFU in 1 g of feed. According to the results of bacteriological studies of 23 samples of feed for pigs, exceeding the permissible degree of contamination by bacterial microflora was found in 65.2% of the studied samples (sulfite-reducing clostridia were found in 6 samples), respectively, the degree of contamination within the limits of the MPL was at the level of 34.8%. *Salmonella*, pathogenic *Yersinia* and coagulase-positive *S. aureus* were not detected in all feed samples. The indicator of total microbial contamination when the MPL in feed was exceeded was from 6.3×10^5 to 46.0×10^5 CFU in 1 g of feed. During the mycological monitoring of 32 samples of compound feed for poultry found that 59.4% were of poor quality, 40.6% of feed with an acceptable degree of contamination. The main contaminants of feed were representatives of mold fungi of the genera *Aspergillus* Mich. — 48%, *Penicillium* Linc. — 23%, *Fusarium* Linc. — 5.6%, *Mucoraceae* family — 12.2%, representatives of other genera accounted for 11.2%. Toxigenic of micromycetes of the genus *Aspergillus* Mich. were presented by *Asp. flavus*, *Asp. amstelodami*, *Asp. niger*, *Asp. fumigatus*, *Asp. glaucus*, *Asp. oryzae*; genus *Penicillium* Linc. — types of *Pen. lanosum*, *Pen. commune*, genus *Fusarium* Linc. — *Fusarium moniliforme*. During the mycological monitoring of 29 samples of compound fodder for pigs, it was established that 62.1% were of poor quality, and 37.9% were contaminated with an acceptable degree of contamination. The main contaminants of feed were representatives of mold fungi of the genera *Aspergillus* Mich. — 53.8%, *Penicillium* Linc. — 17.8%, *Fusarium* Linc. — 8.2%, *Mucoraceae* family — 13.9%, representatives of other genera accounted for 6.3%. Toxigenic of micromycetes of the genus *Aspergillus* Mich. were presented by *Asp. flavus*, *Asp. niger*, *Asp. sydowi*, *Asp. fumigatus*, *Asp. glaucus*, *Asp. oryzae*, *Asp. ochraceus*; genus *Penicillium* Linc. — types of *Pen. lanosum*, *Pen. commune*, *Pen. stoloniferum*; genus *Fusarium* Linc. — *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*

Keywords: biotic contaminants, bacteria, micromycetes

СКРИНІНГ ПОРУШЕНЬ ЯКОСТІ КОРМІВ У ТВАРИННИЦЬКИХ ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ У 2021 РОЦІ

Коваленко Л. В., Бойко В. С., Руденко О. П., Бусол В. О., Драгуть С. С.

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: larbuko@gmail.com*

Долецький С. П.

Національна академія аграрних наук України, Київ, Україна

У даній статті висвітлені результати досліджень щодо порушень якості кормів у тваринницьких господарствах різних областей України. Встановлено ступінь змін показників поживної цінності та якості кормів. Метою даних досліджень було провести скринінг порушень якості кормів у тваринницьких господарствах. Матеріалом для досліджень слугували зразки комбікормів, концентрованих та об'ємистих кормів із господарств різних областей України. Ступінь порушень якості кормів визначали за такими показниками: вміст сирого протеїну, вологи, сирого жиру, сирій клітковини, вміст макроелементів, показник обмінної енергії, кислотне число жиру. У результаті проведених досліджень якості кормів встановлено невідповідність нормативним документам за такими показниками: 1) концентровані корми (10,0 % від досліджених): вологість підвищена, у середньому в 1,8 рази, вміст сирого протеїну знижений на 21,3 %, рівень сирого жиру підвищений у 10 разів; 2) комбікорми (5,7 % від досліджених): вологість підвищена, у середньому на 10,2 %, вміст сирого протеїну знижений на 21,2 %, рівень сирій клітковини підвищений на 11,0 %, концентрація макроелементів (Кальцію та Фосфору) знижена на 8,0 % та 8,8 %, показник кислотного числа жиру підвищений на 4,3 %; 3) об'ємисті корми (8,6 % від досліджених): вологість підвищена, у середньому на 30,6 %, вміст сирого протеїну знижений на 6,8 %, рівень сирій клітковини підвищений на 8,6 %, показник обмінної енергії знижений на 4,7 %

Ключові слова: моніторинг, хімічні показники, сільськогосподарські тварини

Численні дослідження та світовий досвід свідчать, що головним чинником досягнення високої продуктивності, нормального стану мікробіому та метабіому в організмі молочних корів, відтворної здатності, резистентності до захворювань, продуктивного довголіття корів має бути організація стабільної, біологічно повноцінної годівлі у всі періоди їхнього росту, розвитку та продуктивного використання [22].

Якість сільськогосподарської сировини значною мірою обумовлює здоров'я людини та залежить від багатьох факторів: рівня племінної роботи, запровадження сучасних технологій утримання тварин, створення якісної кормової бази. Розвиток контролю за якістю та безпечністю кормів є однією із важливих задач сучасної науки про годівлю тварин [23].

Головною умовою досягнення високої продуктивності тварин є організація міцної кормової бази, забезпечення тварин повноцінними за основними і біологічно активними речовинами раціонами з урахуванням нормованого співвідношення в них елементів живлення з використанням раціонів, які за комплексом основних поживних і біологічно активних речовин відповідають потребам тварин [1, 21].

Враховуючи те, що комбікорми на 80,0 % складаються із зернових культур, необхідно значну увагу приділяти визначенню рівня сирій клітковини, сирого протеїну та вологи; макуха та шрот — це кормова сировина, яка має високий рівень сирого протеїну, жиру та сирій клітковини, тому необхідно ретельно контролювати як рівень вищезначених показників, так і кислотне та перекисне числа у конкретних умовах ведення тваринництва, оскільки навіть незначні та короточасні порушення якості кормів можуть викликати метаболічні зміни в організмі корів та погіршення якості молока [16, 17, 20].

Аналізу якості кормів та розробці норм годівлі тварин присвячено багато наукових праць [12, 13, 15]. Однак, постійний моніторинг їхніх порушень та пошук засобів корекції виявлених

порушень є актуальним і має як фундаментальне, так і практичне значення, оскільки в умовах розвитку ринкових відносин у тваринницькому секторі аграрного виробництва, головним завданням є забезпечення високої продуктивності тварин, отримання продукції високої якості з найменшими затратами [19].

У зв'язку з цим метою дослідження було провести скринінг порушень якості кормів у тваринницьких господарствах різних регіонів України у 2021 році.

Матеріали та методи. Впродовж 2021 року проведено моніторинг та аналіз показників якості кормів (n = 70) із господарств Центрального регіону України: Вінницької, Дніпропетровської, Кіровоградської, Полтавської, Черкаської областей, Південного регіону: Запорізької, Херсонської та Миколаївської областей, Східного регіону: Донецької та Харківської областей.

Якість кормів вивчали за вмістом сирого протеїну, який визначали за методом К'ельдаля згідно з ДСТУ ISO 5983:2003 [2], показником вологи — згідно ДСТУ ISO 6496:2005 [3], вмістом сирого золи згідно з ДСТУ ISO 5984:2004 2005 [4], кількістю сирого клітковини — згідно з ДСТУ ISO 6865:2004 [5], сирого жиру — згідно з ДСТУ ISO 6492:2003 [6], Кальцію — згідно з ДСТУ ISO 6490-1:2004 [7], Фосфору — згідно з ДСТУ ISO 6491:2004 [8]. Кислотне число жиру визначали згідно методичних рекомендацій [9]. Вміст органічних кислот у об'ємистих кормах визначали за методом Леппера–Флінга згідно з ДСТУ 4782:2007 та ДСТУ 4684:2006 [10, 11].

Результати досліджень. У результаті проведення моніторингу кормів із господарств Центрального регіону України було встановлено, що якісні для годівлі корми були виявлені в 64 % господарств (Вінницької області, Полтавської області, Кіровоградської області), а 36 % господарств цього регіону України (Дніпропетровської області, Черкаської області) використовують невідповідні нормативним документам корми (рис. 1).

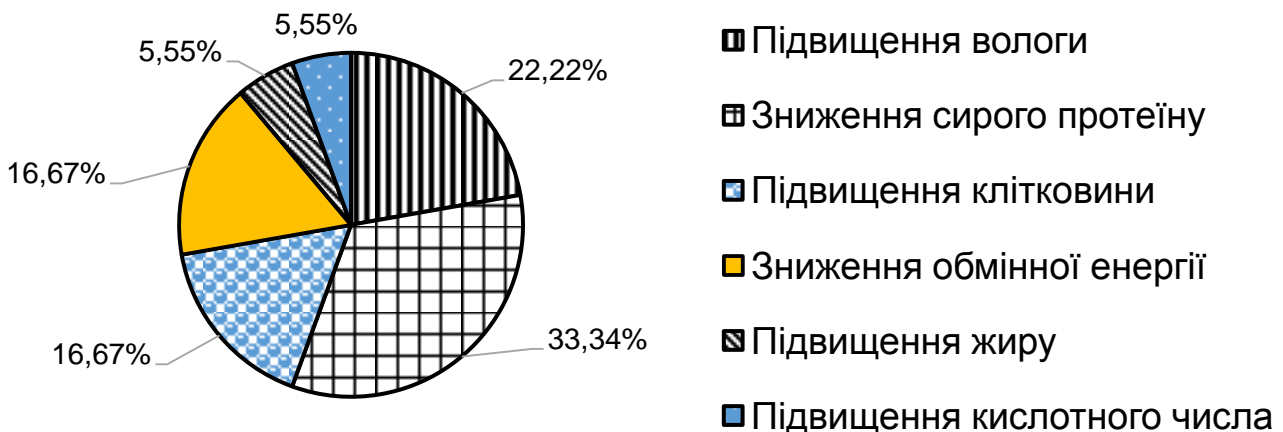


Рис. 1. Аналіз результатів якості кормів із Центрального регіону.

Хімічними дослідженнями шроту соєвого, що надійшли із Дніпропетровської області, було встановлено підвищення вологи на 4,5 % та сирого жиру в 10 разів, а також зниження вмісту сирого протеїну на 10,0 %. За даними літератури підвищення жиру в кормах з одночасним зниженням протеїну може викликати розлади у травній системі, а саме жирні кислоти, які не використалися на синтез глюкози у печінці, перетворюються на кетоніві тіла (ацетон, бета-оксимасляна і ацетооцтова кислоти) і як наслідок розвивається жирова дистрофія печінки [13].

У зразках комбікормів для поросят віком 50 діб відмічено зниження вмісту сирого протеїну на 11,0 %, а вміст сирого клітковини був підвищений на 11,0 % відносно показників норми. У зразках комбікормів «Передстартер» для поросят встановлено підвищення вологи на 12,5 % відносно показників референтного рівня, зниження вмісту сирого протеїну на 23,2 %; концентрація мікроелементів (Кальцію та Фосфору) була знижена на 8,0 % та 8,8 % відповідно, що за даними літератури впливає на затримку формування кісткової тканини, її кальцифікації із подальшими змінами в інших системах організму [14]. Також відмічено підвищення кислотного числа жиру на 4,3 % відносно показників референтного рівня.

Аналізуючи корми для свиней із Вінницької області було виявлено, що у комбікормах підвищений на 7,8 % рівень вологи, а вміст сирого протеїну знижений на 30,6 %.

**Розділ 4. Якість і безпечність продукції тваринництва.
Ветеринарно-санітарна експертиза. Ветеринарна фармакологія та токсикологія**

У зразках комбікормів для великої рогатої худоби із Вінницької області встановлено, що рівень сирого протеїну знижений на 20,0 % щодо нижньої межі норми. У зразках сіна та силосу кукурудзяного відмічено зниження вмісту сирого протеїну на 7,5 % та показника обмінної енергії на 1,2 %. Складові кормів (тобто вуглеводи, білки, ліпіди) поза належним надходженням з іншими поживними речовинами можуть, наприклад, змінити склад молока, збільшити масу тіла або призвести до більшого виведення азоту. Як свідчать дані літератури, негативний енергетичний баланс у продуктивних тварин викликає підвищення співвідношення неетерифікованих жирних кислот до холестерину та вищу концентрацією β -гідроксибутирату [17, 21]. При дослідженні кормів для великої рогатої худоби із Черкаської області встановлено, що у сінажі рівень вологи дещо підвищений (на 4,3 %) відносно верхньої межі норми. Вміст сирого протеїну знижений на 12,0 %, а сирі клітковини підвищений на 4,2 % і як наслідок цього показник обмінної енергії знижений на 3,0 % відносно нормативних показників 3 класу. У зразках силосу вміст сирого протеїну дещо знижений (на 3,0 %), а сирі клітковини — підвищений на 13,0 %, що в свою чергу обумовило зниження показника обмінної енергії на 10,0 % відносно нормативних показників 3-го класу [10].

У результаті проведеного моніторингу якості кормів із Центрального регіону було виявлено 26,0 % неякісних кормів: показник вологи був підвищений у середньому на 6,5 %, вміст сирого протеїну знижений на 14,4 %, вміст сирі клітковини у середньому підвищений на 9,4 %, рівень сирого жиру підвищений у 10 разів, показник обмінної енергії знижений на 4,7 %, вміст макроелементів знижений на 8,0 та 8,8 %, кислотне число жиру підвищене на 4,3 %.

При дослідженні кормів із господарств Південного регіону України було виявлено 14,3 % неякісних кормів. Корми, одержані із Запорізької області, для великої рогатої худоби були якісними і відповідали показникам нормативних документів (таб.).

Таблиця — Аналіз результатів якості кормів із Південного регіону України

Господарство	Корми	Якість	Неякісні за показниками, %
ПП АФ «Росія»	Силос	+	-
	Сінаж	+	-
	Зерно кукурудзи	+	-
	Зерно ячменю	+	-
	Макуха соняшникова	+	-
	Макуха соєва	+	-
	Шрот соняшковий	+	-
	Плющена кукурудза	+	-
ДП ДГ «Інституту рису»	Сіно	+	-
	Сінаж	-	Показник вологи знижений на 60 %, вміст сухої речовини підвищений на 39 %
	Силос	+	Зниження вмісту сирого протеїну на 10,0 %
	Зерно ячменю	+	-
	Зерно пшениці	+	-
ТОВ «Нікагрокомплекс»	М'ясо-кісткова мука	+	-

Якісні характеристики не всіх кормів, одержаних із Херсонської області, відповідали нормативним значенням. Так, рівень вологи у сінажі був знижений на 60,0 %, вміст сухої речовини підвищений на 39,0 %. У силосі вміст сирого протеїну був знижений на 10,0 %. У роботі Driehuis et al. (2018) вказано, що знижений показник вологи у такому ферментованому кормі як силос, корелює з показником кислотності, а підвищений рівень рН, що зазвичай пов'язано з аеробними процесами у силосі, є основним фактором, який впливає на концентрацію *L. monocytogenes*, та *E. coli*, яка продукує токсин Шига, цвілі в силосі, а також може сприяти виживанню та накопиченню бактерії *M. bovis* — збудника туберкульозу великої рогатої худоби [18]. Зразки зерна пшениці та ячменю цього регіону відповідали показникам нормативних документів. Всі зразки кормів, які були одержані із Миколаївської області, відповідали показникам нормативних документів.

При дослідженні зразків із господарств Східного регіону України, Донецької області було встановлено, що для годівлі тварин використовують корми, які не відповідають показникам нормативних документів, а саме, у зразках макухи соняшnikової показник вологи був підвищений майже у 2 рази, а вміст сирого протеїну знижений на 6,4 % (рис. 2).

У зразках макухи соєвої показник вологи також підвищений в 1,6 рази, вміст сирого протеїну знижений на 8,0 %. Корми, які мають велику кількість білка та жиру (соєа та соняшник) при підвищеній волозі мають більш сприятливі умови для розвитку плісневих грибів, а жир швидко гіркне, що призводить до непридатності у використанні [9, 16].

У зразках «зерно кукурудзи» рівень сирого протеїну був знижений на 32,0 % відносно показників норми. Аналізуючи літературні дані, такий енергетичний дисбаланс відображається на кратності та кількості споживання корму, що веде до змін якості сільськогосподарської продукції та порушує обмінні процеси в організмі тварин [23–25]. При дослідженні кормів із Харківської області у зразках макухи соняшnikової було встановлено зниження вмісту сирого протеїну на 37,5 % відповідно відносно показників референтного рівня. У зерні кукурудзи рівень сирого протеїну був знижений на 20,0 % відносно показників норми.

У результаті проведеного моніторингу якості кормів із Східного регіону було виявлено 24,0 % неякісних кормів за такими показниками, а саме: показник вологи підвищений у 1,8 разів, вміст сирого протеїну знижений на 23,3 %. Якщо встановлено зниження сирого протеїну більш ніж на 20,0 %, то в організмі тварин встановлюють розлади метаболізму та ендокринні реакції, що в свою чергу призводить до впливу на імунну систему [12, 19, 20].

Узагальнення результатів скринінгу якості кормів, дало змогу констатувати невідповідність показників нормативним документам для: концентрованих кормів (10,0 % від досліджених): вологість підвищена, в середньому в 1,8 рази; вміст сирого протеїну знижений на 21,3 %, вміст сирого жиру підвищений у 10 разів. У комбікормах (5,7 % від досліджених): вологість підвищена, в середньому на 10,2 %, вміст сирого протеїну знижений на 21,2 %, вміст сирого клітковини підвищений на 11,0 %, концентрація макроелементів (Кальцію та Фосфору) знижена на 8,0 % та 8,8 %; показник кислотного числа жиру підвищений на 4,3 %. У об'ємистих кормах (8,6 % від досліджених): вологість підвищена, в середньому на 30,6 %; вміст сирого протеїну знижений на 6,8 %; вміст сирого клітковини підвищений на 8,6 %; показник обмінної енергії знижений на 4,7 %.

Висновок. Отримані результати досліджень, проведених у 2021 році, щодо якості кормів у тваринницьких господарствах різних регіонів України, свідчать про виражені зміни показників щодо нормативних значень. Найчастіше це виражалось у підвищенні вологи та сирого клітковини, зниженні рівня протеїну, що обумовлює зниження енергетичної цінності кормів та може призводити до порушення метаболічних процесів і зниження продуктивності сільськогосподарських тварин.

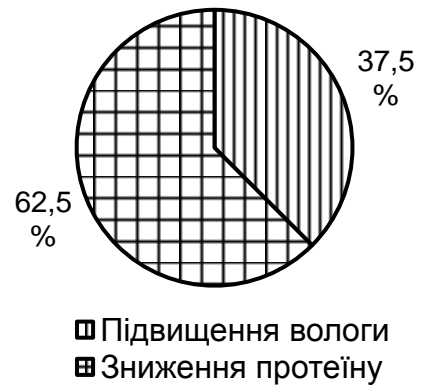


Рис. 2. Аналіз результатів якості кормів із Східного регіону України

Список літератури

1. Долецький С. П. Вплив Мінпанкору на вміст есенційних мінеральних елементів у крові корів. *Вісник аграрної науки*. 2016. № 5. С. 43–47.
2. ДСТУ ISO 5983-1:2014. Корм для тварин. Визначення вмісту азоту та обчислення вмісту сирого протеїну. Частина 1. Метод К'ельдаля (ISO 983-1:2005, IDT). [Чинний з 2007-07-01]. Київ, 2015. 12 с.
3. ДСТУ ISO 6496:2005. Корми для тварин. Визначення вмісту вологи та інших летких речовин (ISO 6496:1999, IDT). [Чинний з 2006-07-01]. Київ, 2006. 11 с.
4. ДСТУ ISO 5984:2004. Корми для тварин. Визначення вмісту сирого золи (ISO 5984:2002, IDT) [Чинний з 2006-01-01]. Київ, 2006. 8 с.
5. ДСТУ ISO 6865:2004. Корми для тварин. Визначення вмісту сирого клітковини методом проміжного фільтрування. [Чинний з 2006-04-01]. Київ, 2006. 14 с.
6. ДСТУ ISO 6492:2003. Корми для тварин. Визначення вмісту жиру (ISO 6492:1999, IDT). [Чинний з 2005-07-01]. Київ, 2005. 12 с.
7. ДСТУ ISO 6490-1:2004. Корми для тварин. Визначення вмісту кальцію. Частина 1. Титриметричний метод. [Чинний з 2006-01-01]. Київ, 2006. 8 с.

8. ДСТУ ISO 6491:2004. Корми для тварин. Визначення вмісту фосфору. Спектрометричний метод (ISO 6491:1998, IDT). [Чинний з 2006-01-01]. Київ, 2006. 10 с
9. Методичні вказівки щодо нормування кислотного і перекисного чисел жиру в кормах і комбікормах : затверджені Головним управлінням ветеринарної медицини Мінсільгосппроду України 13.09.1993 р. № 15-15/39.
10. ДСТУ 4782:2007. Силос із зелених рослин. Технічні умови. [Чинний з 2009-01-01]. Київ, 2009. 18 с
11. ДСТУ 4684:2006. Сінаж. Технічні умови. [Чинний з 2007-10-01]. Київ, 2007. 18 с
12. Кулик М. Ф. та ін. Обґрунтування критерію відношення цукрів із крохмалем і структурними вуглеводами до сирого протеїну в раціонах корів. *Корми і кормовиробництво*. 2020. № 89. С. 181-193. DOI: <https://doi.org/10.31073/kormovyrobnytstvo202089-18>.
13. Лоза А. А. Експрес-моніторинг і оцінка даних використання кормів у сільськогосподарських підприємствах з виробництва свинини. *Наукові праці Полтавської державної аграрної академії*. 2012. Вип. 1(4), Т. 3. Економічні науки. С. 98–102.
14. Кліценко Г. Т. та ін. Мінеральне живлення тварин. Київ : Світ, 2001. 576 с.
15. Плис В. М., Мартиненко Г. Н. Результати досліджень поживності та безпечності кормів для різних видів сільськогосподарської птиці. *Ветеринарна медицина : міжвідомчий тематичний науковий збірник*. 2015. № 101. С. 226–229.
16. Яківчук К. С. Оцінка за продукцією молока соняшникової макухи, екструдованої та експондованої сої в раціонах корів. *Корми і кормовиробництво*. 2019. Вип. 87. С. 102–106.
17. Leduc A. et al. Effect of feed restriction on dairy cow milk production: a review. *Journal of animal science*. 2021. Vol. 99, No 7. skab130. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skab130>.
18. Driehuis F. et al. Silage review: Animal and human health risks from silage. *Journal of dairy science*. 2018. Vol. 101, No 5. P. 4093–4110. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13836>.
19. Gross J. J., Bruckmaier R. M. Invited review: Metabolic challenges and adaptation during different functional stages of the mammary gland in dairy cows: Perspectives for sustainable milk production. *Journal of dairy science*. 2019. Vol. 102, No 4. P. 2828–2843. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15713>.
20. Gross J. J., Stürmlin R., Bruckmaier R. M. Metabolic and endocrine responses to short-term nutrient imbalances in the feed ration of mid-lactation dairy cows. *Animal : an international journal of animal bioscience*. 2021. Vol. 15, No 7. 100306. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100306>.
21. Kleefisch M. T. et al. Effects of feeding high-quality hay with graded amounts of concentrate on feed intake, performance and blood metabolites of cows in early lactation. *Archives of animal nutrition*. 2018. Vol. 72, No 4. P. 290–307. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2018.1474004>.
22. Li Y. Q. et al. Combined signature of rumen microbiome and metabolome in dairy cows with different feed intake levels. *Journal of animal science*. 2020. Vol. 98, No 3. skaa070. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skaa070>.
23. Meale S. J. et al. Impact of genetic potential for residual feed intake and diet fed during early- to mid-gestation in beef heifers on carcass characteristics and meat quality attributes of their castrated male offspring. *Meat science*. 2021. Vol. 182. 108637. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108637>.
24. John A. J. et al. The effect of temporal variation in feed quality and quantity on the diurnal feeding behaviour of dairy cows. *Animal : an international journal of animal bioscience*. 2019. Vol. 13, No 11. P. 2519–2526. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1751731119001198>.
25. Li Y. Q. et al. Combined signature of rumen microbiome and metabolome in dairy cows with different feed intake levels. *Journal of animal science*. 2020. Vol. 98, No 3. skaa070. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skaa070>.

SCREENING OF FEED QUALITY VIOLATIONS IN UKRAINIAN LIVESTOCK FARMS IN 2021

Kovalenko L. V., Boiko V. S., Rudenko O. P., Busol V. O., Dragut S. S.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

Doletskyi S. P.

National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

This article highlights the results of research on feed quality violations in livestock farms in different regions of Ukraine. The degree of changes in the nutritional value and quality of feed was determined. The purpose of these studies was to screen for feed quality violations in livestock farms. The material for the research was samples of mixed fodder, concentrated and bulk feed from farms in different regions of Ukraine. The degree of feed quality violations was determined by the following indicators: crude protein, moisture, crude fat, crude fiber, macronutrient content, metabolic energy, and fat acidity. As a result of the feed quality studies, the following indicators were found to be non-compliant with the regulatory documents: (i) concentrated feed (10.0% of the samples tested): moisture content increased by an average of 1.8 times, crude protein content decreased by 21.3%, crude fat level increased by 10 times; (ii) mixed fodder (5.7% of the samples): moisture content increased by an average of 10.2%, crude protein content decreased by 21.2%, crude fiber level increased by 11.0%, the concentration of macronutrients (calcium and phosphorus) decreased by 8.0% and 8.8%, fat acidity increased by 4.3%; (iii) bulk feed (8.6% of the tested feed): moisture content increased by an average of 30.6%, crude protein content decreased by 6.8%, crude fiber level increased by 8.6%, metabolizable energy decreased by 4.7%

Keywords: *monitoring, chemical indicators, farm animals*

ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ДЕЗПРЕПАРАТУ САНДЕЗВЕТ НА ЩУРАХ

Наливайко Л. І., Бойко В. С.

Східноукраїнський національний університет ім. В. Даля, Україна, e-mail: vet-doctor@ukr.net

Оробченко О. Л.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна

На сьогодні не втрачає актуальності розробка дезінфікуючих засобів, ефективних при безпосередньому контакті на бактерії, віруси та гриби, які володіють значним біоцидним ефектом та екологічною безпечністю. Боротьба з інфекційними хворобами ефективна і можлива лише за наявності застосування високоефективних та доступних засобів, що призначені для профілактичної, поточної та заключної дезінфекції за відсутності і в присутності тварин або птиці. В СХУ ім. В. Даля (колишньому ЛНАУ) розроблено препарат Сандезвет (СДВ) на основі зареєстрованого в Україні дезінфектанту «СефДез інстру» (засіб для дезінфекції, достерелізаційного очищення та стерилізації) (виробник ТОВ «Дезпланет»). Препарат удосконалено для застосування дезінфекції об'єктів ветеринарного нагляду у галузі птахівництва додаванням ПАВ та ароматизатору. За результатами визначення параметрів гострої токсичності препарату Сандезвет (СДВ) за одноразового внутрішньошлункового введення LD_{50} для щурів-самок (за абсолютною масою препарату) дозволяє віднести його до IV класу — малотоксичних речовин, а за ступенем небезпечності до III класу — помірно небезпечних речовин

Ключові слова: доза, летальність

На тлі екологічних змін навколишнього середовища в системі ветеринарно-санітарних заходів залишається актуальним пошук нових засобів для профілактики та дезінфекції, проведення яких залежить від забезпеченості ефективними ветеринарними препаратами та технічними засобами. За короткий термін вони повинні зменшити натиск або ліквідувати збудників інфекційних захворювань за рахунок вибору методів (волога, аерозольна, газова, пінна), засобів (хімічні, біологічні, фізичні) дезінфекції та техніки для їх використання.

Дезінфекція займає одне з перших місць в ефективній боротьбі з інфекційними хворобами, особливо емерджентними. Забезпечує отримання здорового поголів'я, підвищення продуктивності птиці та тварин, санітарній якості продукції і кормів для них.

Однією із особливостей поширення бактеріальних хвороб є розповсюдження патогенної мікрофлори серед сільськогосподарської птиці до яких відносяться протей, сальмонельоз, колібактеріоз та ін. (збудники шлунково-кишкового тракту), патогенні серотипи яких у навколишньому середовищі зберігаються тривалий час.

Останнім часом спостерігається активізація процесу створення нових ефективних засобів і технологій та їх застосування у ветеринарній практиці, але в силу обставин, які склались за останні роки в країні, розроблені дезінфекційні засоби не можна вважати задовільними [1–4].

В Луганському національному аграрному університеті (нині після реорганізації СХУ ім. В. Даля) розроблено препарат Сандезвет (СДВ) на основі зареєстрованого в Україні дезінфектанту «СефДез інстру» (виробник ТОВ «Дезпланет»). Препарат удосконалено для застосування у дезінфекції об'єктів ветеринарного нагляду у галузі птахівництва додаванням ПАВ та ароматизатора.

Сандезвет (СДВ) — дезінфікуючий засіб призначений для проведення поточної, заключної та профілактичної дезінфекції, генеральних прибирань, при інфекціях бактеріальної, вірусної та грибкової етіології. Дезінфекції хірургічних інструментів, для дезінфекції поверхонь приміщень (підлога, стіни, двері), медичних приладів, холодильників та іншого обладнання.

Метою досліджень було визначити токсичну дію препарату Сандезвет (СДВ) на лабораторних тваринах.

Матеріали та методи. В експерименті було використано 64 самця нелінійних білих щурів 3–4-місячного віку і масою 210,0–220,0 г, що утримувались за оптимальних умов віварію: температура у приміщенні складала 18 ± 2 °С, відносна вологість повітря 70 %, забезпечено 10-разову зміну об'єму повітря в кімнаті віварію за годину.

Для годівлі тварин використовували повнораціонний комбікорм для гризунів. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Перед початком досліджень кожну тварину зважували.

Результати досліджень. Лабораторні дослідження з визначення гострої токсичності препарату Сандезвет (СДВ) на білих щурах проводили у лабораторії токсикологічного моніторингу ННЦ «ІЕКВМ» під керівництвом д. вет. н., ст. н. с. О. Л. Оробченка.

При визначенні параметрів гострої токсичності препарату Сандезвет (СДВ) за одноразового внутрішньошлункового введення розраховували дози препарату, що вводили індивідуально, відповідно до маси кожного щура, при цьому об'єм препарату, що вводили внутрішньошлунково за один раз, не перевищував 2,5 см³. У попередньому експерименті за принципом аналогів було сформовано контрольну і три дослідні групи по 4 тварини в кожній (n = 4). Препарат Сандезвет (СДВ) вводили в дозах 500,0, 2 000,0 і 3 500,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату одноразово перорально за допомогою стравохідно-шлункового зонду. Тваринам контрольної групи вводили дистильовану воду. Після загибелі тварин проводили патологоанатомічний розтин (рис. 1).



А



Б

Рис. 1. Патологоанатомічні зміни внутрішніх органів щурів за умов одноразового внутрішньошлункового введення препарату Сандезвет (СДВ): А — печінка та кишечник без патологічних змін; Б — печінка темно-вишневого кольору

Клінічні спостереження показали, що внутрішньошлункове введення препарату щурам I дослідної групи (500,0 мг/кг маси тіла) через 5–10 хв спричиняло незначне зниження реакції на зовнішні подразники, яке зникало протягом доби. Незначне пригнічення, яке розвивалося 3–4 год, у тварин зберігалося протягом 3 діб. У цей період у тварин спостерігали спрагу, збільшення активів сечовиділення та дефекації. З 4-ї доби клінічний стан щурів поступово відновлювався, і на 6–8-му доби досліджень вони добре реагували на зовнішні подразники, активно споживали корм та воду. Загибелі щурів у цій групі не спостерігали протягом 14 діб (термін спостереження). У щурів II дослідної групи (2 000,0 мг/кг маси тіла) через 5–10 хв після введення препарату реєстрували виражене пригнічення, яке наростало протягом 3 год, тварини

відмовлялися від корму і води, повільно пересувались по клітці, реакція на зовнішні подразники була зниженою, спостерігали порушення координації рухів. На 5–8-му годину у них спостерігали коматозний стан і загибель. У щурів III дослідної групи, яким вводили препарат в дозі 3 500,0 мг/кг маси тіла, спостерігали більш виражену клінічну картину отруєння: через 5–10 хв після введення препарату реєстрували виражене пригнічення, яке наростало протягом 30 хв, тварини відмовлялися від корму і води, повільно пересувались по клітці, реакція на зовнішні подразники була зниженою з порушенням координації рухів. Через годину після введення препарату у цих щурів спостерігали коматозний стан і загибель (табл. 1).

Таблиця 1 — Динаміка загибелі щурів у попередньому досліді за визначення гострої токсичності препарату Сандезвет (СДВ) (n = 16)

Строки загибелі щурів, через	Групи щурів і дози, мг/кг маси тіла			
	Контроль	Дослід		
		I (500,0)	II (2 000,0)	III (3 500,0)
1–2 год	–	–	–	4
3–6 год	–	–	1	–
7–8 год	–	–	1	–
2–14 діб	–	–	–	–
Усього загинуло	–	–	2	4

Наступним етапом вивчення токсикологічних характеристик препарату Сандезвет (СДВ) було визначення показників середньолетальної дози та її стандартної похибки (LD_{50} , LD_{10} , LD_{16} , LD_{84} , LD_{90} , LD_{100}), яку розраховували за методом пробіт-аналізу за В. Б. Прозоровським. Токсикометричні параметри препарату, розраховували за методом найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності. Встановлено частку летальності, пробіти (Y), вагові коефіцієнти пробітів (Z). Для побудови графіка на осі абсцис відкладали значення доз препарату (мг/кг), а на осі ординат — значення ефекту (%). Графічне зображення кривої, що відображає залежність «доза-ефект» для щурів представлено на рис. 2.

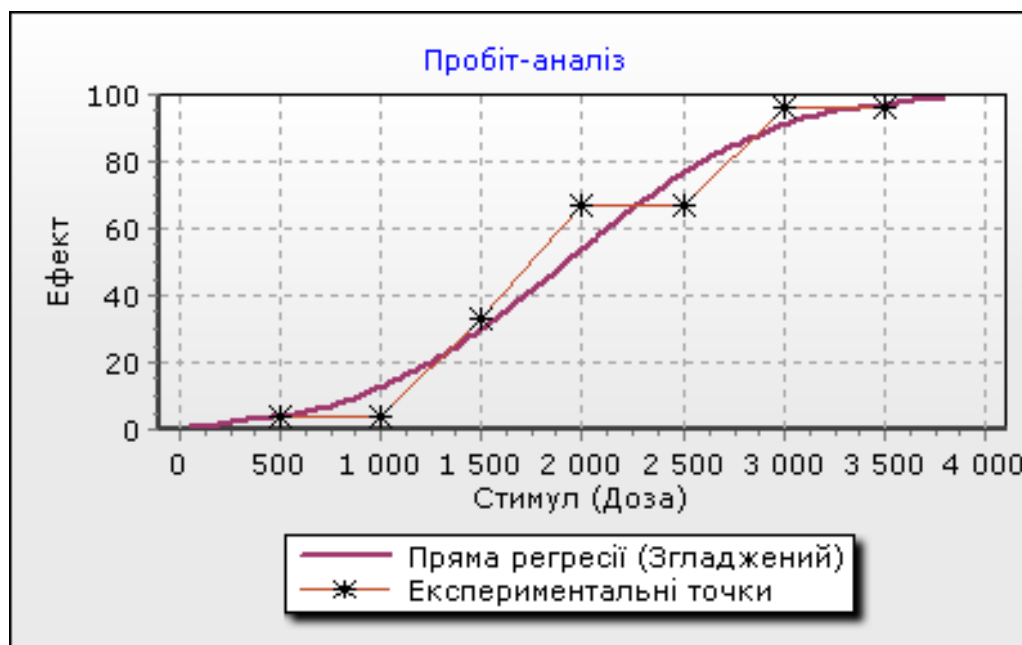


Рис. 2. Крива летальності щурів-самок за умов одноразового внутрішньо-шлункового введення препарату Сандезвет (СДВ).

Результати обчислення середньо-летальної дози препарату Сандезвет (СДВ) для щурів за умов внутрішньо-шлункового введення наведено у табл. 2.

Таблиця 2 — Результати обчислення летальних доз препарату Сандезвет (СДВ) за умов одноразового внутрішньо-шлункового введення щурам-самкам

Стимул (Доза)	Частка, %	N	Пробіт (Y)	Ваговий коефіцієнт (Z)
500	0,0417	6	3,2680	1,5359
1000	0,0417	6	3,2680	1,5359
1500	0,3333	6	4,5697	4,5697
2000	0,6667	6	5,4303	4,5697
2500	0,6667	6	5,4303	4,5697
3000	0,9583	6	6,7320	1,5359
3500	0,9583	6	6,7320	1,5359
Регресійна статистика				
LD ₅₀	1920,41	LD ₅₀ Стандартна похибка		267,85
LD ₁₀	890,49	LD ₁₆	1116,87	
LD ₈₄	2723,96	LD ₉₀	2950,34	
LD ₁₀₀	3125,73			

За результатами досліджень установили, що LD₅₀ дезінфікуючого засобу Сандезвет (СДВ) за умов його одноразового внутрішньошлункового уведення щурам-самкам складає 1 920,41±267,85 мг/кг, LD₁₀ — 890,49 мг/кг, LD₁₆ — 1 116,87 мг/кг, LD₈₄ — 2 723,96 мг/кг, LD₉₀ — 2 950,34 мг/кг, LD₁₀₀ — 3 125,73 мг/кг маси тіла відповідно.

Висновок. За результатами визначення параметрів гострої токсичності препарату Сандезвет (СДВ) у разі одноразового внутрішньошлункового введення LD₅₀ для щурів-самок (за абсолютною масою препарату) складає 1 920,41 ± 267,85 мг/кг, що дозволяє віднести його до IV класу — малотоксичних речовин (LD₅₀ 501,0–5 000,0 мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до III класу — помірно небезпечних речовин (LD₅₀ 151,0–5 000,0 мг/кг маси тіла).

Список літератури

1. Афиногенов Г. Е., Домород А. А., Краснова М. В. Оценка методов изучения эффективности дезинфектантов и антисептиков. *Актуальные проблемы дезинфектологии в профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний*: материалы Всероссийской научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения В. И. Васкова. 2002. С. 104–105.
2. Бутко М. П. и др. Аэрозольная дезинфекция для профилактики инфекционных болезней животных. *Ветеринария*. 2006. № 2. С. 10-12.
3. Ковальчик Л. та ін. Нові засоби для вологої та аерозольної дезінфекції. *Ветеринарна медицина України*. 2001. № 2. С. 21-22.
4. Коваленко В. та ін. Комплексне мікологічне дослідження дезінфікуючого препарату. *Ветеринарна біотехнологія*. 2014. Вип. 25. С. 37-40. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb_2014_25_12.

STUDY OF ACUTE TOXIC EFFECT OF DISINFECTANT SANDEZVET IN RATS

Nalyvaiko L. I., Boiko V. S.

Volodymyr Dahl East Ukrainian National University, Ukraine

Orobchenko O. L.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

Today, the development of disinfectants effective upon direct contact against bacteria, viruses and fungi, which have a significant biocidal effect and are environmentally safe, does not lose its relevance. The fight against infectious diseases is effective and possible only with the use of highly effective and affordable means intended for preventive, current and final disinfection in the absence and presence of animals or poultry. In Volodymyr Dahl East Ukrainian National University (former Luhansk National Agrarian University) developed the preparation Sandezvet (SDV) based on the disinfectant "SefDez instru" registered in Ukraine (agent for disinfection, pre-sterilization cleaning and sterilization) (producer LLC "Dezplanet"). According to the results of determining the parameters of acute toxicity of the drug Sandezvet (SDV) for a single intragastric administration, the LD₅₀ for female rats (according to the absolute weight of the drug) allows it to be classified as IV class — mildly toxic substances, and according to the degree of danger to III class — moderately dangerous substances

Keywords: dose, lethality

ВИЗНАЧЕННЯ ОСНОВНИХ ПОКАЗНИКІВ ЯКОСТІ МЕДУ РІЗНОГО БОТАНІЧНОГО ПОХОДЖЕННЯ ЗА ПЕРІОД 2018–2021 РОКІВ

Євтушенко О. С., Десятникова О. В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: elenasirenko88@gmail.com

Визначено фізико-хімічні показники якості меду у різних регіонах України. За результатами досліджень 55,2 % проб меду відповідали вимогам ДСТУ 4497:2005, як мед вищого ґатунку, 42,5 %. Згідно з міжнародними стандартами вимогам відповідали — 71,3 % («Codex Alimentarius Standard 12-1981 for Honey») та 97,7 % («Honey Directive 2001/110/EC») проб меду. За даними аналізу меду різного ботанічного походження, 95,0 % проб меду відповідали вимогам всіх розглянутих нормативних документів

Ключові слова: *Apis mellifera*, склад меду, міжнародні вимоги

Кліматичні умови та ґрунти України, які зумовлюють наявність багатой за видовим складом природної флори та культурних рослин, сприятливі для розвитку галузі бджільництва [1–3]. Мед різного ботанічного походження дістає назву залежно від виду рослин, з яких зібрано нектар, наприклад: гречаний, соняшниковий, ріпаковий тощо. Такий мед належить до групи монофлорних. Вони можуть містити домішки меду іншого походження. Досить часто товарний мед є сумішшю, що походить з різних рослин, і його називають поліфлорним [4, 5]. За даними Державної фіскальної служби простежується тенденція до зростання щорічного експорту меду [6]. У зв'язку з інтеграцією України у світову економіку та розвитком органічного бджільництва необхідно максимально враховувати постійно зростаючі міжнародні вимоги щодо якості та безпеки продукції бджільництва. Тому питання безпечності та якості меду, виробленого в Україні, потребують додаткової уваги та вивчення з огляду на міжнародні вимоги [7–13].

Метою даної роботи було проведення аналізу проб меду різного ботанічного походження, відібраних на пасіках різних областей України, за основними показниками якості та визначення відповідності їх щодо вимог чинного в Україні ДСТУ 4497:2005 «Мед натуральний. Технічні умови», міжнародних вимог: «Codex Alimentarius Standard 12-1981 for Honey» та «Honey Directive 2001/110/EC».

Матеріали та методи. Проведено дослідження 87 проб меду з різних областей України врожаю 2018–2021 років, з яких 42 проби за даними етикетки відносилися до поліфлорного (з різнотрав'я) меду, 22 проби — із соняшнику, 8 проб — з гречки, 8 проб — з липи, 6 проб — з акації та 1 проба — з ріпаку.

Відбір проб та визначення показників якості проводили за методами, чинними на території України: ДСТУ 4497:2005 [14]. Для підтвердження ботанічного походження меду проводили визначення видового складу пилкових зерен [14]. При аналізі даних порівнювали результати досліджень меду з базовими законодавчими вимогами щодо якості та безпечності бджолиного меду, що чинні в СОТ та ЕС («Codex Alimentarius» [15], «Honey Directive» [16]). Отримані результати обробляли статистично [17].

Результати досліджень. Установлено, що досліджуваний мед за органолептичними показниками відповідав регламентованим вимогам.

Масова частка води соняшникового меду врожаю 2018 року в середньому складала $17,12 \pm 0,41$ %, у гречаному — $17,62 \pm 0,36$ %, з різнотрав'я — $17,55 \pm 0,52$ %, в акацієвому — $17,90 \pm 0,25$ %, з липи — $17,55 \pm 0,43$ %; 2019 року: у соняшниковому $19,02 \pm 0,51$ %, у гречаному — $17,18 \pm 0,98$ %, з різнотрав'я — $18,10 \pm 0,71$ %, в акацієвому — $17,50 \pm 0,70$ %, з липи — $17,60 \pm 0,60$ %, з ріпаку — $22,99 \pm 0,01$ %; 2020 року: у соняшниковому $16,37 \pm 0,47$ %, у гречаному — $15,59 \pm 0,73$ %, з різнотрав'я — $18,58 \pm 0,48$ %, з липи — $17,47 \pm 0,42$ %; 2021 року: у соняшниковому $17,61 \pm 0,28$ %, з різнотрав'я — $17,57 \pm 0,23$ %.

Активність діастази соняшникового меду врожаю 2018 року в середньому складала $15,61 \pm 1,42$ од. Готе, у гречаному — $38,53 \pm 3,84$ од. Готе, в акацієвому — $18,06 \pm 3,06$ од. Готе, з різнотрав'я — $19,52 \pm 1,16$ од. Готе, з липи — $22,92 \pm 3,72$ од. Готе; 2019 року: в соняшниковому —

**Розділ 4. Якість і безпечність продукції тваринництва.
Ветеринарно-санітарна експертиза. Ветеринарна фармакологія та токсикологія**

15,51 ± 0,19 од. Готе, у гречаному — 13,44 ± 0,51 од. Готе, в акацієвому — 14,42 ± 0,28 од. Готе, з різнотрав'я — 15,14 ± 1,68 од. Готе, з липи — 17,33 ± 3,63 од. Готе, з ріпаку — 15,39 ± 0,11 од. Готе; 2020 року: у соняшниковому — 15,23 ± 1,19 од. Готе, у гречаному — 18,86 ± 0,51 од. Готе, з різнотрав'я — 15,33 ± 1,72 од. Готе, з липи — 18,21 ± 0,59 од. Готе; 2021 року: у соняшниковому — 21,68 ± 2,67 од. Готе, з різнотрав'я — 18,65 ± 1,66 од. Готе.

Вільна кислотність в усіх пробах меду була у межах, передбачених нормативними документами (не більше 40–50 мекв/кг) та складала у 2018 році: в меді з різнотрав'я в середньому 24,75 ± 0,36 мекв/кг зі соняшнику — 24,73 ± 0,35 мекв/кг, з гречки — 21,93 ± 0,31 мекв/кг, з акації — 26,90 ± 0,57 мекв/кг, з липи — 24,56 ± 0,56 мекв/кг; 2019 року: з різнотрав'я 24,17 ± 1,49 мекв/кг, зі соняшнику — 29,33 ± 0,67 мекв/кг, з гречки — 24,50 ± 1,50 мекв/кг, з акації — 23,00 ± 3,00 мекв/кг, з липи — 23,50 ± 6,50 мекв/кг, з ріпаку — 21,25 ± 0,25 мекв/кг; 2020 року: з різнотрав'я 26,36 ± 0,80 мекв/кг, з соняшнику — 26,03 ± 0,46 мекв/кг, з гречки — 27,38 ± 0,06 мекв/кг, з липи — 24,42 ± 0,40 мекв/кг; 2021 року: з різнотрав'я 24,67 ± 0,65 мекв/кг, з соняшнику — 24,82 ± 0,48 мекв/кг.

Концентрація водневих іонів (рН) в меді врожаю 2018 року з різнотрав'я складала у середньому 4,23 ± 0,08, зі соняшнику — 3,97 ± 0,12, з гречки — 4,02 ± 0,05, з акації — 4,19 ± 0,11, з липи — 4,22 ± 0,03; 2019 року: з різнотрав'я — 3,33 ± 0,30, зі соняшнику — 3,69 ± 0,07, з гречки — 3,95 ± 0,04, з акації — 3,93 ± 0,01, з липи — 3,99 ± 0,07, з ріпаку — 3,91 ± 0,09; 2020 року: з різнотрав'я — 3,97 ± 0,07, зі соняшнику — 3,71 ± 0,08, з гречки — 4,07 ± 0,08, з липи — 3,99 ± 0,09; 2021 року: з різнотрав'я — 4,04 ± 0,08, зі соняшнику — 4,01 ± 0,06.

Масова частка відновлювальних цукрів соняшникового меду, врожаю 2018 року в середньому складала 90,66 ± 1,64 %, у гречаному — 93,98 ± 1,94 %, в акацієвому — 88,88 ± 1,26 %, з різнотрав'я — 92,04 ± 1,38 %, з липи — 94,14 ± 0,36 %; 2019 року: у соняшниковому — 97,75 ± 0,45 %, у гречаному — 90,21 ± 2,51 %, в акацієвому — 90,27 ± 0,13 % з різнотрав'я — 93,21 ± 1,16 %, з липи — 94,84 ± 1,54 %, з ріпаку — 94,90 ± 0,10 %; 2020 року: у соняшниковому — 90,94 ± 1,66 %, у гречаному — 91,66 ± 1,57 %, з різнотрав'я — 91,40 ± 0,98 %, з липи — 93,45 ± 1,14 %; 2021 року: 90,04 ± 4,28 %, з різнотрав'я — 91,66 ± 0,93 %.

Масова частка сахарози соняшникового меду, врожаю 2018 року в середньому складала 2,97 ± 0,13 %, у гречаному — 3,00 ± 0,02 %, в акацієвому — 2,53 ± 0,18 %, з різнотрав'я — 3,42 ± 0,25 %, з липи — 3,39 ± 0,13 %; 2019 року: у соняшниковому — 2,5 ± 0,58 %, у гречаному — 3,00 ± 0,50 %, в акацієвому — 2,75 ± 0,25 %, з різнотрав'я — 2,58 ± 0,15 %, з липи — 2,01 ± 0,00 %, з ріпаку — 2,05 ± 0,05 %; 2020 року: у соняшниковому — 3,21 ± 0,06 %, у гречаному — 2,95 ± 0,11 %, з різнотрав'я — 3,57 ± 0,32 %, з липи — 3,62 ± 0,10 %; 2021 року: 3,33 ± 0,15 %, з різнотрав'я — 3,26 ± 0,14 % (табл. 1).

Таблиця 1 — Показники якості меду залежно від основного медоносу, n=87

Ботанічне походження	Кількість проб, рік збору	Фізико-хімічні показники меду:					
		Масова частка води, %	Активність діастази, од. Готе	рН	Кислотність, мекв./кг	Масова частка відн. цукрів, %	Масова частка сахарози, %
1	2	3	4	5	6	7	8
Різно- трав'я	n=4, 2018	17,55 ± 0,52	19,52 ± 1,16	4,23 ± 0,08	24,75 ± 0,36	92,04 ± 1,38	3,42 ± 0,25
	n=6, 2019	18,10 ± 0,71	15,14 ± 1,68	3,33 ± 0,30	24,17 ± 1,49	93,21 ± 1,16	2,58 ± 0,15
	n=10, 2020	18,58 ± 0,48	15,33 ± 1,72	3,97 ± 0,07	26,36 ± 0,80	91,40 ± 0,98	3,57 ± 0,32
	n=22, 2021	17,57 ± 0,23	18,65 ± 1,66	4,04 ± 0,08	24,67 ± 0,65	91,66 ± 0,93	3,26 ± 0,14
Соняшник	n=5, 2018	17,12 ± 0,41	15,61 ± 1,42	3,97 ± 0,12	24,73 ± 0,35	90,66 ± 1,64	2,97 ± 0,13
	n=3, 2019	19,02 ± 0,51	15,51 ± 0,19	3,69 ± 0,07	29,33 ± 0,67	97,75 ± 0,45	2,50 ± 0,58
	n=5, 2020	16,37 ± 0,47	15,23 ± 1,19	3,71 ± 0,08	26,03 ± 0,46	90,94 ± 1,66	3,21 ± 0,06
	n=9, 2021	17,61 ± 0,28	21,68 ± 2,67	4,01 ± 0,06	24,82 ± 0,48	90,04 ± 4,28	3,33 ± 0,15

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
Гречка	n=3, 2018	17,62 ± 0,36	38,53 ± 3,84	4,02 ± 0,05	21,93 ± 0,31	93,98 ± 1,94	3,00 ± 0,02
	n=2, 2019	17,18 ± 0,98	13,44 ± 0,51	3,95 ± 0,04	24,50 ± 1,50	90,21 ± 2,51	3,00 ± 0,50
	n=3, 2020	15,59 ± 0,73	18,86 ± 0,51	4,07 ± 0,08	27,38 ± 0,06	91,66 ± 1,57	2,95 ± 0,11
	n=0, 2021	–	–	–	–	–	–
Акація	n=4, 2018	17,90 ± 0,25	18,06 ± 3,06	4,19 ± 0,11	26,90 ± 0,57	88,88 ± 1,26	2,53 ± 0,18
	n=2, 2019	17,50 ± 0,70	14,42 ± 0,28	3,93 ± 0,01	23,00±3,00	90,27 ± 0,13	2,75 ± 0,25
	n=0, 2020	–	–	–	–	–	–
	n=0, 2021	–	–	–	–	–	–
Липа	n=2, 2018	17,55 ± 0,43	22,92 ± 3,72	4,22 ± 0,03	24,56 ± 0,56	94,14 ± 0,36	3,39 ± 0,13
	n=2, 2019	17,60 ± 0,60	17,33 ± 3,63	3,99 ± 0,07	23,50±6,50	94,84 ± 1,54	2,01 ± 0,00
	n=4, 2020	17,47 ± 0,42	18,21 ± 0,59	3,99 ± 0,09	24,42±0,40	93,45 ± 1,14	3,62 ± 0,10
	n=0, 2021	–	–	–	–	–	–
Ріпак	n=0, 2018	–	–	–	–	–	–
	n=1, 2019	22,99 ± 0,01	15,39 ± 0,11	3,91 ± 0,09	21,25±0,25	94,90 ± 0,10	2,05 ± 0,05
	n=0, 2020	–	–	–	–	–	–
	n=0, 2021	–	–	–	–	–	–

При заготівлі меду для харчування бджіл в період зимівлі важливо бути впевненим, що в ньому не міститься підвищена кількість паді (понад 5 %). Наявності паді не було виявлено в жодній з проб меду.

Аналіз показників якості меду щодо відповідності нормам показав, що за масовою часткою води тільки 6,25 % проб 2019 року, за діастазним числом — 4,5 % 2020 року не відповідали чинним в Україні та міжнародним вимогам. Згідно з міжнародними стандартами («Codex Alimentarius Standard 12-1981 for Honey»), 38,88 % проб 2019 року, 12,5 % проб 2019 року та 18,38 % проб 2021 року не відповідали вимогам за показником концентрації водневих іонів не передбачених в ДСТУ 4497:2005. (табл. 2).

Таблиця 2 — Відповідність проб меду нормативним документам за визначеними показниками якості

Показники якості меду	Рік збору	Кількість проб, що відповідають вимогам, %			
		ДСТУ 4497:2005		«Codex Alimentarius»	«Honey Directive»
		Вищий ґатунок	Перший ґатунок		
1	2	3	4	5	6
Масова частка води, %	Норма	≤ 18,5	≤ 21,0	≤ 20,0	≤ 20,0
	2018	94,4	5,6	94,4	94,4
	2019	62,5	31,25	93,75	93,75
	2020	81,1	18,2	100,0	100,0
	2021	96,8	3,2	100,0	100,0
Активність діастази, од. Готе	Норма	≥ 15	≥ 10	≥ 8	≥ 8
	2018	88,89	11,11	100,0	100,0
	2019	56,25	43,75	100,0	100,0
	2020	95,5	–	95,5	95,5
	2021	87,1	12,9	100,0	100,0
рН	Норма	–	–	3,5–4,1	–
	2018	–	–	61,12	–
	2019	–	–	87,5	–
	2020	–	–	100,0	–
	2021	–	–	51,62	–

Продовження табл. 2

1	2	3	4	5	6
Кислотність, мекв./кг	Норма	≤ 40,0	≤ 50,0	≤ 50,0	≤ 40,0
	2018	100,0	–	100,0	100,0
	2019	100,0	–	100,0	100,0
	2020	100,0	–	100,0	100,0
	2021	100,0	0	100,0	100,0
Масова частка відн. цукрів, %	Норма	≥ 80	≥ 70	≥ 60	≥ 65
	2018	100,0	–	100,0	100,0
	2019	100,0	–	100,0	100,0
	2020	100,0	–	100,0	100,0
	2021	96,8	3,2	100,0	100,0
Масова частка сахарози, %	Норма	≤ 3,5	≤ 6	≤ 5	≤ 5
	2018	94,4	5,6	100,0	100,0
	2019	100,0	–	100,0	100,0
	2020	72,7	27,3	100,0	100,0
	2021	71,0	29,0	100,0	100,0

Визначено, що за масовою часткою води 94 % проб 2018 року, 62 % проб 2019 року, 81 % проб 2020 року та 96,8 % проб 2021 року належали до меду вищого ґатунку та відповідали міжнародним вимогам «Codex Alimentarius Standard 12-1981 for Honey» та «Honey Directive 2001/110/EC».

За діастазним числом 89 % проб 2018 року, 56 % проб 2019 року, 95 % проб 2020 року та 87,1 % проб 2021 року належали до меду вищого ґатунку, й відповідали міжнародним вимогам.

При визначенні масової частки відновлювальних цукрів усі зразки меду відповідали ДСТУ 4497:2005 і міжнародним вимогам «Codex Alimentarius Standard 12–1981 for Honey» та «Honey Directive 2001/110/EC», лише 3,2 % проб меду 2021 року належали до меду першого ґатунку.

При визначенні масової частки сахарози у 94 % пробах 2018 року, 100,0 % проб 2019 року, 72 % проб 2020 року та 71 % проб 2021 року належали до меду вищого ґатунку та відповідали міжнародним вимогам.

За даними аналізу меду різного ботанічного походження встановлено, що за визначеними показниками якості ДСТУ 4497:2005 та міжнародним вимогам, відповідали 95,0 % дослідних проб меду, 48,3 % поліфлорного меду (різнотрав'я) та 46,7 — монофлорного меду. У цих документах не передбачено розділення показників якості залежно від виду меду, тому майже всі проби були в межах норми. При дослідженні зразків меду з акації видовий склад акацієвих пилкових зерен був понад 45 %, також крім зерен акації нами були виявлені зерна пилку малини, іван-чаю. У всіх зразках меду з липи виявлено самих зерен з липи понад 75 %, крім цього були присутні пилкові зерна з яблуні, білої конюшини. Пилковий аналіз зразків меду з гречки дав можливість впевнитися в ботанічному походженні досліджуваних зразків, оскільки 55 % пилкових зерен належали до медоноса гречки, а також були виявлені пилкові зерна з чебрецю та ожини. При дослідженні видового складу пилкових зерен меду з різнотрав'я були виявлені пилкові зерна з липи — 15 %, волошки — 3 %, червоної конюшини — 20 %, ожини — 22 %, гречки — 5 %, малини — 30 %, клен-явору — 5 %.

Аналіз результатів вказує на те, що внаслідок відмінності максимально допустимих рівнів показників якості, одна й та ж проба меду може бути визнана якісною згідно з одними нормативними документами, але не відповідати вимогам інших.

Отже, створення єдиної системи моніторингу та методів контролювання якості та безпечності меду потребує гармонізації вітчизняних, європейських та міжнародних стандартів.

Висновки. 1. За всіма визначеними показниками якості за дослідний період 55,2 % проб меду відповідали вимогам ДСТУ 4497:2005 як мед вищого ґатунку, 42,5 % проб — мед першого ґатунку, 2,3 % проб — не відповідали вимогам ДСТУ 4497:2005. Згідно з міжнародними

стандартами вимогам відповідали — 71,3 % («Codex Alimentarius Standard 12-1981 for Honey») та 97,7 % («Honey Directive 2001/110/EC») проб меду.

2. За масовою часткою води тільки 6,25 % проб 2019 року, за діастазним числом — 4,5 % 2020 року, не відповідали чинним в Україні та міжнародним вимогам. Згідно з міжнародними стандартами («Codex Alimentarius Standard 12-1981 for Honey»), 38,88 % проб 2019 року, 12,5 % проб 2019 року та 18,38 % проб 2021 року не відповідали вимогам за показником концентрації водневих іонів не передбачених в ДСТУ 4497:2005.

3. За даними аналізу меду різного ботанічного походження встановлено, що за визначеними показниками якості ДСТУ 4497:2005 та міжнародним вимогам, відповідали вимогам всіх розглянутих нормативних документів. 95,0 % проб меду.

Список літератури

1. Державна служба статистики України. Посівні площі сільськогосподарських культур під урожай 2017 року : статистичний бюлетень. 2017. 49 с.
2. Державна служба статистики України. Рослинництво України : статистичний збірник. 2016. 166 с.
3. Боднарчук Л. І. Атлас медоносних рослин України. Київ, 2009. 272 с.
4. Фурман С. В. та ін. Вплив тривалості зберігання меду на його якість. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2019. Вип. 12. С. 221–223.
5. Тихонов А. І. та ін. Мед натуральний у медицині та фармації (походження, властивості, застосування, лікарські препарати) : монографія. Харків : Оригінал, 2010. 263 с.
6. Державна служба України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів. Державний реєстр потужностей операторів ринку. URL: <https://data.gov.ua/dataset/99adb3a4-c645-4e64-a7a9-498b73872780>.
7. Bogdanov S. Contaminants of bee products. *Apidologie*. 2006. Vol. 37, No 1. P. 1–18. URL: <https://hal.science/hal-00892166/document>.
8. Богатко Н. М. та ін. Методичні рекомендації щодо проведення ветеринарно-санітарної експертизи меду та інших продуктів бджільництва. 2012. 72 с.
9. Фурман С. В. та ін. Хімічний склад та фізичні властивості меду залежно від технології очищення. *Актуальні проблеми тваринництва і ветеринарної медицини* : матеріали четвертої науково-практичної конференції. Житомир. 2018. С. 77–78.
10. Скрипка Г. А. Ветеринарно-санітарна оцінка меду бджолиного натурального щодо вмісту залишків хлорорганічних пестицидів : автореферат дис. ... кандидата ветеринарних наук. Київ, 2017. 24 с.
11. Касянчук В. В., Бергілевич О. М., Скрипка Г. А. Метод визначення пестицидів у пилку рослин-нектароносів. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Сер. Ветеринарна медицина*. 2014. Вип. 6(35). С. 84–89.
12. Арнаутова О. В., Томчук В. А., Бертанович О. В. Особливості нормативного забезпечення якості та безпечності бджолиного меду в Україні і ЄС на етапах його виробництва та реалізації. *Науковий вісник ЛНАУ : ветеринарні науки*. 2013. № 53. С. 5–7.
13. Якубчук О. М., Коновалова А. В. Аналіз законодавчої бази, що регулює безпечність і якість меду. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Сер. Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва*. 2014. Вип. 201(1). С. 162–169.
14. ДСТУ 4497:2005. Мед натуральний. Технічні умови. [Чинний від 2005-12-28]. Київ, 2007. 22 с. (Нац. стандарт України).
15. Codex Alimentarius Commission. Revised Codex Standard for honey, Codex STAN 12-1981, Rev. 1 (1987), Rev. 2 (2001). Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relation to honey. *Official Journal of the European Communities*. 2002. L. 10. P. 47–52.
16. Council Directive of 32th December 2001 relating to honey (2001/110/EC). *Official Journal of the European Communities*. Anon. 2002. L. 10. P. 47–52.
17. Мазур Т. *Константні методи математичної обробки кількісних показників Ветеринарна медицина України*. 1997. № 9. С. 35–37.

DETERMINATION OF THE MAIN QUALITY INDICATORS OF HONEY OF DIFFERENT BOTANICAL ORIGIN FOR THE PERIOD OF 2018–2021

Yevtushenko O. S., Desyatnikova O. V.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

Physicochemical indicators of honey quality in different regions of Ukraine were determined. According to the research results, 55.2% of honey samples met the requirements of DSTU 4497:2005, as high grade honey, 42.5%. According to international standards, 71.3% (Codex Alimentarius Standard 12-1981 for Honey) and 97.7% (Honey Directive 2001/110/EC) of honey samples met the requirements. According to the analysis of honey of various botanical origins, 95.0% of honey samples met the requirements of all considered regulatory documents

Keywords: *Apis mellifera, honey composition, international requirements*

5. БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК 619:616.98-078:578.825:577.2.08:636.4

DOI 10.36016/VM-2022-108-12

РОЗРОБЛЕННЯ ПОЗИТИВНОГО РЕКОМБІНАНТНОГО КОНТРОЛЮ ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ВІРУСУ ХВОРОБИ АУЄСКИ ЗА ДОПОМОГОЮ ПЛР

Рудова Н. Г., Лиманська О. Ю., Бузун А. І. Солодянкін О. С.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: rudovanatawa@ukr.net

Метою роботи було конструювання позитивного рекомбінантного контрольного зразка для детекції вірусу хвороби Ауескі шляхом ПЛР. Конструювання рекомбінантного позитивного контролю проводили спочатку віртуально у режимі онлайн за допомогою програми SnapGene Software, а потім *in vitro* з використанням плазмідного вектору рTZ57R/T, що входить до складу комерційного набору для ТА-клонування «InstAclone PCR Cloning Kit» (Fermentas, Латвія). Як вставку було використано фрагмент гена, що кодує глікопротеїн E вірусу хвороби Ауескі довжиною 235 п.н., отриманий методом класичної ПЛР з використанням системи праймерів AuDV_gE1_F/R. Отриманий амплікон був очищений та лігійований до плазмідного вектору рTZ57R/T, а сконструйовану плазмідну молекулу було інтегровано до культури компетентних клітин *E. coli* штаму DH5α. Після проведення трансформації було обрано 10 білих поодиноких колоній *E. coli* за маркером селективних ознак, 5 з яких було культивовано у рідкому поживному середовищі з метою отримання бактеріальної біомаси *E. coli*. Напрацьовану бактеріальну масу використовували для екстракції плазмід. Проведенням електрофоретичного аналізу у 1,5%-му агарозному гелі та визначення концентрації ДНК було підтверджено позитивний результат нашої роботи. Розроблений нами ампіцилін-резистентний клон *E. coli* DH5α, трансформований сконструйованою плазмідною рTZ57R/T_AuDV зі вставкою фрагмента що кодує глікопротеїн E вірусу хвороби Ауескі, довжиною 235 п. н. Він може бути використаний як позитивний контрольний зразок для детекції генетичного матеріалу вірусу хвороби Ауескі шляхом ПЛР

Ключові слова: рTZ57R/T, AuDV_gE1_F/R, плазміда

Вступ. Вірус хвороби Ауескі (ВХА) належить до родини Herpesviridae, підродина Alphaherpesvirinae, роду *Alphaherpesvirus* [1]. Представники сімейства Suidae (справжні свині) є єдиними природними хазяями ВХА, хоча вірус може уражати багатьох інших ссавців, включаючи жуйних, м'ясоїдних і гризунів. Дикі кабани можуть виступати як резервуари і становити потенційну загрозу для домашніх тварин, у тому числі собак [2, 3].

У складі ВХА ідентифіковано 17 глікопротеїнів, два з яких — глікопротеїн gE і глікопротеїн gI — відповідають за реплікацію вірусу та його вірулентність. За відсутності у структурі ВХА гена, що кодує глікопротеїн gE, спостерігається різке зниження нейровірулентності цього вірусу для свиней, однак його здатність до розповсюдження нервовими клітинами зберігається [4].

Хворобу Ауескі реєструють у багатьох країнах світу, зокрема у всіх європейських країнах, а також країнах Південної і Північної Америки, Африки та Азії [3, 5].

Незважаючи на величезний прогрес, досягнутий у світі щодо боротьби та ліквідації ВХА у домашніх свиней, існує все більше доказів того, що цей інфекційний агент є більш поширеним серед поголів'я домашніх та диких свиней у всьому світі, ніж вважалося спочатку [5, 6].

Для детекції вірусу хвороби Ауескі застосовують вірусологічні, серологічні та молекулярно-генетичні методи, у тому числі ПЛР та ПЛР у реальному часі [7]. При цьому застосування позитивного контролю є запорукою високої якості досліджень та достовірності результатів, що будуть отримані. Використання як контролю вірусвміщуючого матеріалу ускладнюється необхідністю його періодичного отримання та обмеженим терміном зберігання. Крім того, це потребує особливих умов при роботі з таким матеріалом, що пов'язано з потенційними ризиками для біобезпеки при проведенні дослідження [8–11]. Використання рекомбінантних зразків як позитивного контролю має переваги внаслідок тривалого терміну зберігання такої

конструкції, високої копійності, можливості відновлення шляхом клонування [12]. Застосування плазмиди, що містить фрагмент певної геномної ДНК, набуло широкого застосування при виявленні збудників інфекційних захворювань тварин [13 14] та людини [15].

Тому метою даної роботи було конструювання позитивного рекомбінантного контролю для детекції вірусу хвороби Ауескі методом ПЛР.

Матеріали і методи. Віртуальне конструювання рекомбінантного позитивного контролю проводили у режимі онлайн за допомогою програми SnapGene Software (Insightful Science, snapgene.com).

Для створення плазмідного контролю *in vitro* використовували плазмідний вектор pTZ57R/T, що входить до складу комерційного набору для ТА-клонування «InstAclone PCR Cloning Kit» виробництва «Fermentas» (Латвія). Як вставку було використано фрагмент гена, що кодує глікопротеїн Е вірусу хвороби Ауескі довжиною 235 п.н., отриманий за допомогою стандартної ПЛР з використанням комерційного набору «Maxima Hot Start Green PCR Master Mix» виробництва «Thermo Scientific» (Литва) та системи праймерів AuDV_gE1_F (5'-TCGGCCCTCGCCTCCCTGA-3'); AuDV_gE1_R (5'-TGCCCATCTCCGGGGCCTC-3') [7].

Інтеграцію плазмиди до культури компетентних клітин *E. coli* штаму DH5a було здійснено методом хімічної порації (параметри, ссылка), з наступним висівом на LB-середовище («Sigma-Aldrich», США) з додаванням 100 мкг/мл ампіциліну в кінцевій концентрації.

Для екстракції плазмиди використовували комерційний набір «Plasmid Miniprep Kit» виробництва «GeneJET» (Литва).

Визначення концентрації ДНК та оцінювання якості ДНК проводили на спектрофотометрі «NanoDrop» («DeNovix», США) при довжині хвилі 260 та 280 нм.

Електрофоретичний аналіз продуктів ампліфікації проводили шляхом горизонтального електрофорезу (камера для горизонтального електрофорезу фірми «BioRad» (США) у 1,5 %-му агарозному гелі за напруженості електричного поля 10 В/см.

Для проведення електрофоретичного аналізу використовували агарозу («Biozym», Німеччина), бромід етидію («Sigma-Aldrich», США), маркери молекулярної маси з дискретністю 100 п. н. («Invitrogen», США; «Promega», США та «Fermentas Gene ruler», Латвія)

Результати досліджень. З метою отримання позитивного рекомбінантного контрольного зразка для детекції генетичного матеріалу вірусу хвороби Ауескі шляхом ПЛР нами було сконструйовано віртуальну модель векторної молекули на основі плазмиди pTZ57R/T з вбудованим до її складу фрагментом гена, що кодує глікопротеїн Е вірусу хвороби Ауескі довжиною 235 п. н. Загальна довжина теоретично змодельованої плазмідної молекули становила 3 122 п. н. (рис. 1).

Для створення плазмідного контролю *in vitro* на першому етапі роботи було напрацьовано фрагмент гена, що кодує глікопротеїн Е вірусу хвороби Ауескі, довжиною 235 п. н. Для цього ми використали зразок ДНК, отриманий з гомогенату селезінки від свині, який раніше був нами охарактеризований як позитивний щодо наявності генетичного матеріалу ВХА. Проведенням електрофоретичного аналізу шляхом горизонтального гель-електрофорезу було підтверджено наявність амплікону необхідної довжини — 235 п. н.

Отриманий амплікон був очищений та лігійований до плазмідного вектору pTZ57R/T, який використано для трансформації компетентних клітин *E. coli* DH5a.

Оскільки у складі зазначеного вектору містився ген стійкості до ампіциліну, то при подальшому клонуванні у культурі *E. coli* штаму DH5a він виступав маркером селективних ознак. Тому після проведення трансформації було обрано 10 білих поодиноких колоній *E. coli* з ознаками набутої резистентності до ампіциліну.

Скринінг обраних колоній за допомогою ПЛР показав наявність специфічної вставки довжиною 235 п. н. у кожній з них.

Для культивування у рідкому поживному середовищі було обрано п'ять колоній *E. coli*. Після цього отриману бактеріальну біомасу використовували для екстракції плазмиди. Наявність фрагментів довжиною приблизно 3 тис. п. н. при проведенні електрофоретичного аналізу у 1,5 %-му агарозному гелі отриманих зразків свідчило про позитивний результат роботи.

Концентрація ДНК у першому зразку склала 112,15 нг/мкл, у другому — 152,46 нг/мкл, у третьому — 99,98 нг/мкл, четвертому та п'ятому — 187,22 нг/мкл та 171, 67 нг/мкл відповідно.

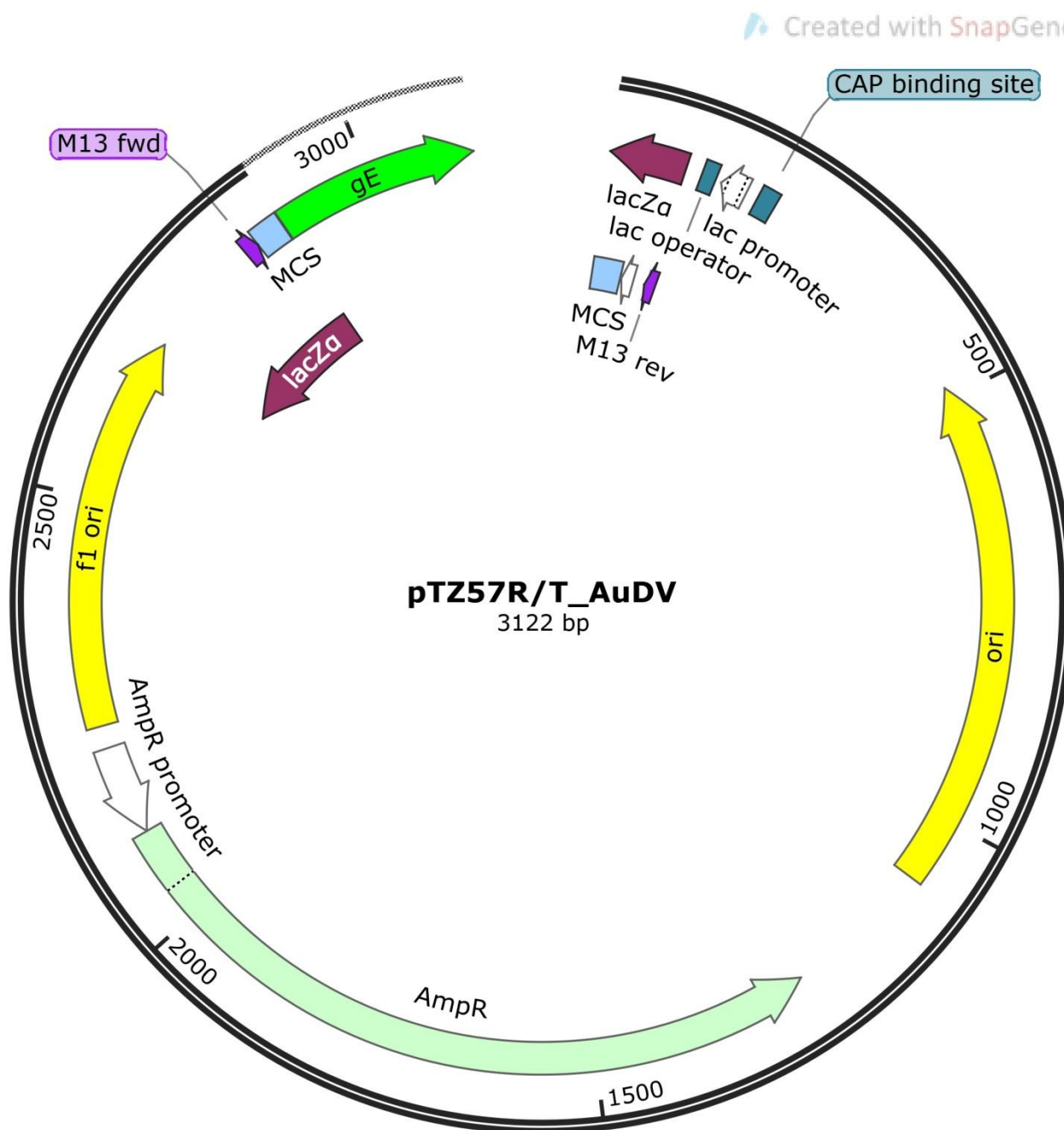


Рис. 1. Схема плазмідного вектору pTZ57R/T_AuDV.

Зразок, що мав найбільшу концентрацію плазміди, тобто 187,22 нг/мкл, був обраний для подальших досліджень в якості позитивного рекомбінантного контролю.

Висновки. Таким чином, було отримано ампіцилін-резистентний клон *E. coli* DH5α, який трансформовано сконструйованою плазмідною pTZ57R/T_AuDV зі вставкою гена, що кодує глікопротеїн E вірусу хвороби Ауескі, довжиною 235 п. н. Він може бути використаний як позитивний контрольний зразок для детекції генетичного матеріалу вірусу хвороби Ауескі за допомогою ПЛР.

Перспективи використання отриманих результатів. Розроблений позитивний рекомбінантний зразок може бути використано у лабораторній діагностиці хвороби Ауескі при проведенні молекулярно-генетичних досліджень біологічного матеріалу за допомогою ПЛР.

Список літератури

1. Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / editors A. M. Q. King et al.; International Committee on Taxonomy of Viruses. Oxford : Elsevier, 2011. 1326 p.
2. Moreno A. et al. Detection and molecular analysis of Pseudorabies virus strains isolated from dogs and a wild boar in Italy. *Veterinary microbiology*. 2015. Vol. 177, No 3-4. P. 359–365. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.04.001>.
3. Diseases of swine / ed. J. J. Zimmerman. Chichester, West Sussex : Wiley-Blackwell, 2012. 983 p.
4. Pomeranz L. E., Reynolds A. E., Hengartner C. J. Molecular biology of pseudorabies virus: impact on neurovirology and veterinary medicine. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*. 2005. Vol. 69, No 3. P. 462–500. DOI: <https://doi.org/10.1128/MMBR.69.3.462-500.2005>.
5. Müller T. et al. Pseudorabies virus in wild swine: a global perspective. *Archives of virology*. 2011. Vol. 156, No 10. P. 1691–1705. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-011-1080-2>.
6. Verpoest S., Cay A. B., De Regge N. Molecular characterization of Belgian pseudorabies virus isolates from domestic swine and wild boar. *Veterinary microbiology*. 2014. Vol. 172, No 1-2. P. 72–77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.05.001>.
7. Герілович А. П. та ін. Молекулярно-генетичні методи діагностики у ветеринарній медицині та біотехнології : навчальний посібник / під заг. ред. д-ра вет. наук, проф., акад. НААН України та РАН Б. Т. Стегнія та д-ра вет. наук, ст. наук співробітника А. П. Геріловича ; Нац. акад. аграр. наук України, Нац. наук. центр "Ін-т експерим. і клініч. вет. медицини". Київ : СТ-Друк, 2014. 285 с.
8. Chan M., Jiang B., Tan T. Y. Using Pooled Recombinant Plasmids as Control Materials for Diagnostic Real-Time PCR. *Clinical laboratory*. 2016. Vol. 62, No 10. P. 1893–1901. DOI: <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2016.160114>.
9. Caasi D. R. et al. A multi-target, non-infectious and clonable artificial positive control for routine PCR-based assays. *Journal of microbiological methods*. 2013. Vol. 95, No 2. P. 229–234. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.08.017>.
10. Chen J. M. et al. A stable and differentiable RNA positive control for reverse transcription-polymerase chain reaction. *Biotechnology letters*. 2006. Vol. 28, No 22. P. 1787–1792. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10529-006-9161-0>.
11. Lion T. Current recommendations for positive controls in RT-PCR assays. *Leukemia*. 2001. Vol. 15, No 7. P. 1033–1037. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402133>.
12. Matange K., Tuck J. M., Keung A. J. DNA stability: a central design consideration for DNA data storage systems. *Nature communications*. 2021. Vol. 12, No 1. P. 1358. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21587-5>.
13. Das A. et al. Development and validation of a highly sensitive real-time PCR assay for rapid detection of parapoxviruses. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.* 2017. Vol. 29, No 4. P. 499–507. DOI: <https://doi.org/10.1177/1040638716680676>.
14. Yao M. et al. Development and application of multiplex PCR method for simultaneous detection of seven viruses in ducks. *BMC veterinary research*. 2019. Vol. 15, No 1. P. 103. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1820-1>.
15. Camacho D. et al. Clonación de secuencias de alfavirus y flavivirus para su uso como controles positivos en el diagnóstico molecular [Cloning alphavirus and flavivirus sequences for use as positive controls in molecular diagnostics]. *Revista peruana de medicina experimental y salud publica*. 2016. Vol. 33, No 2. P. 269–273. DOI: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2016.332.2101>.

**DEVELOPMENT OF A POSITIVE RECOMBINANT CONTROL FOR
THE DETECTION OF THE AUJESZKY'S DISEASE VIRUS USING PCR**

Rudova N. H., Lymanska O. Yu., Buzun A. I. Solodianskin O. S.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

The work aimed to construct a positive recombinant control sample for the detection of Aujeszky's disease virus by PCR. The construction of the recombinant positive control was first performed virtually online using the SnapGene software program, and then in vitro using the plasmid vector pTZ57R/T, which is included in the commercial kit for TA cloning "InstAclone PCR Cloning Kit" (Fermentas, Latvia). As an insert, a 235-bp long fragment of the gene encoding the glycoprotein E of the Aujeszky's disease virus, obtained by the classical PCR method using the AuDV_gE1_F/R primer system, was used. The resulting amplicon was purified and ligated to the plasmid vector pTZ57R/T, and the constructed plasmid molecule was integrated into the culture of competent cells of *E. coli* strain DH5a. After the transformation, 10 white single colonies of *E. coli* were selected according to the marker of selective traits, 5 of which were cultivated in a liquid nutrient medium in order to obtain bacterial biomass of *E. coli*. The developed bacterial mass was used for plasmid extraction. The positive result of our work was confirmed by electrophoretic analysis in 1.5% agarose gel and determination of DNA concentration. The ampicillin-resistant clone of *E. coli* DN5a developed by us, transformed with the constructed plasmid pTZ57R/T_AuDV with the insertion of a fragment encoding the glycoprotein E of Aujeszky's disease virus, 235 bp in length. It can be used as a positive control sample for the detection of the genetic material of Aujeszky's disease virus by PCR

Keywords: pTZ57R/T, AuDV_gE1_F/R, plasmid

ВИПРОБУВАННЯ ДІАГНОСТИЧНОГО НАБОРУ «CHLAMYDIA-DNA-TEST» ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ ХЛАМІДІЙ НА ОСНОВІ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ В РЕЖИМІ РЕАЛЬНОГО ЧАСУ

Павлов С. Л.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: psl600@i.ua

Запропоновано діагностичний набір «Chlamydia-DNA-test» для виявлення генетичного матеріалу хламідій в зразках клінічного матеріалу тварин на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у режимі реального часу. Мета роботи полягала у встановленні валідаційних характеристик створеного набору за показниками діагностична чутливість, специфічність і відтворюваність. За результатами оцінювання тест-системи підтверджено високу чутливість, специфічність та відтворюваність. Межа детекції розробленої методики складала 12,5 копій ДНК на одну реакцію. Випробування експериментальної серії тест-системи у трьох повторах показало відтвореність запропонованого протоколу ампліфікації. Відсутність утворення продукту ампліфікації в негативних зразках доводить специфічність зазначеного діагностикому. Тест-система «Chlamydia-DNA-test» за показниками специфічності, чутливості, відтворюваності відповідає рекомендаціям, які викладені в мануалі МЕБ, та після проведення державної реєстрації може бути запропонована до широкого впровадження у практику ветеринарної медицини, що значно підвищить ефективність лабораторної діагностики хламідіозів в Україні

Ключові слова: діагностика, ДНК, специфічність

Бактерії, що належать до родини Chlamydiaceae, є внутрішньоклітинними патогенами та спричиняють широкий спектр клінічних ознак у великій кількості видів тварин, а також людини. Захворювання реєструється в багатьох країнах світу та завдає значних економічних збитків тваринництву [1]. Серед важливих видів збудників хламідіозів сільськогосподарських тварин є наступні: для жуйних — *C. abortus*, *C. pecorum*; для птиці — *C. psittaci*; для свиней — *C. suis*; для кішок — *C. felis*; для мурчаків — *C. caviae*. Хламідіоз може клінічно проявлятися декількома формами: генітальна у самиць — аборти, ендометрити, мастити, мертвонародження, а у самців — орхіти, епідидиміти, уретрити, баланопостити; респіраторна — риніт, кон'юнктивіт, бронхіт, пневмонію або змішана [2, 3]. За асоційованого перебігу хламідіоз є ускладнюючим фактором, який пригнічує імунну систему інфікованих тварин. З огляду на стаціонарність і природну осередкованість хламідіозу необхідно проводити аналіз з метою своєчасного встановлення шляхів заносу інфекції та швидко встановлювати патогенний потенціал відповідних збудників [4].

Труднощі, пов'язані з виділенням збудника, значно ускладнюють діагностику хламідіозу, тому на цей час існує низка тестів, здатних виявляти хламідії, або їхній генетичний матеріал в клінічному матеріалі. До таких тестів відносять полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР), за допомогою якої можна виявити декілька молекул ДНК у досліджуваному зразку [5, 6]. Чутливість і специфічність такої реакції наближається до 100 %, а за швидкістю отримання результату її відносять до експрес-тестів. З часу відкриття ПЛР було запропоновано велику кількість варіантів ампліфікації шуканої ділянки таргентного гена. Так, ПЛР у режимі реального часу значно пришвидшує отримання результатів і дозволяє визначити кількість копій геному того чи іншого збудника. Наші попередні дослідження були спрямовані на пошук специфічних олігонуклеотидних послідовностей та зонду для проведення ПЛР у реальному часі для виявлення ДНК хламідій, розробленню протоколу ампліфікації з наступними визначеннями чутливості та специфічності запропонованої методики [7, 8]. Метою даної роботи було формування діагностичного набору «Chlamydia-DNA-test» для детекції генетичного матеріалу хламідій на основі ПЛР у режимі реального часу та визначення його валідаційних параметрів.

Матеріали та методи. Створення експериментальної серії тест-системи «Chlamydia-DNA-test» здійснювали з використанням реактивів виробництва фірми Applied Biosystems (AmpliQa Gold). Постановка реакції відбувалася на обладнанні Fast 7500 Real-time PCR system (Thermo Scientific) за модифікованим протоколом, що був розроблений раніше [7]. Режим ампліфікації подано у табл. 1.

Таблиця 1 — Режим проведення реакції ампліфікації для детекції генетичного матеріалу *Chlamydia* spp.

Назва етапу	Режим	Кількість циклів
Початкова денатурація	95 °С – 5 хв	1
Денатурація	95 °С – 15 с	45
Відпал	60 °С – 20 с	
Елонгація	72 °С – 40 с	

З метою визначення валідаційних характеристик (специфічність, аналітичну чутливість, відтворюваність) розробленої методики проведення ПЛР досліджували панелі зразків ДНК з наступним аналізом отриманих результатів. Якість проведених досліджень визначали за коефіцієнтом варіації (CV) в межах одного і декількох послідовних експериментів. При цьому він мав бути не більше 5 %.

Аналітичну чутливість визначали за допомогою проведення 20 повторних ПЛР з використанням позитивного плазмідного контролю з послідовними розведеннями з визначенням такої концентрації, за якої всі позитивні зразки показували чіткий флуоресцентний сигнал.

Внутрішньолабораторну відтворюваність оцінювали на основі результатів реальних проб, отриманих в умовах відтворюваності, тобто в умовах, які характеризують тривалу варіацію всіх факторів, що можуть вплинути на результат вимірювання в лабораторії на кожному з етапів.

Для визначення специфічності розробленого методу, проводили ПЛР з використанням панелей зразків ДНК, виділених із різних видів хламідій (гомологічні зразки), а також інших видів бактерій, або клінічного матеріалу (гетерологічні зразки) (табл. 2).

Таблиця 2 — Перелік зразків ДНК, що були використані для визначення специфічності методу

№ з/п	Матеріал, з якого виділено зразок ДНК
гомологічна панель	
1	<i>Chlamydia abortus</i>
2	<i>Chlamydia pecorum</i>
3	<i>Chlamydia muridarum</i>
4	<i>Chlamydia psittaci</i>
5	<i>Chlamydia suis</i>
6	вагінальний зіскрібок з інфікованої <i>Chlamydia abortus</i> вівці
7	кон'юнктивальний мазок від інфікованого <i>Chlamydia pecorum</i> теляти
гетерологічна панель	
6	<i>Listeria monocytogenes</i>
7	<i>Brucella ovis</i>
8	<i>Brucella abortus</i>
9	<i>Campylobacter fetus</i> subsp <i>fetus</i>
10	<i>Coxiella burnetti</i>
11	<i>Leptospira icterohaemorrhagiae</i>
12	<i>Mycoplasma agalactiae</i>
13	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>
14	вагінальний зіскрібок від інтактною вівці
15	кон'юнктивальний мазок від здорового теляти

Як внутрішній контрольний зразок ампліфікації (ВКЗ) нами було використано плазмиду pcDNA3-EGFP, яка містить ділянку гена *EGFP* медузи *Aequorea victoria* довжиною 177 п. н. Для ампліфікації зазначеної ділянки використовували праймерні послідовності EGFP-1-F (GACCACTACCAGCAGAACAC), EGFP-10-R (CTTGTACAGCTCGTCCATGC) та зонд EGFP-HEX (HEX-AGCACCCAGTCCGCCCTGAGCA-BHQ1), мічений флуоресцентним барвником HEX і гасником флуоресценції BHQ1.

Достовірність отриманих результатів підтверджувалася, якщо *Ct* позитивного контролю ≤ 35 (за FAM-барвником), негативного контролю — відсутність сигналу, а також значення *Ct* усіх досліджуваних зразків ≤ 35 (за HEX-барвником). Досліджуваний зразок вважався позитивним щодо наявності ДНК хламідій при значенні *Ct* ≤ 40 .

Аналіз результатів проводили з використанням програмного забезпечення HID Real-Time PCR Analysis Software v.1.1. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програм пакету Microsoft Office (Microsoft Excel).

Результати досліджень. З метою перевірки ефективності розробленого протоколу проведення ПЛР у реальному часі та створення на її основі тест-системи, визначали показники чутливості, специфічності, відтворюваності, повторюваності.

Для визначення аналітичної чутливості або межі детектування (LOD — limit of detection, мінімальна кількість копій специфічної ДНК, яку реакція виявляє в 100 % тестувань) проводили ПЛР з підготовленими зразками позитивного плазмідного контролю, розведеного до концентрації від 1,5625 до 100 копій ДНК на одну реакцію (табл. 3).

Таблиця 3 — Визначення аналітичної чутливості ПЛР

Кількість копій ДНК на одну реакцію	Коефіцієнт детекції (кількість виявлених/кількість повторень)
100	(20/20)
50	(20/20)
25	(20/20)
12,5	(20/20)
6,250	(12/20)
3,125	(3/20)
1,5625	(0/20)

Таким чином, було встановлено, що межа детекції розробленої методики складає 12,5 копій ДНК на одну реакцію.

Діагностичну специфічність встановлювали за наявністю флуоресцентного сигналу за FAM у позитивних зразках (гомологічна панель) і відсутності такого у негативних зразках (гетерологічна панель зразків ДНК) (табл. 4). Отримані результати свідчать про утворення чітких сигналів флуоресценції при дослідженні усіх зразків з гомологічної панелі зразків ДНК з показниками *Ct* від $19,49 \pm 0,42$ до $30,31 \pm 0,55$, при чому жоден зразок з гетерологічної панелі не визначено, як позитивний. Також значення CV позитивних зразків складало від 1,3 до 3,9 %, що підтверджує високу достовірність отриманих результатів.

На додаток було проведено випробування розробленої ПЛР на панелі з 12 зразків ДНК, що була надіслана для професійного тестування з референс-лабораторії МЕБ з ензоотичного абортів овець. Результати цих випробувань відображено в табл. 5. Проведені дослідження запропонованої панелі зразків у трьох повторях дозволили визначити статус кожного зразка, що у підсумку збіглося з результатами, які були отримані в іншій лабораторії. Ці результати свідчать про пряму залежність сигналу флуоресценції від ступеня розведення ДНК, тобто дана методика є високоефективною, а отриманий результат — прямо пропорційним концентрації зразка.

Таким чином, створено протокол проведення реакції ампліфікації у форматі реального часу, чутливість якої визначена як 12,5 копій ДНК хламідій в одному зразку. Отримані параметри валідації відповідають загальним вимогам щодо проведення ПЛР аналізу та дозволяють застосовувати дану методику в лабораторній практиці, повністю задовольняє діагностичні потреби. З огляду на вищезазначене необхідним вбачалося розробити діагностичний набір, який можна було б рекомендувати для широкого впровадження лабораторіям ветеринарної медицини для ефективного діагностики хламідіозу тварин.

Таблиця 4 — Визначення специфічності розробленої ПЛР

№ з/п	Матеріал, з якого виділено зразок ДНК	Ct (M ± m)	Коеф. варіації CV, %	Діагностична оцінка
гомологічна панель				
1	<i>Chlamydia abortus</i> ±	23,68 ± 0,38	1,6	ПОЗИТИВНО
2	<i>Chlamydia pecorum</i>	21,57 ± 0,33	1,5	ПОЗИТИВНО
3	<i>Chlamydia muridarum</i>	23,13 ± 0,51	2,2	ПОЗИТИВНО
4	<i>Chlamydia psittaci</i>	19,49 ± 0,42	2,2	ПОЗИТИВНО
5	<i>Chlamydia suis</i>	21,62 ± 0,84	3,9	ПОЗИТИВНО
6	вагінальний зіскрібок з інфікованої <i>Chlamydia abortus</i> вівці	28,69 ± 0,38	1,3	ПОЗИТИВНО
7	кон'юнктивальний мазок від інфікованого <i>Chlamydia pecorum</i> теляти	30,31 ± 0,55	1,8	ПОЗИТИВНО
гетерологічна панель				
6	<i>Listeria monocytogenes</i>	відсутнє	-	негативно
7	<i>Brucella ovis</i>	відсутнє	-	негативно
8	<i>Brucella abortus</i>	відсутнє	-	негативно
9	<i>Campylobacter fetus subsp fetus</i>	відсутнє	-	негативно
10	<i>Coxiella burnetti</i>	відсутнє	-	негативно
11	<i>Leptospira icterohaemorrhagiae</i>	відсутнє	-	негативно
12	<i>Mycoplasma agalactiae</i>	відсутнє	-	негативно
13	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	відсутнє	-	негативно
14	вагінальний зіскрібок від інтактною вівці	відсутнє	-	негативно
15	кон'юнктивальний мазок від здорового теляти	відсутнє	-	негативно

Таблиця 5 — Дослідження панелі зразків ДНК, отриманої для професійного тестування з референс-лабораторії МЕБ з ензоотичного абортів овець

№ з/п	Зразок ДНК	Ct (M ± m)	Коеф. варіації CV (%)	Діагностична оцінка
1	<i>C. abortus</i> 10 ⁴	27,88 ± 0,73	2,6	ПОЗИТИВНО
2	<i>C. avium</i> 10 ⁴	28,86 ± 0,54	1,9	ПОЗИТИВНО
3	<i>C. psittaci</i> 10 ⁵	27,91 ± 0,88	3,2	ПОЗИТИВНО
4	Вагінальний мазок від інтактною вівці	відсутнє	-	негативно
5	Гомогенат легень ВРХ	відсутнє	-	негативно
6	Гомогенат легень ВРХ + <i>C. psittaci</i> 10 ⁵	33,07 ± 0,93	2,8	ПОЗИТИВНО
7	Гомогенат легень ВРХ + <i>C. abortus</i> 10 ⁵	26,27 ± 0,28	1,1	ПОЗИТИВНО
8	Гомогенат легень ВРХ	відсутнє	-	негативно
9	Качиний послід + <i>C. gallinacea</i> 10 ⁴	28,05 ± 0,51	1,8	ПОЗИТИВНО
10	Качиний послід + <i>C. psittaci</i> 10 ³	35,60 ± 0,41	1,2	ПОЗИТИВНО
11	Качиний послід	відсутнє	-	негативно
12	Качиний послід + <i>C. psittaci</i> 10 ⁵	29,48 ± 0,98	3,3	ПОЗИТИВНО

Для впровадження розроблених нами праймерів і методики виявлення бактерій роду *Chlamydia* нами було сформовано діагностичну тест-систему «Chlamydia-DNA-test». Це було обумовлено відсутністю аналогів на ринку України. Склад експериментальної серії тест-системи подано у табл. 6. Реакційна суміш була оптимізована та складалася з розчинів праймерів у концентрації 10 пмоль/мкл, зондів, 10×буфер з (NH₄)₂SO₄, 2,0 мМ MgCl₂, 4 мМ кожного із dNTP, 1 МО Taq-полімерази. При її приготуванні враховували також оптимізовані концентрації MgCl₂ та Taq-полімерази, які були отримані на попередньому етапі. Також, до складу набору увійшли позитивний плазмідний контрольний зразок та внутрішній контрольний зразок. Кожен з компонентів розфасовано у пробірки у кількості, необхідній для проведення 50 або 100 аналізів. Наявність ВЗК забезпечувала правильність екстракції ДНК, запобігання хибно-негативних результатів та контроль відсутності інгібіторів у досліджуваних зразках.

Таблиця 6 — Склад тест-системи для детекції генетичного матеріалу бактерій роду *Chlamydia* на основі ПЛР у форматі реального часу

№ з/п	Назва компоненту	Фасування
1	Реакційна суміш RT-PCR MasterMix	Пробірка – 1 або 2 мл
2	Позитивний контрольний зразок	Пробірка – 0,03 або 0,06 мл
3	Внутрішній позитивний контроль	Пробірка – 0,1 або 0,2 мл
4	Вода деіонізована	Пробірка – 0,5 або 1 мл

Установлено, що тест-система здатна виявляти ДНК збудників хламідіозу в зразках клінічного матеріалу за відсутності відповідно сигналу в негативних пробах. Правильність постановки реакції підтверджувалася ампліфікацією ВЗК (табл. 7).

Таблиця 7 — Результати випробувань тест-системи «Chlamydia-DNA-test» (n = 3)

№ зразку	Опис зразку	Ct (M ± m) за FAM	Ct (M ± m) за HEX	Результат
1	ДНК <i>Chlamydia abortus</i> S26/3	24,36 ± 0,18	28,54 ± 0,22	позитивний
2	Позитивний плазмідний контроль 1:10	21,96 ± 0,09	27,76 ± 0,28	позитивний
3	Позитивний плазмідний контроль 1:100	23,19 ± 0,36	30,11 ± 0,15	позитивний
4	Позитивний плазмідний контроль 1:1000	27,01 ± 0,24	26,91 ± 0,41	позитивний
5	Змив з кон'юнктиви теляти, хворого на хламідіоз	30,22 ± 0,15	29,42 ± 0,66	позитивний
6	Плацента абортіваного плоду вівці	31,13 ± 0,23	28,17 ± 0,36	позитивний
7	Вагінальний мазок корови, що абортувала	n	28,88 ± 0,49	негативний
8	Вагінальний мазок здорової корови	n	26,23 ± 0,57	негативний
9	Сперма бугая-плідника з благополучного щодо хламідіозу господарства	n	29,04 ± 0,38	негативний
10	Змив з кон'юнктиви здорового теляти	n	27,16 ± 0,23	негативний
11	Негативний контроль	n	29,08 ± 0,17	негативний

Примітка: n — сигнал відсутній.

Випробування експериментальної серії тест-системи у трьох повторях показало відтвореність запропонованого протоколу ампліфікації. Відсутність утворення продукту ампліфікації в негативних зразках доводить специфічність зазначеного діагностикуму.

Таким чином, розроблена тест-система «Chlamydia-DNA-test» за показниками специфічності, чутливості, відтворюваності відповідає рекомендаціям, які викладені в мануалі МEB [9].

Висновки. Створено протокол проведення реакції ампліфікації у форматі реального часу, чутливість якої визначена як 12,5 копій ДНК хламідій в одному зразку. Отримані параметри валідації відповідають загальним вимогам щодо проведення ПЛР аналізу та дозволяють застосовувати дану методику в лабораторній практиці, повністю задовольняє діагностичні потреби. На основі зазначеної методики створено тест-систему «Chlamydia-DNA-test», яка за показниками специфічності, чутливості та відтворюваності відповідає існуючим вимогам та може бути запропонована до широкого впровадження у практику ветеринарної медицини, що значно підвищить ефективність лабораторної діагностики хламідіозів в Україні.

Список літератури

1. Elwell C., Mirrashidi K., Enge J. Chlamydia cell biology and pathogenesis. *Nature reviews. Microbiology*. 2016. Vol. 14, No 6. P. 385–400. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.30>.
2. Wheelhouse N., Longbottom D. Endemic and emerging chlamydial infections of animals and their zoonotic implications. *Transboundary and emerging diseases*. 2012. Vol. 5, No 4. P. 283–291. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01274.x>.
3. Reinhold P., Sachse K., Kaltenboeck B. Chlamydiaceae in cattle: commensals, trigger organisms, or pathogens? *Veterinary journal (London, England : 1997)*. 2011. Vol. 189, No 3. P. 257–267. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.09.003>.

4. Cheong H. C. et al. *Chlamydiaceae* : Diseases in Primary Hosts and Zoonosis. *Microorganisms*. 2019. Vol. 7, No 5. P. 146. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050146>.
5. Vidal S. et al. Neglected zoonotic agents in cattle abortion: tackling the difficult to grow bacteria. *BMC veterinary research*. 2017. Vol. 13, No 1. P. 373. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1294-y>.
6. Lienard J. et al. Development of a new chlamydiales-specific real-time PCR and its application to respiratory clinical samples. *Journal of clinical microbiology*. 2011. Vol. 49, No 7. P. 2637–2642. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00114-11>.
7. Павлов С. Л., Стегній Б. Т. Підбір олігонуклеотидних послідовностей з метою детекції генетичного матеріалу *Chlamydia* spp. за допомогою реакції ампліфікації. *Ветеринарна медицина : міжвідомчий тематичний науковий збірник*. 2020. Вип. 106. С. 73–77. DOI: <https://doi.org/10.36016/VM-2020-106-13>.
8. Павлов С. Л. Розроблення та валідація позитивного плазмідного контролю для виявлення генетичного матеріалу хламідій у полімеразній ланцюговій реакції у форматі реального часу. *Ветеринарна медицина : міжвідомчий тематичний науковий збірник*. 2021. Вип. 107. С. 74–78. DOI: <https://doi.org/10.36016/VM-2021-107-13>.
9. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, twelfth edition 2022. URL: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/A_summry.htm.

TESTING OF “CHLAMYDIA-DNA-TEST” DIAGNOSTIC KIT FOR THE DETECTION OF CHLAMYDIAL GENETIC MATERIAL BASED ON THE REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION

Pavlov S. L.

National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine

A diagnostic kit “Chlamydia-DNA-test” is proposed for the detection of chlamydial genetic material in samples of clinical animal material based on polymerase chain reaction (PCR) in real time. The purpose of the work was to establish the validation characteristics of the created set according to indicators of diagnostic sensitivity, specificity and reproducibility. According to the results of the evaluation of the test system, high sensitivity, specificity and reproducibility were confirmed. The detection limit of the developed technique was 12.5 DNA copies per reaction. The test of the experimental series of the test system in three repetitions showed the reproducibility of the proposed amplification protocol. The absence of amplification product formation in negative samples proves the specificity of the indicated diagnostic kit. “Chlamydia-DNA-test” regarding of its specificity, sensitivity, and reproducibility corresponds to the recommendations set forth in the OIE manual, and after state registration can be proposed for wide implementation in the practice of veterinary medicine, which will significantly increase the efficiency of laboratory diagnostics of chlamydiosis in Ukraine

Keywords: *diagnostics, DNA, specificity*

6. ПАРАЗИТОЛОГІЯ

УДК 619:616-002.951-08:615.284.038:639.215.2

DOI 10.36016/VM-2022-108-14

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ПРАЗИКВАНТЕЛУ І ЕКСТРАКТУ ЧАСНИКУ (*ALLIUM SATIVUM*) ЗА ДАКТИЛОГІРОЗУ КОРОПА

Богач М. В.*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: bogach_nv@ukr.net***Панікар В. І.***Одеський державний аграрний університет, Одеса, Україна*

Метою роботи було з'ясувати ефективність протипаразитарного препарату празиквантел і празиквантелу у поєднанні з рослинним продуктом часником (*Allium sativum*) за дактилогірозу коропа. В останні роки натуральні рослинні продукти розглядалися як засіб боротьби з паразитами в аквакультури та усунення проблем, спричинених використанням хімікатів. Сформовано першу контрольну групу риби, яка не піддавалась ніякому лікуванню. У другій дослідній групі коропів лікували празиквантелом з розрахунку 20 мг/л води (2 г/100 л води). Базовий розчин празиквантелу готували шляхом доведення необхідної концентрації празиквантелу, розчиненого в етанолі (5 мг/мл). Як розчинник використовували етанол через низьку розчинність празиквантеліну у воді. У третій дослідній групі коропів лікували празиквантелом у дозі 20 мг/л води (2 г/100 л води) у поєднанні з рослинним продуктом часником у дозі 5 г/100 л води. Часник подрібнювали в кухонному блендері, потім суміш фільтрували за допомогою ситечка. Щоб приготувати вихідний розчин для експерименту зважили 10 г меленого часнику та додали до 20 мл холодної води (0,5 г/мл). Визначили екстенсефективність лікувальних засобів за дактилогірозу коропів. Установлено, що за спонтанного дактилогірозу коропів екстенсефективність протипаразитарного препарату празиквантел склала 85,7%, тоді як при застосуванні празиквантелу у поєднанні з екстрактом часнику екстенсефективність склала 100 %

Ключові слова: гельмінтози, лікування

Короп звичайний (*Cyprinus carpio*) є економічно важливим видом риби в галузі аквакультури. Він є третім за загальним виробництвом у всьому світі та вирощується приблизно в 100 країнах [1].

Інтенсивний розвиток аквакультури призводить до значного поширення паразитарних захворювань, спричинених гельмінтозами моногеніями, трематодами, цестодами, нематодами, які впливають на здоров'я і продуктивність коропа та інших видів риби [2].

Захворювання зябер є серйозною проблемою для морської та прісноводної аквакультури в усьому світі. Зябра риби є багатофункціональним органом, який бере участь у диханні та гомеостатичній діяльності, такий як осморегуляція, метаболізм і циркуляція гормонів, виділення азоту, регуляція іонів і кислотно-лужного балансу [3].

Зябра є одними з найделікатніших структур тіла риби, які мають зовнішнє розташування, тому вони піддаються пошкодженню патогенами (паразитами, бактеріями, грибами та вірусами) та/або токсикантами (важкими металами, пестицидами, ліками) [4].

Моногенії мають вузьке коло хазяїв і часто не викликають патогенних проблем у природі. Однак, за сприятливих умов аквакультури моногенії можуть стати патогенними для хазяїв [5].

Наслідки моногенних епізоотій та проблеми, пов'язані з їх лікуванням у вирощувальних установах, роблять їх проблемою для виробництва риби. Високі температури, висока щільність риби та погана якість води сприятливі для моногенних паразитів та динаміки їх передачі [6, 7].

Небезпечний вплив моногенії полягає в тому, що паразит має прямий і простий життєвий цикл, оскільки яйця *Dactylogyru*s вилуплюються протягом 2–6 діб за температури від 20 до

28 °С, вивільняючи вільно плаваючі мірацидії (фаза інфекції). Протягом 4–6 діб вони досягають зрілості і прикріплюються до господарів, де можуть проводити до 40 діб [8].

Моногенні паразити завдають значних економічних збитків в галузі аквакультури. Зазвичай їх обробляють хімікатами, але хімікати можуть мати шкідливі побічні ефекти для риби та становити загрозу для здоров'я людини [9].

Для лікування моногенетичних трематод в аквакультурі окрім хімічних речовин, таких як формалін, перекис водню, перманганат калію використовували празиквантел. Токсичні речовини цих сполук накопичуються в тканинах риб і в організмі людини через харчовий ланцюг, що робить їх небезпечними для навколишнього середовища та здоров'я людини [10–12].

На сьогоднішній день лікування та профілактика моногенних паразитів включала також використання різних антигельмінтних засобів, включаючи празиквантел, левамізол, фенбендазол і мебендазол [13, 14].

За даними Zhang et al., празиквантел у дозі 20 мг/л ефективно знищував дорослих особин *Dactylogyrus* з ефективністю 80,3 % і пригнічував розвиток яєць, тоді як ефективність трихлорфону становила 87,3 %, але доза була дуже близькою до токсичної, що обмежує його практичне застосування в аквакультурі [15].

На поширення моногеній *Dactylogyrus anchoratus* у молоді коропа з'ясовували вплив терапевтичної ванни з п'яти різних протипаразитарних препаратів за різної тривалості фенбендазолу (25 мг/л, 12 год), формальдегіду (0,17 мл/л, 15 хв), івермектину (0,031 мг/л, 1 год), мебендазолу (1 мг/л, 12 год) і левамізолу (50 мг/л, 2 год). З'ясовано, що ветеринарні лікарські засоби з діючою речовиною фенбендазолом можуть успішно замінити використання незареєстрованого формальдегіду при лікуванні моногенних інвазій [16].

В останні роки натуральні рослинні продукти розглядалися як засіб боротьби з паразитами в аквакультурі та усунення проблем, спричинених використанням хімікатів. У риб антипаразитарна активність часнику є одним з найбільш відомих ефектів у літературі, в основному при використанні занурювальних ванн для водних організмів. Вживання часнику також має протимікробну дію на культуру гідробіонтів. Екстракти та виділені сполуки *A. sativum* були оцінені на різні біологічні дії, включаючи антибактеріальну, противірусну, протигрибкову, протипротозойну, антиоксидантну, протизапальну та протипухлинну дію серед інших [17–19].

Мета роботи: з'ясувати ефективність протипаразитарного препарату празиквантел і празиквантелу у поєднанні з рослинним продуктом часником (*Allium sativum*) за дактилогірозу коропа.

Матеріали та методи. Всього було досліджено 42 коропа дволітки масою тіла $430,5 \pm 21,2$ г, природно інвазованих *Dactylogyrus vastator* (ектопаразити класу *Monogenea*). У інвазованих коропів з латеральної поверхні зябер та між пелюстками зябер реєстрували велику кількість слизу, який був червоного відтінку. Діагноз був підтверджений мікроскопією зябер і виявленням паразитів. Риба була виловлена зі ставу ТОВ «Акварест» Одеського району Одеської області. Дослідження проводили у червні 2022 року.

Для проведення досліду було сформовано три групи коропів ($n = 14$), з яких дві дослідні та контрольна. Кожну групу риби утримували у ваннах з об'ємом води 100 л. Воду використовували відстояну водопровідну упродовж 48 год. Під час експерименту в усіх досліджуваних групах контролювали температуру води — $20,5 \pm 1,5$ °С, насичення киснем 93–98 % та рН 7,5–7,9. Перед початком експерименту рибу акліматизували упродовж 10 діб і годували стандартним комбікормом для коропів.

Перша група риби була контролем, годувалась звичайним кормом і не піддавалась ніякому лікуванню.

Другу групу риби лікували празиквантелом ТМ «Агровет» (Україна) з розрахунку 20 мг/л води (2 г/100 л води). Базовий розчин празиквантелу готували шляхом доведення необхідної концентрації празиквантелу, розчиненого в етанолі (5 мг/мл). Як розчинник використовували етанол через низьку розчинність празиквантеліну у воді.

Другій групі риби задавали празиквантел в аналогічній дозі у поєднанні з екстрактом часнику (*Allium sativum*) у дозі 5 г/100 л води. Часник подрібнювали в кухонному блендері, потім суміш фільтрували за допомогою ситечка. Щоб приготувати вихідний розчин для експерименту зважили 10 г меленого часнику та додали до 20 мл холодної води (0,5 г/мл) [20].

Щодня вели спостереження за клінічним станом риби.

На 3-тю та 6-ту доби досліджу з кожної групи було вбито по 7 коропів шляхом оглушення та перерізання спинного мозку для остаточної посмертної діагностики *D. vastator*. Зі зябрових дуг коропів готували мазки і досліджували за допомогою світлового мікроскопа, підраховуючи кількість дактилогірусів у 10 полях зору мікроскопа.

Результати досліджень. Багатьма дослідниками доведена здатність лікарських рослин зміцнювати здоров'я та імунітет риби, покращуючи захист хазяїна від інфекційних та інвазійних захворювань. Тому нами було проведено порівняльну оцінку ефективності протипаразитарного препарату празиквантел і празиквантелу у поєднанні з рослинним продуктом часником (*Allium sativum*) за дактилогірозу коропів.

До початку досліджу всі коропи були 100 % уражені *D. vastator* з інтенсивністю інвазії від $16,8 \pm 0,5$ екз. у 10 полях зору мікроскопа (п. з. м.) до $18,1 \pm 1,1$ п. з. м. (табл. 1).

Таблиця 1 – Ефективність лікування дактилогірозу у коропів (n = 14, M ± m)

Групи	До початку досліджу		Через 3 доби		Через 6 діб		ЕЕ, %
	ЕІ, %	ІІ, екз.	ЕІ, %	ІІ, екз.	ЕІ, %	ІІ, екз.	
I контрольна	100	$17,2 \pm 0,3$	100	$21,2 \pm 0,5$	100	$19,8 \pm 0,3$	0
II дослідна	100	$16,8 \pm 0,5$	57,1	$9,1 \pm 0,2$	85,7	2,0	85,7
III дослідна	100	$18,1 \pm 1,1$	71,4	$2,2 \pm 0,1$	–	–	100

Через 3 доби після застосування празиквантелу у другій дослідній групі у 4 коропів дактилогірусів не реєстрували і показник екстенсивності інвазії склав 57,1 %, у 3 коропів інтенсивність інвазії знизилась до $9,1 \pm 0,2$ екз. у 10 п. з. м. Вже на 6-ту добу після лікування екстенсивність інвазії склала 85,7 %, а у одного коропа ще реєстрували 2 екз. дактилогірусів.

У третій дослідній групі коропів, яких лікували празиквантелом у поєднанні з екстрактом часнику на 3-тю добу показник від *D. vastator* звільнилось 5 коропів, тобто екстенсивність інвазії склала 71,4 %, а у двох коропів реєстрували моногеній з інтенсивністю $2,2 \pm 0,1$ екз. в 10 п. з. м. Уже на 6-ту добу в цій дослідній групі риби усі 7 коропів були вільні від дактилогірусів.

У контрольній групі коропів упродовж усього терміну досліджу екстенсивність інвазії була на рівні 100 % при незначному зростанні інтенсивності інвазії від $17,2 \pm 0,3$ екз. у 10 п. з. м. до $21,2 \pm 0,5$ екз. у 10 п. з. м.

Висновок. За спонтанного дактилогірозу коропів екстенсефективність протипаразитарного препарату празиквантел склала 85,7 %, тоді як за застосування празиквантелу у поєднанні з екстрактом часнику екстенсефективність склала 100 %.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні морфологічних і біохімічних показників крові після лікування коропів, уражених *D. vastator*.

Список літератури

1. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). The State of World Fisheries and Aquaculture. Sustainability in Action. 244 (FAO, 2020). URL: <https://policycommons.net/artifacts/8944448/the-state-of-world-fisheries-and-aquaculture/9783112/>.
2. Bondad-Reantaso M. G., Subasinghe R. P., Arthur J. R., Ogawa K., Chinabut S., Adlard R., Tan Z., Shariff M. Disease and health management in Asian aquaculture. *Veterinary Parasitology*. 2005. Vol. 132, iss. 3–4. P. 249–272. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.07.005>.
3. Evans D. H., Piermarini P. M., Choe K. P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews*. 2005. Vol. 85, iss. 1. P. 97–177. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2003>.
4. Ahmed N. M., Ghannam H. E., Tayel S. I. Biochemical and histopathological responses of *Oreochromis niloticus* and *Cyprinus carpio* to sub-lethal exposure of Ictacrine pesticide. *Egyptian Journal of Histology*. 2020. Vol. 43, iss. 3. P. 918–930. DOI: [10.21608/ejh.2020.21602.1224](https://doi.org/10.21608/ejh.2020.21602.1224).
5. Neary E. T., Develi N., Özgül G. Occurrence of Dactylogyrus species (Platyhelminths, Monogenean) on Cyprinids in Almus Dam Lake, Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2012. Vol. 12. P. 15–21. URL: https://www.trjfas.org/uploads/pdf_541.pdf.
6. Crafford D., Luus-Powell W., Avenant-Oldewage A. Monogenean parasites from fishes of the Vaal Dam, Gauteng Province, South Africa I. Winter survey versus summer survey comparison from *Labeo capensis* (Smith 1841) and *Labeo umbratus* (Smith, 1841) hosts. *Acta Parasitologica*. 2014. Vol. 59, iss. 1. P. 17–24. DOI: <https://doi.org/10.2478/s11686-014-0205-7>.
7. Zhang X., Shang B., Cheng Y., Wang G., Stojanovski S., Li W. Effects of different regimes of low temperature on egg hatching of *Dactylogyrus vastator* (Monogenea: Dactylogyridae). *Experimental Parasitology*. 2022. Vol. 240. 108333. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2022.108333>.

8. Hussein A. A., Khalaf N., Mansour A. A., Morsy K. Morphological and morphometric characterization of four Monogenean parasites from fishes of the River Nile, Qena Governorate, Egypt. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences (Biological Zoology)*. 2019. Vol. 11, iss. 1. P. 31–45.
9. Zoral M. A., Futami K., Endo M., Maita M., Katagiri T. Anthelmintic activity of *Rosmarinus officinalis* against *Dactylogyrus minutus* (Monogenea) infections in *Cyprinus carpio*. *Veterinary Parasitology*. 2017. Vol. 247. P. 1–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.09.013>.
10. Sharp N. J., Diggles B. K., Poortenaar C. W., Willis T. J. Efficacy of Aqui-S, formalin and praziquantel against the monogeneans, *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae*, infecting yellowtail kingfish *Seriola lalandi lalandi* in New Zealand. *Aquaculture*. 2004. Vol. 236, iss. 1–4. P. 67–83. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.02.005>.
11. Hedberg N., Stenson I., Pettersson M. N., Warshan D., Nguyen-Kim H., Tedengren M., Kautsky N. Antibiotic use in Vietnamese fish and lobster sea cage farms; implications for coral reefs and human health. *Aquaculture*. 2018. Vol. 495. P. 366–375. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.005>.
12. Ni L., Chen D., Fu H., Xie Q., Lu Y., Wang X., Zhao Y., Chen L. Residual levels of antimicrobial agents and heavy metals in 41 species of commonly consumed aquatic products in Shanghai, China, and cumulative exposure risk to children and teenagers. *Food Control*. 2021. Vol. 129, iss. 2. 108225. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108225>.
13. Kolarova J., Stara A., Zuskova E., Velisek J. Safety of the anthelmintic drugs levamisole, fenbendazole, and ivermectin administered in therapeutic baths for the common carp *Cyprinus carpio*. *Veterinari Medicina*. 2022. Vol. 67, iss. 7. P. 371–378. DOI: <https://doi.org/10.17221/146/2021-vetmed>.
14. Velisek J., Zuskova E., Kubec J., Sandova M., Stara A. Effects of praziquantel on common carp embryos and larvae. *Scientific Reports*. 2022. Vol. 12, iss. 1. 17290. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21679-2>.
15. Zhang X. P., Li W. X., Ai T. S., Zou H., Wu S. G., Wang G. T. The efficacy of four common anthelmintic drugs and traditional Chinese medicinal plant extracts to control *Dactylogyrus vastator* (Monogenea). *Aquaculture*. 2014. Vol. 420. P. 302–307. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.022>.
16. Kolarova J., Zuskova E., Velisek J. Efficacy of a therapeutic bath with selected antiparasitic drugs on a *Dactylogyrus anchoratus* infection in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinari Medicina*. 2022. Vol. 67, iss. 12. P. 620–627. DOI: <https://doi.org/10.17221/66/2022-vetmed>.
17. Buchmann K. Control of parasitic diseases in aquaculture. *Parasitology*. 2022. Vol. 149, iss. 14. P. 1985–1997. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0031182022001093>.
18. Ceccanti C., Rocchetti G., Lucini L., Giuberti G., Landi M., Biagiotti S., Guidi L. Comparative phytochemical profile of the elephant garlic (*Allium ampeloprasum* var. *Holmense*) and the common garlic (*Allium sativum*) from the Val Di Chiana area (Tuscany, Italy) before and after in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*. 2021. Vol. 338, iss. 5. 128011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128011>.
19. Batiha G. E. S., Beshbishy A. M., Wasef L. G., Elewa Y. H. A., Al-Sagan A. A., El-Hack M. E. A., Taha A. E., Abd-Elhakim Y. M., Devkota H. P. Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): a review. *Nutrients*. 2020. Vol. 12, iss. 3. P. 872. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12030872>.
20. Yildiz H. Y., Bekcan S. Control of ectoparasitosis in carp (*Cyprinus carpio*) induced by *Gyrodactylus elegans* (Monogenea) with garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*) extracts. *Ecocycles*. 2020. Vol. 6, iss. 1. P. 10–17. DOI: <https://doi.org/10.19040/ecocycles.v6i1.157>.

COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF PRAZIQUANTEL AND GARLIC EXTRACT (*ALLIUM SATIVUM*) FOR CARP DACTYLOHYROSIS

Bogach M. V.

National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine

Panikar V. I.

Odesa State Agrarian University, Odesa, Ukraine

The aim of the work was to find out the effectiveness of the antiparasitic drug praziquantel and praziquantel in combination with the plant product garlic (*Allium sativum*) for carp dactylohyrosis. In recent years, natural plant products have been considered as a means of controlling parasites in aquaculture and eliminating problems caused by the use of chemicals. The first control group of fish that did not undergo any treatment was formed. In the second experimental group, carp were treated with praziquantel at the rate of 20 mg/l of water (2 g/100 l of water). The base solution of praziquantel was prepared by adding the required concentration of praziquantel dissolved in ethanol (5 mg/ml). Ethanol was used as a solvent due to the low solubility of praziquantel in water. In the third experimental group, carp were treated with praziquantel at a dose of 20 mg/l of water (2 g/100 l of water) in combination with the plant product garlic at a dose of 5 g/100 l of water. The garlic was crushed in a kitchen blender, then the mixture was filtered using a strainer. To prepare the initial solution for the experiment, 10 g of ground garlic was weighed and added to 20 ml of cold water (0.5 g/ml). It was established that for spontaneous dactylohyrosis of carp, the effectiveness of the antiparasitic drug praziquantel was 85.7%, while when using praziquantel in combination with garlic extract, the effectiveness was 100%

Keywords: helminthiases, treatment

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ІНСЕКТОАКАРИЦИДНИХ ПРЕПАРАТІВ «ДЕЛІКС» ТА «ЕКТОЦИД-ПЛЮС» НА МОРФОЛОГІЧНІ І БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ТВАРИН

*Нікіфорова О. В.¹, Пономаренко О. В.¹, Сумакова Н. В.²,
Гаркуша І. В.¹, Ладогубець О. В.¹, Дученко К. А.¹*

¹ Державний біотехнологічний університет, Харків, Україна, e-mail: ixodes1795@gmail.com

² Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна

Наведено результати досліджень морфологічних та біохімічних показників крові тварин при лікуванні їх інсектоакарицидними препаратами «Делікс» та «Ектоцид-Плюс». Встановлено, що при лікуванні кролів і собак інсектоакарицидними препаратами «Делікс» та «Ектоцид-Плюс» морфологічні та біохімічні показники крові тварин залишалися відносно стабільними

Ключові слова: кролі, собаки, отодектоз, псороптоз

В останні роки як за кордоном, так і в Україні для боротьби з ектопаразитами випробувані і застосовуються багато лікарських засобів — фізичного, хімічного, біологічного походження, з яких хімічним препаратом, як найбільш доступним, віддається перевага [1, 2]. Хімічні препарати на основі синтетичних піретроїдів широко використовуються в сільському господарстві та ветеринарії, як інсектоакарициди. Обсяг їх виробництва і продаж щорічно збільшується [1–3]. На даний час синтетичні піретроїди — група інсектоакарицидів, які найбільш затребувані у тваринницькій галузі для боротьби з паразитичними комахами та кліщами [4]. Однак не всі вивчені інсектоакарицидні препарати задовольняють сучасним вимогам, основними умовами яких є висока ефективність, відносно низька токсичність для тварин і людини, і нешкідливість для об'єктів навколишнього середовища [5–9].

Мета роботи. Вивчити в порівняльному аспекті фармако-токсикологічні властивості препаратів «Делікс» та «Ектоцид-Плюс» на основі синтетичних піретроїдів для лікування акарозів дрібних свійських тварин.

Матеріали та методи. З метою вивчення впливу препаратів на організм тварин були використані наступні інсектоакарициди: спрей «Делікс» та «Ектоцид-плюс». Препарати наносили на уражену ділянку вухної раковини тварин згідно настанови по застосуванню. Повторну обробку проводили через 10 діб.

1. Спрей «Делікс» 150 мл — інсектоакарицидний препарат для собак. Застосовується з лікувальною і профілактичною метою проти ектопаразитів: бліх, кліщів, вошей і волосоїдів. Переваги застосування препарату:

- застосовується як з лікувальною, так і з профілактичною метою;
- препарат не подразнює шкіру, не викликає алергічних реакцій, які не змиваються водою;
- зручна насадка-розпилювач допомагає розпорозувати препарат в важкодоступних місцях;
- є найбезпечнішим з усіх інсектоакарицидних препаратів.

Доза спрею «Делікс» залежить від маси тварини, стану шерстного покриву, ступеня інвазії і становить від 3 до 6 мл/кг при нанесенні на шкіру. Повторну обробку тварин проводять за показниками, але не частіше 1 разу на 10 діб.

2. Препарат «Ектоцид-плюс» застосовують для боротьби з ектопаразитами тварин. Діючою речовиною «Ектоцид-плюс» є суміш діючих речовин циперметрин і хлорпіріфос (Нурел Д), репелент — ефірна олія евкалиптова та допоміжні речовини: технічна олія, поверхнево-активна речовина, диметилсульфоксид.

Фармацевтична форма. Емульсія, непрозора, молочного кольору.

Вид тварин. Різні види сільськогосподарських і свійських тварин та птиця.

Показання до застосування. Засіб застосовується для боротьби з ектопаразитами у сільськогосподарських і свійських тварин та птиці.

Протипоказання. Не виявлені.

Застереження при використанні. При обробці не допускають попадання в очі, ніс і рот тварин. Використовують тільки свіжовиготовлений розчин. Після обробки потрібно вимити руки теплою водою з милом.

Взаємодія з іншими засобами. Не встановлена.

Особливі вказівки при вагітності, лактації. Не використовувати тваринам у останню тріть вагітності.

Спосіб застосування та дози. Робочий розчин готують розводячи концентрат препарату (50 мл) «Ектоцид-плюс» у питній воді у співвідношенні 1:20 (50 мл на 1 л води). Обробку проводять вранці або увечері, за допомогою ранцевого обприскувача типу «Автомаск» або ручного «Росинка» за температури повітря не вище 25 °С.

Робочий розчин наносять на шкіру тварин з розрахунку:

- собакам — 10–15 мл (демодектоз, отодектоз, іксодові кліщі);
- кролям — 3–5 мл (псороптоз) ушна раковина.

Побочні ефекти. Не встановлені.

Упаковка. Засіб фасують у скляні або полімерні флакони об'ємом 50, 250, 500 мл. Закупорку флаконів проводять гумовими корками та закручують металевими ковпачками або пластиковою кришкою.

При виконанні роботи застосували наступні методи дослідження: клінічні, паразитологічні, фармако-токсикологічні, гематологічні, біохімічні та статистичні.

Діагноз на арахноентомози встановлювали комплексно. Аналізували дані анамнезу, враховували умови утримання, годівлі тварин, а також епізоотичні дані, клінічні ознаки та результати лабораторних досліджень.

Для діагностики отодектозу та псороптозу із зовнішнього слухового ходу за допомогою ватної палички відбирали кірочки. Дослідження відібраного матеріалу проводили компресорним методом за загальноприйнятою методикою з наступною мікроскопією під малим збільшенням мікроскопу (ок. $\times 7$, об. $\times 10$). Виявляли живих та мертвих кліщів, їх німф, личинок і яйця.

Дослідження терапевтичної ефективності та впливу інсектоакарицидних препаратів «Делікс» і «Ектоцид-плюс» на клінічний статус та морфобіохімічні показники крові тварин, проводили на 15 собаках у віці від двох до п'яти років різних порід, а також на 15 кролях, хворих на отодектоз і псороптоз. При клінічному обстеженні тварин застосовували загальноприйняті у ветеринарній практиці методи дослідження — огляд, пальпація, перкусія, аускультация, термометрія. При обстеженні враховували локалізацію і площу ураження вушної раковини, характер патологічних змін, наявність свербіння уражених ділянок та перебіг хвороби.

Морфологічні та біохімічні показники крові у тварин при застосуванні препаратів «Делікс» та «Ектоцид-плюс», проводили у Закарпатській регіональній державній лабораторії Держпродспоживслужби України за наступними методиками.

Рівень загального гемоглобіну в крові визначали гемоглобінціанідним методом [10]. Визначення кількості еритроцитів проводили на КФК-2 за допомогою калібрувальних графіків [11–13]. Кількість лейкоцитів підраховували у камері Горяєва [10], лейкоформулу визначали у мазках крові. Визначення вмісту білка, альбуміну, білірубину, сечовини, креатиніну, активності аланінамінотрансферази і аспартатамінотрансферази, тригліцеридів у сироватці крові проводили за допомогою відповідних наборів НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Результати гематологічних і біохімічних досліджень виражали в одиницях Міжнародної системи вимірювань, що є рекомендованими для використання у лабораторній практиці [14]. Обробку отриманих даних проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики [15] та комп'ютерної програми Microsoft Office Excel 2003.

Результати досліджень та обговорення. Кров є маркером фізіологічного стану організму тварини. Тому для оцінки впливу інсектоакарицидних препаратів «Делікс» та «Ектоцид-плюс» на організм тварин досліджували морфологічні і деякі біохімічні показники їхньої крові.

Результати досліджень з визначення морфологічних показників крові у кролів та собак до і після обробки тварин інсектоакарицидними препаратами «Делікс» і «Ектоцид-плюс» представлені в табл. 1–4.

Як видно з даних табл. 1, після застосування інсектоакарицидного препарату «Делікс» у дослідних кролів спостерігали зниження кількості гемоглобіну з 111,5 до 100,5 г/л.

Таблиця 1 — Морфологічні показники крові кролів після обробки інсектоакарицидним засобом «Делікс» ($M \pm m$, $n = 5$)

Найменування	Контроль	Величина показників крові тварин								
		До обробки	після першої обробки, через добу				після другої обробки, через добу			
			1	3	5	7	1	3	5	7
Гемоглобін, Г/л	112,5 ± 0,8	111,5 ± 0,8	103,9 ± 0,4	102,6 ± 0,3*	102,3 ± 0,2*	100,5 ± 0,2*	103,7 ± 0,3	100,3 ± 0,8*	105,2 ± 0,2	103,6 ± 0,4
Еритроцити, Т/л	6,2 ± 0,2	6,3 ± 0,2	6,7 ± 0,3	6,8 ± 0,2	6,3 ± 0,2	6,3 ± 0,2	6,9 ± 0,3	6,7 ± 0,3	6,3 ± 0,2	6,3 ± 0,2
Лейкоцити, Г/л	5,3 ± 0,1	6,4 ± 0,3	8,5 ± 0,5	12,8 ± 0,6*	13,4 ± 0,8*	10,4 ± 0,7*	11,8 ± 0,5*	12,8 ± 0,6*	9,5 ± 0,5	10,5 ± 0,7*
Еозинофіли, %	2,7 ± 0,2	3,7 ± 0,4	5,8 ± 0,5	7,7 ± 0,7*	7,8 ± 0,8*	5,8 ± 0,5	5,7 ± 0,5	7,7 ± 0,7*	7,7 ± 0,7*	5,7 ± 0,5
Нейтрофіли, %										
– паличкоядерні	1,7 ± 0,3	1,8 ± 0,5	1,6 ± 0,2	1,8 ± 0,5	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,3	1,6 ± 0,2	1,8 ± 0,5	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,2
– сегментоядерні	17,1 ± 0,9	18,3 ± 1,1	22,2 ± 1,3*	28,1 ± 1,5*	26,2 ± 1,4	29,2 ± 1,6*	27,1 ± 1,5*	27,2 ± 1,5*	23,1 ± 1,3*	20,1 ± 1,2*
Лімфоцити, %	73,7 ± 2,1	73,7 ± 2,1	73,8 ± 0,9	73,6 ± 3,0	73,8 ± 0,8	73,8 ± 2,9	73,7 ± 2,7	73,7 ± 1,6	73,7 ± 1,9	73,7 ± 0,9
Моноцити, %	2,4 ± 0,5	2,3 ± 0,4	2,4 ± 0,5	2,9 ± 0,7	2,4 ± 0,5	2,3 ± 0,4	2,3 ± 0,4	2,9 ± 0,7	2,4 ± 0,5	2,3 ± 0,4

Примітка: * — статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Таблиця 2 — Морфологічні показники крові собак після обробки інсектоакарицидним засобом «Делікс» ($M \pm m$, $n = 5$)

Найменування	Контроль	Величина показників крові тварин								
		До обробки	після першої обробки, через добу				після другої обробки, через добу			
			1	3	5	7	1	3	5	7
Гемоглобін, Г/л	148,3 ± 0,8	147,3 ± 0,7	117,4 ± 0,8	113,4 ± 0,3*	118,4 ± 0,8	117,4 ± 0,8	114,4 ± 0,4	113,4 ± 0,3*	113,4 ± 0,3*	116,4 ± 0,7
Еритроцити, Т/л	6,8 ± 0,2	6,7 ± 0,4	6,2 ± 0,3	6,2 ± 0,2	6,4 ± 0,2	6,8 ± 0,2	6,0 ± 0,3	6,6 ± 0,3	6,6 ± 0,2	6,8 ± 0,2
Лейкоцити, Г/л	9,2 ± 0,3	9,2 ± 0,3	10,3 ± 0,3*	14,0 ± 0,2*	13,7 ± 0,4*	9,3 ± 0,2	11,6 ± 0,3	15,9 ± 0,3*	14,6 ± 0,2*	11,3 ± 0,2
Еозинофіли, %	6,4 ± 0,2	6,9 ± 0,4	6,9 ± 0,4	8,2 ± 0,7*	7,4 ± 0,6*	6,5 ± 0,3	7,4 ± 0,6*	7,2 ± 0,5*	6,8 ± 0,3	6,4 ± 0,2
Нейтрофіли, %										
– паличкоядерні	1,8 ± 0,5	1,8 ± 0,5	1,7 ± 0,4	1,9 ± 0,6	1,6 ± 0,3	1,8 ± 0,5	1,9 ± 0,6	1,9 ± 0,6	1,6 ± 0,3	1,9 ± 0,6
– сегментоядерні	48,4 ± 1,6	49,4 ± 1,6	68,4 ± 1,2*	85,2 ± 1,4*	83,6 ± 1,6*	80,1 ± 0,6*	89,0 ± 0,7*	86,1 ± 1,0*	86,0 ± 0,5*	82,6 ± 0,9*
Лімфоцити, %	32,1 ± 2,1	34,1 ± 2,1	32,6 ± 0,9	32, ± 3,0	33,1 ± 0,8	32,2 ± 2,9	31,3 ± 2,7	33,3 ± 1,6	33,1 ± 1,9	32,7 ± 0,9
Моноцити, %	4,3 ± 0,2	4,9 ± 0,5	4,8 ± 0,4	5,0 ± 0,9	4,9 ± 0,5	4,8 ± 0,4	4,8 ± 0,4	4,9 ± 0,5	4,8 ± 0,4	4,1 ± 0,1

Примітка: * — статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Реєстрували статистично достовірне збільшення кількості лейкоцитів з 6,4 г/л до 13,4 г/л в порівнянні з фоновими показниками, еозинофілів з 3,7 до 7,8 %, сегментоядерних нейтрофілів з 18,3 до 29,2 %. За даними табл. 2, після обробки інсектоакарицидним препаратом «Делікс» у собак спостерігали зниження кількості гемоглобіну з 147,3 до 113,4 г/л.

Таблиця 3 — Морфологічні показники крові кролів після обробки інсектоакарицидним засобом «Ектоцид-плюс» ($M \pm m, n = 5$)

Найменування	Конт-роль	Величина показників крові тварин								
		До об-робки	після першої обробки, через добу				після другої обробки, через добу			
			1	3	5	7	1	3	5	7
Гемоглобін, Г/л	112,5 ± 0,7	111,5 ± 0,6	112,2 ± 0,6	111,5 ± 0,6	110,9 ± 0,8*	110,1 ± 0,4*	110,6 ± 0,4*	113,7 ± 0,9	112,2 ± 0,6	111,5 ± 0,6
Еритроцити, Т/л	5,2 ± 0,1	5,2 ± 0,1	5,6 ± 0,4	5,7 ± 0,5	5,2 ± 0,1	5,2 ± 0,1	5,8 ± 0,6	5,1 ± 0,2	5,2 ± 0,1	5,2 ± 0,1
Лейкоцити, Г/л	6,7 ± 0,4	6,3 ± 0,2	7,0 ± 0,2	6,7 ± 0,1	6,3 ± 0,3	6,3 ± 0,1	6,4 ± 0,2	6,7 ± 0,2	6,4 ± 0,1	6,4 ± 0,1
Еозинофіли, %	2,3 ± 0,5	2,4 ± 0,6	2,6 ± 0,7	2,7 ± 0,7	2,7 ± 0,8	2,7 ± 0,8	2,6 ± 0,7	2,7 ± 0,8	2,6 ± 0,7	2,6 ± 0,7
Нейтрофіли, %										
– паличкоядерні	1,6 ± 0,6	1,7 ± 0,5	1,6 ± 0,5	1,8 ± 0,5	1,6 ± 0,5	1,6 ± 0,3	1,6 ± 0,5	1,7 ± 0,5	1,6 ± 0,3	1,6 ± 0,3
– сегментоядерні	14,0 ± 1,3	15,0 ± 1,6	15,1 ± 1,6	16,0 ± 1,7	15,2 ± 1,6	16,2 ± 1,7	16,1 ± 1,7	16,2 ± 1,0	15,1 ± 1,6	14,0 ± 1,3
Лімфоцити, %	76,7 ± 2,1	77,7 ± 2,1	77,8 ± 2,8	77,6 ± 1,3	77,8 ± 1,4	77,8 ± 2,8	77,7 ± 2,8	77,7 ± 1,5	77,7 ± 2,8	77,7 ± 2,8
Моноцити, %	2,4 ± 0,2	2,6 ± 0,5	2,8 ± 0,7*	2,9 ± 0,8*	2,4 ± 0,2	2,6 ± 0,5	2,8 ± 0,7*	2,9 ± 0,8*	2,4 ± 0,2	2,6 ± 0,5

Примітка: * — статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Таблиця 4 — Морфологічні показники крові собак після обробки інсектоакарицидним засобом «Ектоцид-плюс» ($M \pm m, n = 5$)

Найменування	Конт-роль	Величина показників крові тварин								
		До об-робки	після першої обробки, через добу				після другої обробки, через добу			
			1	3	5	7	1	3	5	7
Гемоглобін, Г/л	166,3 ± 0,6	156,3 ± 0,6	155,2 ± 0,6	151,4 ± 0,1*	156,4 ± 0,7	155,3 ± 0,6	152,4 ± 0,3	151,4 ± 0,2*	151,4 ± 0,2*	154,0 ± 0,5
Еритроцити, Т/л	5,7 ± 0,5	5,6 ± 0,4	5,2 ± 0,3	5,1 ± 0,1*	5,4 ± 0,2	5,8 ± 0,2	5,0 ± 0,1*	5,5 ± 0,2	5,5 ± 0,2	5,7 ± 0,3
Лейкоцити, Г/л	9,1 ± 0,2	9,4 ± 0,5	9,2 ± 0,3	9,3 ± 0,4	9,7 ± 0,6 *	9,3 ± 0,4	9,6 ± 0,5*	9,8 ± 0,7*	9,6 ± 0,5 *	9,3 ± 0,4
Еозинофіли, %	5,4 ± 0,7	6,4 ± 0,7	7,2 ± 0,6*	7,2 ± 0,6*	5,8 ± 0,5	5,5 ± 0,5	6,4 ± 0,8*	6,2 ± 0,6 *	5,7 ± 0,7	5,4 ± 0,3
Нейтрофіли, %										
– паличкоядерні	4,7 ± 0,6	3,7 ± 0,3	3,8 ± 0,5	4,1 ± 0,6	4,0 ± 0,5	3,8 ± 0,5	4,9 ± 0,9*	4,9 ± 0,9*	4,2 ± 0,6	4,8 ± 0,8*
– сегментоядерні	57,4 ± 1,5	54,4 ± 1,5	50,4 ± 1,2	54,1 ± 1,2	52,6 ± 1,5	50,1 ± 0,5	58,0 ± 0,6*	55,1 ± 1,0*	55,0 ± 0,4*	50,6 ± 0,8
Лімфоцити, %	33,1 ± 1,1	35,1 ± 1,1	31,6 ± 0,8	31,5 ± 3,0	32,1 ± 0,7*	31,2 ± 2,7	30,3 ± 2,5	32,3 ± 1,6*	32,1 ± 1,8*	31,7 ± 0,8
Моноцити, %	3,6 ± 0,5	3,8 ± 0,5	3,4 ± 0,5	3,2 ± 0,4	3,6 ± 0,5*	3,8 ± 0,5*	3,4 ± 0,5	3,2 ± 0,4	3,8 ± 0,5*	3,6 ± 0,5*

Примітка: * — статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Реєстрували статистично достовірне збільшення кількості лейкоцитів з 9,2 до 15,9 г/л у порівнянні з фоновими показниками, а в лейкоцитарній формулі — еозинофілів з 6,9 до 8,2 % і сегментоядерних — з 49,4 до 89,0 % нейтрофілів.

За даними табл. 3 гематологічні показники дослідних кролів до і після обробки інсектоакарицидним препаратом «Ектоцид-плюс» у зазначені терміни знаходилися в межах фізіологічної норми і достовірно не відрізнялися один від одного.

Після обробки інсектоакарицидним препаратом «Ектоцид-плюс» гематологічні показники собак за даними табл. 4 також знаходилися в межах фізіологічної норми і достовірно не відрізнялися один від одного.

Основним принципом біохімічної діагностики є дослідження оптимального спектра показників, зміна яких є характерною для патології органів і тканин тварин. З діагностичною і прогностичною метою використовують ферменти, активність яких змінюється навіть при незначному порушенні гомеостазу. Поява в крові неспецифічних ферментів може бути наслідком порушення біологічних мембран, руйнування клітин або результатом захисної реакції організму.

Поряд з ферментами важливу роль в обмінних процесах відіграють вуглеводи — основні джерела енергії. Найбільш важливе клінічне значення з них належить глюкозі. Для оцінки клінічного стану тварин використовують показники білкового обміну. У плазмі крові в нормі міститься більше 100 видів білків. Зміна вмісту загального білка в сироватці крові, як відомо, відбувається при уповільненні процесів синтезу білка, посиленому розпаді і втрати білка, порушенні водного балансу.

Результати вивчення впливу інсектоакарицидних препаратів на рівень загального білка і його фракцій в сироватці крові кролів та собак після дворазової обробки інсектоакарицидними препаратами «Делікс» і «Ектоцид-плюс» представлені в табл. 5–6.

Таблиця 5 — Рівень загального білка і його фракцій у сироватці крові кролів після двократної обробки інсектоакарицидними засобами «Делікс» та «Ектоцид-плюс» ($M \pm m$, $n = 5$)

Назва показників	Конт- роль	До об- робки тварин	Час спостереження, через...(доба)					
			Після першої обробки			Після повторної обробки		
			3	5	7	14	21	31
Засіб «Делікс»								
Загальний білок, г/л	62,80 ± 0,48	60,61 ± 0,47	48,22 ± 0,30*	56,83 ± 0,29*	54,62 ± 0,48	54,13 ± 0,40*	53,74 ± 0,28*	55,01 ± 0,54
Білкові фракції в сироватці, %:								
альбуміни	44,24 ± 0,56	44,23 ± 0,54	44,23 ± 0,54	44,21 ± 0,52	44,20 ± 0,51	44,23 ± 0,54	44,25 ± 0,57	44,26 ± 0,58
α-глобуліни	25,86 ± 0,26	25,86 ± 0,26	26,87 ± 0,25*	26,90 ± 0,23*	26,86 ± 0,26*	26,89 ± 0,27*	26,87 ± 0,25*	26,66 ± 0,28
β-глобуліни	10,76 ± 0,10	10,78 ± 0,12	12,97 ± 0,20*	13,76 ± 0,20*	13,34 ± 0,16*	13,40 ± 0,14*	13,71 ± 0,09*	12,58 ± 0,27
γ-глобуліни	26,31 ± 0,38	26,29 ± 0,38	26,19 ± 0,27	26,41 ± 0,42*	26,31 ± 0,38	26,28 ± 0,36	26,31 ± 0,38	26,38 ± 0,36*
Засіб «Ектоцид-плюс»								
Загальний білок, г/л	64,23 ± 0,38	64,25 ± 0,38	63,72 ± 0,28*	63,52 ± 0,26*	64,12 ± 0,37	73,84 ± 0,58*	64,32 ± 0,39	64,51 ± 0,47
Білкові фракції в сироватці, %:								
альбуміни	36,28 ± 0,16	36,27 ± 0,17	35,04 ± 0,12*	35,62 ± 0,12*	36,21 ± 0,14	36,16 ± 0,12	36,69 ± 0,18*	36,21 ± 0,14
α-глобуліни	25,52 ± 0,25	25,53 ± 0,25	25,01 ± 0,31	25,90 ± 0,3*	25,47 ± 0,24	25,59 ± 0,26	25,87 ± 0,29*	25,66 ± 0,28
β-глобуліни	10,75 ± 0,18	10,75 ± 0,18	10,65 ± 0,14	10,80 ± 0,19	10,72 ± 0,17	10,60 ± 0,15	10,58 ± 0,13	10,69 ± 0,16
γ-глобуліни	26,05 ± 0,23	26,07 ± 0,23	26,29 ± 0,31*	26,14 ± 0,26	26,13 ± 0,48*	26,22 ± 0,28*	26,09 ± 0,24	26,11 ± 0,25

Примітка: * — статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Таблиця 6 — Рівень загального білка і його фракцій в сироватці крові собак після двократної обробки інсектоакарицидними засобами «Делікс» та «Ектоцид-плюс» ($M \pm m, n = 5$)

Назва показників	Контр-роль	До об-робки тварин	Час спостереження, через...(доба)					
			Після першої обробки			Після повторної обробки		
			3	5	7	14	21	31
Засіб «Делікс»								
Загальний білок, г/л	73,52 ± 0,57	73,94 ± 0,58	68,81 ± 0,48*	74,47 ± 0,68	74,65 ± 0,69*	74,43 ± 0,67*	72,51 ± 0,42*	74,31 ± 0,63
Білкові фракції в сироватці, %:								
альбуміни	46,80 ± 0,67	46,87 ± 0,72	45,28 ± 0,54*	47,09 ± 0,78*	46,70 ± 0,57	46,54 ± 0,52	46,21 ± 0,47	46,12 ± 0,42
α-глобуліни	19,24 ± 0,16	16,87 ± 0,18	15,28 ± 0,38*	16,44 ± 0,34	16,81 ± 0,32	16,90 ± 0,42*	16,14 ± 0,25	16,81 ± 0,37*
β-глобуліни	10,16 ± 0,02	10,18 ± 0,04	11,18 ± 0,17*	11,38 ± 0,02*	10,20 ± 0,05	10,27 ± 0,06	10,53 ± 0,08	11,26 ± 0,12*
γ-глобуліни	24,20 ± 0,35	24,23 ± 0,36	23,77 ± 0,27*	24,11 ± 0,34	24,26 ± 0,38	24,19 ± 0,35	24,15 ± 0,30*	24,18 ± 0,46
Засіб «Ектоцид-плюс»								
Загальний білок, г/л	68,7 ± 0,86	68,9 ± 0,86	68,8 ± 0,97*	68,3 ± 0,76*	68,8 ± 0,78	68,8 ± 0,98*	68,7 ± 0,84	68,7 ± 0,77*
Білкові фракції в сироватці, %:								
альбуміни	41,42 ± 0,64	41,42 ± 0,64	41,18 ± 0,59	41,22 ± 0,60	41,29 ± 0,63	41,45 ± 0,65	41,47 ± 0,67	41,50 ± 0,66
α-глобуліни	19,22 ± 0,11	19,23 ± 0,12	19,17 ± 0,10	19,22 ± 0,11	19,25 ± 0,13	19,26 ± 0,14	19,28 ± 0,16	19,27 ± 0,15
β-глобуліни	10,96 ± 0,23	10,94 ± 0,22	10,89 ± 0,19	10,81 ± 0,16	10,91 ± 0,21	10,98 ± 0,24	10,91 ± 0,22	10,98 ± 0,24
γ-глобуліни	24,65 ± 0,26	24,68 ± 0,28	24,75 ± 0,32	24,64 ± 0,26	24,42 ± 0,24	24,50 ± 0,25	24,50 ± 0,25	24,69 ± 0,27

Примітка: * — статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Дані табл. 5 показують, що при обробці кролів препаратом «Делікс» кількість загального білка за період дослідження незначно знижувалась на третю добу з 60,61 до 48,22 г/л. При цьому кількість α- і β-глобулінових фракцій протягом періоду дослідження зростала з 25,86 до 26,90 % і 10,78 до 13,76 %, відповідно. Кількість γ-глобулінів залишалась в межах 26,29–26,41 %. Кількість білка і білкових фракцій при обробці кролів інсектоакарицидним препаратом «Ектоцид-плюс» в робочих концентраціях не мали достовірних відмінностей.

При обробці собак інсектоакарицидним препаратом «Делікс», на третю добу (табл. 6) спостерігали зниження кількості загального білка з 73,94 до 68,81 г/л. Кількість α-глобулінових фракцій на третій день знижувалась з 16,87 до 15,28 %, а на сьомий день досягала величини 16,81 %. Вміст β-глобулінової фракції зростав на п'яту добу з 10,18 до 11,38 % з поверненням до початкових показників на сьому добу. Рівень γ-глобулінових фракцій на третій день знизився з 24,23 до 23,77 %, а потім зростав до 24,26 %. При обробці собак інсектоакарицидним препаратом «Ектоцид-плюс» показники рівня загального білка і його фракцій в сироватці крові залишалися без істотних змін.

Зміни біохімічних показників крові, які характеризують стан печінки після обробки кролів і собак інсектоакарицидними препаратами «Делікс» та «Ектоцид-плюс» представлені в табл. 7–8.

Дані табл. 7 показують, що у дослідних кролів усі показники знаходяться в межах фізіологічної норми. Крім цього, простежується тенденція до збільшення таких показників як АлАТ до 55,84 Од/л, АсАТ до 15,92 Од/л і тригліцеридів до 1,94 ммоль/л за застосування препарату «Делікс», а також АлАТ до 43,28 Од/л, АсАТ до 14,81 Од/л і тригліцеридів до 1,66 ммоль/л за використання препарату «Ектоцид-плюс» у порівнянні з фоновими показниками.

Таблиця 7 — Біохімічні показники крові, які характеризують стан печінки кролів при обробці інсектоакарицидними засобами «Делікс» та «Ектоцид-плюс» ($M \pm m, n = 5$)

Назва показників	Контроль	До обробки тварин	Час спостереження, через...(доба)					
			Після першої обробки			Після повторної обробки		
			3	5	7	14	21	31
Засіб «Делікс»								
Загальний білірубін, мкмоль/л	4,24 ± 0,09	4,22 ± 0,08	4,18 ± 0,07	4,44 ± 0,12*	4,23 ± 0,09	4,23 ± 0,09	4,27 ± 0,10	4,56 ± 0,14*
AST, Од/л	7,22 ± 0,11	7,25 ± 0,12	15,92 ± 0,38*	15,74 ± 0,34*	12,78 ± 0,28*	12,92 ± 0,27*	15,86 ± 0,36*	15,71 ± 0,35*
ALT, Од/л	42,40 ± 0,38	42,38 ± 0,37	55,84 ± 0,49*	55,25 ± 0,42*	52,17 ± 0,35*	53,51 ± 0,40*	55,40 ± 0,52*	54,78 ± 0,56*
Лужна фосфатаза, Од/л	28,12 ± 0,27	29,16 ± 0,28	27,11 ± 0,24	24,51 ± 0,21	29,67 ± 0,26	28,67 ± 0,25	25,75 ± 0,22	29,35 ± 0,25
Тригліцериди, ммоль/л	1,64 ± 0,13	1,64 ± 0,13	1,94 ± 0,18*	1,90 ± 0,17*	1,48 ± 0,12*	1,56 ± 0,14	1,71 ± 0,15*	1,73 ± 0,16*
Холестерин, мкмоль/л	1,37 ± 0,10	1,61 ± 0,12	1,68 ± 0,18*	1,88 ± 0,16*	1,88 ± 0,16*	1,81 ± 0,15*	1,95 ± 0,19*	1,93 ± 0,18*
Засіб «Ектоцид-плюс»								
Загальний білірубін, мкмоль/л	4,64 ± 0,14	3,34 ± 0,03	3,37 ± 0,05	4,47 ± 0,13*	3,31 ± 0,02	3,64 ± 0,09	4,18 ± 0,10*	4,52 ± 0,16*
AST, Од/л	6,78 ± 0,19	6,76 ± 0,16	13,65 ± 0,36*	14,81 ± 0,48*	12,91 ± 0,20*	13,45 ± 0,30*	14,05 ± 0,40*	14,54 ± 0,45*
ALT, Од/л	37,12 ± 0,33	37,14 ± 0,34	43,28 ± 0,48*	41,13 ± 0,41*	41,75 ± 0,42*	43,28 ± 0,48*	41,55 ± 0,54*	39,21 ± 0,37
Лужна фосфатаза, Од/л	29,48 ± 0,28	28,45 ± 0,27	27,95 ± 0,22*	27,87 ± 0,24*	28,75 ± 0,24	28,87 ± 0,24*	28,10 ± 0,16*	28,68 ± 0,22*
Тригліцериди, ммоль/л	1,42 ± 0,10	1,45 ± 0,12	1,57 ± 0,18*	1,66 ± 0,21*	1,47 ± 0,13	1,48 ± 0,12	1,54 ± 0,17*	1,59 ± 0,19*
Холестерин, мкмоль/л	0,96 ± 0,01	0,98 ± 0,02	1,22 ± 0,07*	1,34 ± 0,12*	1,01 ± 0,05*	0,99 ± 0,03	1,24 ± 0,09*	1,20 ± 0,08*

Примітка: * — статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Кількість загального білірубіну знаходилась в межах від 4,18 до 4,56 мкмоль/л за застосування препарату «Делікс» та від 3,37 до 4,52 мкмоль/л за використання препарату «Ектоцид-плюс». Рівень холестерину був в межах від 1,68 до 1,95 мкмоль/л (препарат «Делікс») та від 0,98 до 1,34 мкмоль/л (препарат «Ектоцид-плюс»). Рівень лужної фосфатази так само був відносно стабільним в межах від 27,11 до 29,67 Од/л (препарат «Делікс») та від 27,95 до 28,87 Од/л (препарат «Ектоцид-плюс»).

При обробці собак інсектоакарицидними препаратами «Делікс» і «Ектоцид-плюс» (табл. 8) спостерігалось підвищення рівня АлАТ до 59,12 %, АсАТ до 9,56 % (препарат «Делікс») і рівня АлАТ до 50,68 %, АсАТ до 8,21 % (препарат «Ектоцид-плюс»). Інші показники: загальний білірубін, лужна фосфатаза, тригліцериди і холестерин були без істотних змін.

Висновки та перспективи подальших досліджень. За результатами досліджень встановлено, що за застосування препарату «Делікс» у дослідних кролів спостерігали зниження кількості гемоглобіну з 111,5 до 100,5 г/л., збільшення кількості лейкоцитів з 6,4 г/л до 13,4 г/л, еозинофілів — з 3,7 % до 7,8 %, сегментоядерних нейтрофілів — з 18,3 % до 29,2 %. Гематологічні показники дослідних кролів після обробки препаратом «Ектоцид-плюс» знаходилися в межах фізіологічної норми і достовірно не відрізнялися один від одного.

Після застосування препарату «Делікс» у собак спостерігали зниження кількості гемоглобіну з 147,3 до 113,4 г/л., збільшення кількості лейкоцитів з 9,2 до 15,9 г/л., еозинофілів — з 6,9 до 8,2 % і сегментоядерних — з 49,4 до 89,0 % нейтрофілів. Гематологічні показники дослідних собак за обробки препаратом «Ектоцид-плюс» знаходилися в межах фізіологічної норми і достовірно не відрізнялися один від одного.

Таблиця 8 — Біохімічні показники крові, які характеризують стан печінки собак при обробці інсектоакарицидними засобами «Делікс» та «Ектоцид-плюс» ($M \pm m$, $n = 5$)

Назва показників	Контроль	До обробки тварин	Час спостереження, через... (доба)					
			Після першої обробки			Після повторної обробки		
			3	5	7	14	21	31
Засіб «Делікс»								
Загальний білірубін, мкмоль/л	3,28 ± 0,07	3,30 ± 0,09	4,21 ± 0,12*	3,20 ± 0,05	4,27 ± 0,14*	3,24 ± 0,08	3,22 ± 0,06	4,21 ± 0,12*
AST, Од/л	8,48 ± 0,12	8,48 ± 0,12	9,56 ± 0,34*	9,51 ± 0,30*	8,92 ± 0,25	8,98 ± 0,21	9,08 ± 0,19*	8,62 ± 0,14
ALT, Од/л	44,10 ± 0,47	44,12 ± 0,48	59,12 ± 0,63*	56,14 ± 0,58*	42,78 ± 0,45	49,18 ± 0,48	57,40 ± 0,62*	57,09 ± 0,59*
Лужна фосфатаза, Од/л	36,12 ± 0,36	36,18 ± 0,38	29,81 ± 0,28	24,42 ± 0,23	31,05 ± 0,33	36,81 ± 0,41	28,71 ± 0,25	22,87 ± 0,18
Тригліцериди, ммоль/л	0,40 ± 0,26	0,41 ± 0,28	0,44 ± 0,29	0,47 ± 0,30	0,35 ± 0,22	0,35 ± 0,22	0,39 ± 0,25	0,44 ± 0,29
Холестерин, мкмоль/л	5,52 ± 0,11	5,55 ± 0,12	5,58 ± 0,15	5,74 ± 0,18	5,21 ± 0,09	5,51 ± 0,11	5,35 ± 0,10	5,63 ± 0,16
Засіб «Ектоцид-плюс»								
Загальний білірубін, мкмоль/л	4,38 ± 0,09	4,39 ± 0,10	5,37 ± 0,19*	5,20 ± 0,16*	4,57 ± 0,12	4,95 ± 0,15	5,23 ± 0,16*	5,14 ± 0,15*
AST, Од/л	7,40 ± 0,21	7,41 ± 0,22	8,15 ± 0,42*	8,21 ± 0,36*	7,40 ± 0,21	7,67 ± 0,32	7,89 ± 0,36	7,94 ± 0,38
ALT, Од/л	33,70 ± 0,34	33,72 ± 0,35	42,12 ± 0,52*	46,64 ± 0,45*	34,68 ± 0,41	32,77 ± 0,36	50,68 ± 0,63*	32,74 ± 0,31
Лужна фосфатаза, Од/л	37,28 ± 0,30	37,30 ± 0,32	36,11 ± 0,26	33,42 ± 0,28	40,03 ± 0,43*	37,81 ± 0,37	35,83 ± 0,24	35,21 ± 0,20
Тригліцериди, ммоль/л	0,65 ± 0,06	0,65 ± 0,06	0,56 ± 0,02	0,65 ± 0,06	0,62 ± 0,04	0,58 ± 0,03	0,63 ± 0,04	0,57 ± 0,06
Холестерин, мкмоль/л	3,28 ± 0,08	3,30 ± 0,09	4,26 ± 0,14*	4,22 ± 0,12*	3,45 ± 0,08	4,09 ± 0,12*	4,45 ± 0,18*	4,34 ± 0,16*

Примітка: * — статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

За обробки кролів препаратом «Делікс» кількість загального білка за період дослідження незначно знижувалася на третю добу з 60,61 до 48,22 г/л відповідно. При цьому кількість α - і β -глобулінових фракцій протягом періоду дослідження зростала з 25,86 до 26,90 % і 10,78 до 13,76 % відповідно. Кількість γ -глобулінів залишалась у межах 26,29–26,41 %. За обробки кролів препаратом «Ектоцид-плюс» показники рівня загального білка і його фракцій у сироватці крові залишалися без істотних змін.

За обробки собак препаратом «Делікс», на третю добу спостерігали зниження кількості загального білка з 73,9 до 68,8 г/л. Кількість α -глобулінових фракцій на третій день знижувалась з 16,87 до 15,28 %, а на сьомий день досягала величини 16,81 %. Вміст β -глобулінової фракції зростав на п'яту добу з 10,18 до 11,38 % з поверненням до початкових даних на сьому добу. Рівень γ -глобулінових фракцій на третій день знизився з 24,23 до 23,77 %, а потім зростав до 24,26 %. За обробки собак препаратом «Ектоцид-плюс» показники рівня загального білка і його фракцій у сироватці крові залишалися без істотних змін.

Після застосування препаратів «Ектоцид-плюс» і «Делікс» була відмічена тенденція до збільшення таких показників, як АлАТ, АсАТ і тригліцеридів. Показники кількості загального білірубину, рівня холестерину та лужної фосфатази за дії інсектоакарицидних препаратів залишалися відносно стабільними.

Таким чином за вивчення в порівняльному аспекті фармако-токсикологічних властивостей препаратів «Делікс» та «Ектоцид-Плюс» на основі синтетичних піретроїдів для лікування акарозів дрібних свійських тварин більш перспективним виявився препарат «Ектоцид-Плюс». Цей препарат ми рекомендуємо для застосування у ветеринарній практиці (як імпортозаміщуючий засіб).

Список літератури

1. Корчан Л. М., Бондар А. Є. Ефективність застосування препаратів орідерміл-гель та отоферонол голд за отодектозу у котів і собак. *Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині: матеріали ІІ Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції 4-5 квітня 2017 р., Україна, м. Полтава.* 2017. С. 110–112.
2. Пашкевич И. Ю. Отодектоз плотоядных животных. *Актуальные проблемы ветеринарной паразитологии на современном этапе: материалы международной научнопрактической конференции, УО ВГАВМ, Витебск, 2–4 ноября 2017.* 2017. С. 67–73.
3. Костина М. Н., Мальцева М. М., Лопатина Ю. В. Зависимость эффективности и безопасности соединений от препаративной формы. *Эпидемиология и санитария.* 2011. № 1. С. 48-50.
4. Гальчинська О. К., Козловська А. В. Отодектоз котів: сучасні підходи у діагностиці та лікуванні. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України.* 2015. № 6. 17 с.
5. Tiwari R. M., Sinha M. *Veterinary Toxicology.* Jaipur : Oxford Book Company, 2010.
6. Romich J. A. *Fundamentals of Pharmacology for Veterinary Technicians : Second Edition.* Clifton Park, NY : Delmar, Cengage Learning, 2010. 716 p.
7. Peterson M., Talcott P. A. *Small Animal Toxicology.* 3rd edition. St. Louis, Missouri : Elsevier, 2013. 928 p.
8. Косарев В. В. и др. *Клиническая фармакология.* Феникс : Ростов-на-Дону, 2008. 348 с.
9. Osweiler G. D. et al. *Small Animal Toxicology.* Ames, Iowa : Blackwell, 2011. 701 p.
10. Кондрахин И. П., Курилов И. В., Малахов А. Г. *Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии.* Москва : Агропромиздат, 1985. 286 с.
11. Дервиз Г. В., Воробьев А. И. Количественное определение гемоглобина крови посредством аппарата ФЭК-М. *Лабораторное дело.* 1959. № 3. С. 3–8.
12. Заболоцкий В. Т., Поляков В. Ф. Методика подсчета эритроцитов на колориметре типа ФЭК-М. *Тр. Всерос. науч.-исслед. ин-та экспериментальной ветеринарии им. Я. П. Коваленко.* Москва, 1965. Т. 31. С. 281-286.
13. Меньшиков В. В. и др. *Лабораторные методы исследования в клинике : справочник.* Москва : Медицина, 1987. 368 с.
14. Меньшиков В. В., Делекторска Л. Н. Применение международной системы единиц в клинической лабораторной диагностике. *Лабораторное дело.* 1977. № 11. С. 699–701.
15. Рокицкий П. Ф. *Биологическая статистика.* Минск : Высшая школа, 1973. 320 с.

STUDY OF THE INFLUENCE OF INSECTOACARICIDAL DRUGS “DELIK” AND “ECTOCID-PLUS” ON THE MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICATORS OF THE ANIMAL BLOOD

*Nikiforova O. V.¹, Ponomarenko O. V.¹, Sumakova N. V.²,
Garkusha I. V.¹, Ladogubets O. V.¹, Duchenko K. A.¹*

¹ *State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine*

² *National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine*

The results of research on the morphological and biochemical indicators of the animal blood of animals during their treatment with the insectoacaricidal drugs “Deliks” and “Ectocid-Plus” are presented. It has been established that during the treatment of rabbits and dogs with the insectoacaricidal drugs “Deliks” and “Ectocid-Plus”, the morphological and biochemical parameters of the animal blood remained relatively stable

Keywords: rabbits, dogs, otodectosis, psoroptosis

ЗМІСТ

1. ПРОБЛЕМИ БІОБЕЗПЕКИ ТА БІОЗАХИСТУ. ЕМЕРДЖЕНТНІ ІНФЕКЦІЇ

<i>Стегній Б. Т., Герілович А. П., Герілович І. О., Пешенко К. Л.</i> СИСТЕМА ЛАБОРАТОРНОЇ БІОБЕЗПЕКИ І БІОЗАХИСТУ: ГАРМОНІЗАЦІЯ НОРМАТИВНО-ДОКУМЕНТАЛЬНОЇ БАЗИ З ВИМОГАМИ ЄС ТА МЄБ.....	5
---	---

2. ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ ТА МІКРОБІОЛОГІЯ

<i>Завгородній А. І., Калашник М. В., Білушко В. В., Калашник Н. В., Позмогова С. А., Кіптенко А. В., Бусол В. О., Поступний В. А.</i> СПОСІБ ПЕРЕДПОСІВНОЇ ОБРОБКИ БІОМАТЕРІАЛУ ПРИ ДОСЛІДЖЕННІ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ.....	10
<i>Рудова Н. Г., Солодянкін О. С., Лиманська О. Ю.</i> ПОРІВНЯННЯ НАБОРІВ ПРАЙМЕРІВ ТА ЗОНДІВ ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ВІРУСУ ГЕПАТИТУ Е ЗА ДОПОМОГОЮ ПЛР У РЕАЛЬНОМУ ЧАСІ.....	16

3. ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

<i>Нікітіна А. О., Музика Д. В.</i> ПТАХИ РЯДУ ГОРОБЦЕПОДІБНИХ (PASSERIFORMES) ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ РЕЗЕРВУАР ТА ПЕРЕНОСНИКИ ВІРУСУ ГРИПУ А (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	22
<i>Майборода О. В., Ечкенко Р. В., Рула О. М., Стегній Б. Т., Музика Д. В.</i> МОНІТОРИНГ БАКТЕРІАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ТА ДИКОЇ ПТИЦІ У 2016–2020 РОКАХ В УКРАЇНІ, ПРОГНОЗУВАННЯ ЕПІЗООТИЧНОЇ СИТУАЦІЇ.....	29

4. ЯКІСТЬ І БЕЗПЕЧНІСТЬ ПРОДУКЦІЇ ТВАРИННИЦТВА. ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНА ЕКСПЕРТИЗА. ВЕТЕРИНАРНА ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ТОКСИКОЛОГІЯ

<i>Богач М. В., Стегній О. О., Селіщева Н. В., Богач Д. М.</i> ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ КОНТАМІНАЦІЇ ПОВЕРХОНЬ ПРИМІЩЕНЬ, ОБЛАДНАННЯ, ШКАРАЛУПИ ЯЄЦЬ В УМОВАХ ВИРОБНИЦТВА.....	36
<i>Ісіченко Н. В., Дегтяр І. І., Степанов В. В., Хазикова Н. М.</i> ЗАСТОСУВАННЯ ДЕЗІНФЕКЦІЙНОГО ПРЕПАРАТУ БЛАНІДАС ДЛЯ ЗНЕЗАРАЖЕННЯ ГРЕНИ ШОВКОВИЧНОГО ШОВКОПРЯДА (ВОМВУХ MORI L.) ВІД БОВЕРІОЗУ НА ВИГОДІВЛЯХ.....	40
<i>Ярошенко М. О., Кольчик О. В.</i> БАКТЕРІАЛЬНО-МІКОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ КОРМІВ ДЛЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ПТИЦІ І СВИНЕЙ З РІЗНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ ЗА 2022 РІК.....	44
<i>Коваленко Л. В., Бойко В. С., Руденко О. П., Бусол В. О., Драгуть С. С., Долецький С. П.</i> СКРИНІНГ ПОРУШЕНЬ ЯКОСТІ КОРМІВ У ТВАРИННИЦЬКИХ ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ У 2021 РОЦІ.....	55
<i>Наливайко Л. І., Бойко В. С., Орбченко О. Л.</i> ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ДЕЗПРЕПАРАТУ САНДЕЗВЕТ НА ЩУРАХ.....	60
<i>Євтушенко О. С., Десятникова О. В.</i> ВИЗНАЧЕННЯ ОСНОВНИХ ПОКАЗНИКІВ ЯКОСТІ МЕДУ РІЗНОГО БОТАНІЧНОГО ПОХОДЖЕННЯ ЗА ПЕРІОД 2018–2021 РОКІВ	64

5. БІОТЕХНОЛОГІЯ

Рудова Н. Г., Лиманська О. Ю., Бузун А. І. Солодянкін О. С.

РОЗРОБЛЕННЯ ПОЗИТИВНОГО РЕКОМБІНАНТНОГО КОНТРОЛЮ
ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ВІРУСУ ХВОРОБИ АУЄСКИ ЗА ДОПОМОГОЮ ПЛР69

Павлов С. Л.

ВИПРОБУВАННЯ ДІАГНОСТИЧНОГО НАБОРУ «CHLAMYDIA-DNA-TEST»
ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ ХЛАМІДІЙ НА ОСНОВІ
ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ В РЕЖИМІ РЕАЛЬНОГО ЧАСУ73

6. ПАРАЗИТОЛОГІЯ

Богач М. В., Панікар В. І.

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ПРАЗИКВАНТЕЛУ І ЕКСТРАКТУ
ЧАСНИКУ (*ALLIUM SATIVUM*) ЗА ДАКТИЛОГІРОЗУ КОРОПА79

Нікіфорова О. В., Пономаренко О. В., Сумакова Н. В.,

Гаркуша І. В., Ладозубець О. В., Дученко К. А.

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ІНСЕКТОАКАРИЦИДНИХ ПРЕПАРАТІВ
«ДЕЛІКС» ТА «ЕКТОЦИД-ПЛЮС» НА МОРФОЛОГІЧНІ
І БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ТВАРИН83

CONTENTS

1. PROBLEMS OF BIOSAFETY AND BIOSECURITY. EMERGENT INFECTIONS

- Stegniy B. T., Gerilovych A. P., Gerilovych I. O., Peshenko K. L.*
LABORATORY BIOSAFETY AND BIOSECURITY SYSTEM: HARMONIZATION
OF REGULATORY BASE WITH EU AND OIE REQUIREMENTS 5

2. VETERINARY VIROLOGY AND MICROBIOLOGY

- Zavgorodniy A. I., Kalashnyk M. V., Bilushko V. V., Kalashnyk N. V.,
Pozmogova S. A., Kiptenko A. V., Busol V. O., Postupnyi V. A.*
METHOD OF PRELIMINARY TREATMENT OF
BIOMATERIAL AT DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS 10
- Rudova N. G., Solodianskin O. S., Lymanska O. Yu.*
COMPARISON OF PRIMER AND PROBE SETS FOR
HEPATITIS E VIRUS DETECTION BY REAL TIME PCR 16

3. EPIZOOTOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

- Nikitina A. O., Muzyka D. V.*
PASSERIFORM BIRDS AS POTENTIAL RESERVOIRS AND
VECTORS OF INFLUENZA A VIRUS (LITERATURE REVIEW)..... 22
- Maiboroda O. V., Yechkenko R. V., Rula O. M., Stegnyy B. T., Muzyka D. V.*
MONITORING OF BACTERIAL DISEASES OF POULTRY AND WILD BIRDS
IN 2016–2020 IN UKRAINE, FORECASTING THE EPIZOOTIC SITUATION..... 29

4. QUALITY AND SAFETY OF ANIMAL PRODUCTIONS. VETERINARY AND SANITARY EXPERTISE. VETERINARY PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY

- Bogach M. V., Stegnyy O. O., Selishcheva N. V., Bogach D. M.*
DETERMINATION OF THE LEVEL OF CONTAMINATION OF THE SURFACES
OF PREMISES, EQUIPMENT, EGG SHELLS IN PRODUCTION CONDITIONS..... 36
- Isichenko N. V., Degtyar I. I., Stepanov V. V., Khazykova N. M.*
APPLICATION OF PREPARATION BLANIDAS FOR DISINFECTION
OF THE GRAIN OF THE SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.)
FROM *BEAUVERIA BASSIANA* BALS. AT BREEDING..... 40
- Yaroshenko M. O., Kolchuk O. V.*
BACTERIAL AND MYCOLOGICAL MONITORING OF FODDER FOR
POULTRY AND PIGS FROM DIFFERENT REGIONS OF UKRAINE IN 2022..... 44
- Kovalenko L. V., Boiko V. S., Rudenko O. P.,
Busol V. O., Dragut S. S., Doletskyi S. P.*
SCREENING OF FEED QUALITY VIOLATIONS
IN UKRAINIAN LIVESTOCK FARMS IN 2021 55
- Nalyvaiko L. I., Boiko V. S., Orobchenko O. L.*
STUDY OF ACUTE TOXIC EFFECT OF DISINFECTANT SANDEZVET IN RATS 60
- Yevtushenko O. S., Desyatnikova O. V.*
DETERMINATION OF THE MAIN QUALITY INDICATORS OF HONEY
OF DIFFERENT BOTANICAL ORIGIN FOR THE PERIOD OF 2018–2021 64

5. BIOTECHNOLOGY

Rudova N. H., Lymanska O. Yu., Buzun A. I. Solodiankin O. S.
DEVELOPMENT OF A POSITIVE RECOMBINANT CONTROL FOR
THE DETECTION OF THE AUJESZKY'S DISEASE VIRUS USING PCR69

Pavlov S. L.
TESTING OF "CHLAMYDIA-DNA-TEST" DIAGNOSTIC KIT
FOR THE DETECTION OF CHLAMYDIAL GENETIC MATERIAL
BASED ON THE REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION73

6. PARASITOLOGY

Bogach M. V., Panikar V. I.
COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF PRAZIQUANTEL
AND GARLIC EXTRACT (*ALLIUM SATIVUM*) FOR CARP DACTYLOHYROSIS79

**Nikiforova O. V., Ponomarenko O. V., Sumakova N. V.,
Garkusha I. V., Ladogubets O. V., Duchenko K. A.**
STUDY OF THE INFLUENCE OF INSECTOACARICIDAL DRUGS
"DELIKS" AND "ECTOCID-PLUS" ON THE MORPHOLOGICAL
AND BIOCHEMICAL INDICATORS OF THE ANIMAL BLOOD83

НАУКОВЕ ВИДАННЯ

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА
МІЖВІДОМЧИЙ ТЕМАТИЧНИЙ НАУКОВИЙ ЗБІРНИК

Заснований у 1964 році

Випуск 108

Відповідальні за випуск: Завгородній А. І., Вовк Д. В.
Редактори: Вовк Д. В., Пазуцян О. Є., Вовк А. Д.
Технічні редактори: Вовк Д. В., Пазуцян О. Є., Вовк А. Д.

Реєстраційне свідоцтво: Серія КВ № 15925-4397р від 26.10.2009 р.