

Видається з 1996 року

Засновник і видавець
Сумський національний аграрний
університет

Реєстраційне свідоцтво
КВ № 23689-13529 Р від 21.11.2018 р.

Редакційна колегія серії

Шкромада О. І., доктор ветеринарних
наук, доцент, редактор, Сумський
національний аграрний університет
(Україна)

Березовський А. В., доктор
ветеринарних наук, професор
Сумський національний аграрний
університет (Україна)

Євстаф'єва В. О., доктор
ветеринарних наук, професор,
Полтавська державна аграрна академія
(Україна)

Камбур М. Д., доктор ветеринарних
наук, професор, Сумський
національний аграрний університет
(Україна)

Кассіч В. Ю., доктор ветеринарних
наук, професор Сумський національний
аграрний університет (Україна)

Касяненко О. І., доктор ветеринарних
наук, професор Сумський національний
аграрний університет (Україна)

Нагорна Л. В., доктор ветеринарних
наук, доцент Сумський національний
аграрний університет (Україна)

Палій А. П., доктор ветеринарних наук,
професор, ННЦ «Інститут
експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини» (Україна)

Петров Р. В., доктор ветеринарних
наук, професор Сумський національний
аграрний університет (Україна)

Пеца-Кіліб Ева, кандидат
ветеринарних наук,
Вроцлавський університет наук про
довкілля та життя (Польща)

Ребенко Г. І., кандидат ветеринарних
наук, доцент Сумський національний
аграрний університет (Україна)

Сатторов Носирджон., доктор
біологічних наук, доцент, Таджикська
академія сільськогосподарських наук
(Таджикистан)

Скляр О. І., доктор ветеринарних наук,
професор Сумський національний
аграрний університет (Україна)

Сурай П. Ф., доктор біологічних наук,
професор (Великобританія);

Улько Л. Г., доктор ветеринарних наук,
професор Сумський національний
аграрний університет (Україна)

Фотіна Г. А., доктор ветеринарних
наук, професор, Сумський
національний аграрний університет
(Україна)

Фотіна Т. І., доктор ветеринарних наук,
професор, Сумський національний
аграрний університет (Україна)

ВІСНИК СУМСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО АГРАРНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ
Виходить 4 рази на рік.

Серія "Ветеринарна медицина"
Випуск 3 (50), 2020

Герун І. В. Амінокислотний склад молока здорових корів та хворих на кетоз	3
Сластьон Д. С., Коцур О.В., Фотіна Т.І. Вивчення подразливої і токсичної дії дезінфікуючого засобу «Суходез»	9
Фотіна Т.І., Назаренко С. М., Фотін О. В., Тимошенко Р. Ю. Ефективність застосування для птиці фермента з протеолітичною активністю «СІНБЕНЗА® ДП 100» у період несучості	17
Зон І. Г., Зон Г. А., Івановська Л. Б. До епізоотології кишкового ієрсиніозу собак	23
Ping Xu, Tetiana Fotina, Hanna Fotina, Sanhu Wang Establishment of inflammatory model of bovine mammary epithelial cells induced by lipoteichoic acid	31
Березовський А. В., Морозов Б. С. Ефективність препаратів <i>ELITE ZOO ДОГ</i> та <i>ELITE ZOO KET</i> на гельмінтофауну дрібних домашніх тварин	38
Кисилиця В.В., Кладницька Л. В., Сорока Н. М., Величко С. В., Донцова О. І. Порівняльна характеристика методів дослідження собак за дирофіляріозу	44

Науковий журнал
«Вісник Сумського національного
аграрного університету.
Серія: ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА»
визнано фаховим виданням
Категорії «Б» в галузі ветеринарних
наук (наказ МОН України
від 24.09.2020 р. № 1188)

Науковий журнал «Вісник Сумського
національного аграрного
університету» індексується в
Міжнародних наукометричних базах
Index Copernicus, PИHЦ

Матеріали журналу знаходяться у
вільному доступі на сайті
<https://snau.edu.ua>

Усі статті проходять процедуру
таємного рецензування. До публікації
в журналі не допускаються
матеріали, якщо є достатньо підстав
вважати, що вони є плагіатом.
Відповідальність за точність
наведених даних і цитат
покладається на авторів.
Матеріали друкуються українською
та англійською мовами.
У разі цитування посилання на
«Вісник Сумського національного
аграрного університету» обов'язкове

Друкується згідно з рішенням
вченої ради
Сумського національного
аграрного університету
(Протокол № 6 від 30.11.2020 р.)

Адреса видавця та виготовлювача:
40021, м. Суми,
вул. Г. Кондратьєва, 160
Телефон: (0542)70-10-42
E-mail: visnyk.snau@gmail.com
<https://snau.edu.ua>

Тираж 300 пр.
Зам. №6

© Сумський національний
аграрний університет, 2020

АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД МОЛОКА ЗДОРОВИХ КОРІВ ТА ХВОРИХ НА КЕТОЗ

Герун Інеса Володимирівна

аспірант

Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

ORCID: 0000-0002-1674-3410

gerun.inesa@gmail.com

Дефіцит білкового харчування є актуальним як до населення країн з сталим економічним розвитком так і до розвиваючих. Проблема якісного та безпечного харчування населення була і залишається не вирішеною в усьому світі. Отже питання збалансування раціонів для населення є одним із найбільш актуальних для створеної при Організації Об'єднаних Націй продовольчої та сільськогосподарської організації (ФАО). Дослідженню амінокислотного складу білків молока корів приділено значна кількість робіт. Наші дослідження та їх результати направлені на виявленні змін амінокислотного складу білків молока за захворювання корів на кетоз та оцінки харчової цінності молока. Отже результати наших досліджень показують, що є зміни вмісту в сторону зменшення майже всіх амінокислот і особливо не замінних які відіграють важливу роль у житті людини так як вони не синтезують ся в організмі. Так, за нашими даними вміст амінокислоти валін зменшений 22,6 %. Разом з тим бачимо що зменшився також вміст амінокислоти Фенілаланін на 10,1%. Амінокислота лейцин при захворюванні на кетоз знаходиться практично на одному рівні. Вміст незамінної амінокислоти ізолейцин за кетозу зменшився на 39,4%. Наші дослідження показують що кількість треоніну та метіоніну зменшена на 40,2 та 80,7 % відповідно. В білку молока корів є одна із амінокислот яка вважається напівнезамінною для людини, це - аргінін. При захворюванні на кетоз вміст аргініну зменшений на 33,3 %. Аналіз результатів дослідження вмісту замінних амінокислот показав що значна їх частина також має негативну тенденцію. Так, вміст таких амінокислот як пролін та гістидін зменшився на 20,9 та 22,3 % відповідно. Також на 4 та 13,2 % відповідно зменшився вміст таких амінокислот як гліцин та глютамінова кислота. Суттєве зменшення вмісту відзначили у таких амінокислот як лізин та тирозин на 40,8 та 69,5 %. Але нами також відмічено що вміст таких замінних амінокислот як серин та аспаргинова кислота збільшився на 10,5 та 9,5 % відповідно. Отже таке захворювання як кетоз корів призводить не тільки до зниження продуктивності а і до втрати біологічної цінності молока та вироблених із нього молочних продуктів.

Ключові слова: білок молока, амінокислотний склад, харчова цінність, захворювання на кетоз, молоко, корови.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.3.1>

Вступ. Однією з глобальних соціально-економічних проблем є забезпечення населення продуктами харчування. Вирішення цієї проблеми повинно відбуватися на світовому, регіональному та національному рівнях. Харчування було і залишається на першому місці у житті та здоров'ї людини (Hulich, M.P. 2011). В Україні відмічається постійне скорочення дійного поголів'я. За даними державної статистики в 2018 році вироблено молока в межах 10,1 млн. тонн, що в порівнянні з 2009 роком менше на 15 %.. Щоправда, темпи падіння виробництва молока знизилися за рахунок використання сучасних технологій. Зменшення падіння виробництва молока пов'язане з підвищенням продуктивності корів. Моніторинг продуктивності корів показує, що за 2018 рік було отримано 6054 кг, а в 2009 році лише 3915 кг. На переробні підприємства протягом 2018-го, надійшло 4,18 млн. тонн молока, що менше на 10,5 % в порівнянні з 2009 роком. Варто підкреслити, що у структурі надходження сировини молока на переробку в межах 78 % надійшло від великих господарств і лише 22 % від підсобних господарств.

Необхідно відмітити, що за останні роки кількість населення на планеті суттєво збільшилась, разом з тим виникла проблема продовольчого забезпечення людей. Значна кількість розвинених країн все ще справляється з забезпеченням населення харчовими продуктами високої якості та безпечності. Але населення економічно відсталих регіонів не завжди забезпечується висококалорійними харчами з високою біологічною цінністю. Значна частина наукових публікацій вказує, що у населення незадовільний режим харчування, структура харчового раціону і кількість спожитої їжі. У раціоні преваюють дешеві продукти які не можуть повністю

забезпечити організм необхідними поживними речовинами, недостатнім є споживанням м'ясних, молочних, рибних товарів, свіжих овочів та фруктів. Тому, однією із перших структур ООН ще у 1946 році, створена організація ФАО, яка повинна займатися аналізом та вдосконалення раціонів харчування населення всіх країн, а також розробляти заходи щодо профілактики недостатності. Ця організація приділяє особливу увагу білковим компонентам, якнайбільш необхідним у харчовому ланцюзі людей. Тому питання збалансування білково-вуглеводної складової раціонів харчування жителів різних країн є одним з ключових для створеної при ООН Продовольчої та сільськогосподарської організації (ФАО).

Разом з тим, необхідно відмітити, що засвоюваність білків із різних харчів неоднакова. Отже, ще у 1981 році учасники Об'єднаних консультативних зборів експертів ФАО, ВООЗ та УООН (Університету ООН) запропонували використовувати термін «істинної» засвоюваності білка та навели перші дані щодо величини такої засвоюваності для різних білків. На теперішній час отримані результати лабораторних досліджень на тваринах та людях показують, що величини засвоюваності білків таких, наприклад, як білка молока корів - знаходяться у межах 95 %.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Численні дослідження вітчизняних та закордонних науковців вказують про суттєву зміну структури раціону корів в Україні та інших державах. Показники вживання м'яса та молочних продуктів суттєво зменшились, що призводить до погіршення харчування населення. Разом з тим виявлене зменшення використання таких незамінних амінокислот як метіоніну, трипто-

фану і валіну. В раціоні порушено співвідношення між ненасиченими та насиченими жирними кислотами, недостатнє надходження в організм вітамінів А та В2. На теперішній час викликає тривогу суттєве зменшення вживання молока і молочних продуктів (Tsimbalista N.V. та Davydenko N.V., 2008; Hulich M.P., 2011).

Разом з тим молоко отримується не завжди від здорових корів, що впливає на харчову його цінність. Харчова цінність молока залежить у першу чергу від легкозасвоюваних білків, які складаються з амінокислот особливо незамінних для організму людини. Спеціалісти ФАО та ВООЗ провели аналіз амінокислотного складу молока корів та зробили висновок щодо їх харчової цінності. Разом з тим було встановлено кореляційну залежність між загальною засвоюваністю білка та засвоюваністю окремих амінокислот, які містяться у його складі. За даними досліджень ця різниця між величинами не перевищувала 10 %. Тому запропоновано рішення щодо внесення кореляційної поправки на істинну засвоюваність білка достатньо для отримання близьких до клінічних результатів. Отже використовувати окремі поправки щодо кожної амінокислоти недоцільно. Експерти Консультативних зборів рекомендували почати масштабну роботу щодо створення бази даних засвоюваності окремих харчових продуктів та раціонів. На теперішній час ведеться робота по покращення різних порід корів В основі покращення молочний білок та вміст амінокислот які б відповідали вимогам потреб людини.

На теперішній час голштинська порода є одна з найбільш поширених серед молочної худоби. Унікальність голштинської породи полягає у надзвичайно високому рівні трансформації енергії корму в молоко. На сьогодні, виробники молока використовуючи сучасні наукові розробки та великий потенціал даної породи, намагаються отримати як можна вищу продуктивність за одночасного зменшення витрат на корм. Високий потенціал виробництва молока та добрі адаптивні ознаки корів голштинської породи сприяли її поширенню у багатьох частинах світу (Bankovska N.V., 2008; Borshch O.O., 2017). При цьому селекціонери часто ігнорували функціональні ознаки голштинів, що призвело до зниження продуктивності у повновікових корів, погіршення стану здоров'я, отже, додаткових витрат на ветеринарні заходи, проблем з відтворенням та тривалістю господарського використання (довговічності) в цілому по породі. Все це нівелює продуктивні переваги голштинської породи. Нині зростає інтерес до кросбридингу завдяки покращенню функціонального стану помісних корів та складу компонентів молока (Danshy'n V.O., 2016; Dezetter, C., 2015; Ferris, C.P., Heins, B.J., Buckley, F., 2014; Heins, B.J., Hansen, L.B., 2012). Інші аспекти, такі як придатність молока до виробництва певних видів продукції і стійкість до метаболічних та незаразних хвороб, також впливають на те, що цьому напрямку розведення дедалі більше віддають перевагу розвинуті країни світу. Значна частина науковців вказує, що у помісних корів першого покоління суттєво підвищуються продуктивність та довголіття, якісний склад молока, показники відтворення (Рубан С.Ю., 2016, 2017). В Україні в останнє десятиліття, активно формуються стада корів голштинської, української чорно-строкатої та червоно-строкатої порід. Продуктивність яких понад 6 тис. кг молока за лактацію. Тварини цих порід добре пристосовані до промислової технології утримання. Але підвищення продуктивності навіть при задовільному утриманні не пройшло для організму тварин непоміченим. В

зв'язку з цим на перший план виринуло таке захворювання як кетоз. Це захворювання яке на пряму пов'язано з живленням високопродуктивних тварин, особливо в період пізнього сухостою та в перші дві - три неділі після отелення. Це захворювання призводять до виникнення і розвитку хвороб пов'язаних з порушенням обміну речовин та впливає на стан внутрішніх органів таких як: серце, нирки печінка, ендокринні залози, роботу шлунково-кишкового тракту, ураження кінцівок тощо. За кетозу молочних корів порушується вуглеводно-жировий, білковий, енергетичний та мінеральний обміну і як наслідок в організмі накопичуються кетонові тіл (β-оксимасляна, ацетооцтова кислота та ацетон). Разом з тим при дослідження відмічають дистрофічні зміни в печінці, серці, нирках, яєчниках, щитоподібній та прищитоподібній залозах, гіпофізі. Необхідно відмітити, що чим вища продуктивність тим більше кетонових тіл в організмі пряма пропорційна залежність. Виробництво молока це не щось окреме а робота всього організму тому одне тягне за собою інше. Ця хвороба не щось унікальне для України її реєструють в усіх країнах з високорозвиненим молочним тваринництвом, зокрема в таких країнах як США, Канаді та країнах Європи. До цього часу вчені та практики ветеринарної медицини вважають, що захворювання сягає найбільшого розвитку період найвищої продуктивності. Тому пропонують основну увагу звертати на клінічний статус саме в період найвищої лактації. На початку лактації для синтезу молока коровам потрібно більше поживних речовин ніж вони можуть отримати при споживанні корму. Здорова корова на 4 день після отелення використовує енергії на 26 %, а білків – на 25 %. При виробництві молока корова використовує до 97 % отриманої енергії та до 83 % білка і лише незначна частка йде на потреби власного організму. В зв'язку з цим коли корова неспроможна спожити необхідну кількість корму як для виробництва продукції так і для потреб власного організму. В цей період може виникати від'ємний енергетичний баланс. Такий негативний енергетичний баланс може тривати весь період підвищення лактації але особливо він небезпечний на її початку. У період негативного енергетичного балансу дефіцит енергії компенсується за рахунок резервів власного жиру. Внаслідок цього тварина може втратити до 10-12 % живої ваги тіла. Це призводить зменшення резистентності організму і як наслідок відповідної реакції на захворювання. Диспансеризація господарств Сумської (ТОВ АФ «Косівщинська»; ДП «ДГ інститут с/г НААНУ»; ТОВ АФ «Хлібодар»; ТОВ АФ «Маяк»; ТОВ АФ «За Мир»; ТОВ АФ «Перемога» та ТОВ АФ «Надія» Чернігівської області показала що захворювання на кетоз виявляють у межах від 24,3 до 44,4 %. Захворювання частіше виникає у першу – другу неділю після розтелення (Sklyar O.I., Gerun I.V., Kirichuk L.V., 2018). Експериментальне зменшення енергетичного балансу на 25 % проявилось захворюванням на кетоз 80 відсотків корів. Отже дані дослідження показують що основна причина кетозу це дефіцит енергії у раціоні. Разом з тим дефіцит енергії може зростати з розвитком різних патологічних станів приклад таких як: гіпомагнемія, гіпокальцемія, гіпотонії рубця, мастити, метрити, хвороби кінцівок та інше. На початку лактації надмірний білковий корм і порушення зменшення цукру та крохмалю також призводить до захворювання на кетоз. Разом з тим за даними професора Кондрахіна І.П. суттєву роль у виникненні кетозу корів відіграє ожиріння особливо у період сухостою. За його даними вгодваність корів у період сухостою повинна бути у межах 3,5-3,7

бала за 5 бальною шкалою. З погляду професора Кондрахіна І.П. у ожирілої корови знижений апетит відповідно вона не поїдає необхідну кількість корму для вироблення молока, а значить недостачу енергії компенсує з власного жиру що і приводить до накопичення кетонів тіл.

За нашими даними (Sklyar O.I, Gerun I.V, Kirichek L.V, 2018) при захворюванні на кетоз здебільшого спостерігається на першому місяці після отелення що проявляється зниженням продуктивності, в'ялістю, тахікардією, тахіпноєм та зменшенням кількості скорочень рубця. Температура тіла не виходить за межі норми але в середньому зменшена 0,7°C. А як відомо найбільшу кількість продукції та найкращої якості можна отримати лише від здорової тварин. Отже якість та безпечність молока напряму залежить від здоров'я тварини. Однією із найбільш розповсюдженої продукції корів є молоко та молочні продукти вироблені із нього. Які займають найбільший відсоток у структурі раціону людей. Ще колись видатний вчений І.П. Павлов писав, що молоко має не тільки поживні але й лікувальні властивості. Одним із перших харчів у новонароджених є молоко матері. Найбільш розповсюджене у всьому світі є молоко корів. Яке містить у собі не тільки такі компоненти як білки, вуглеводи, жири а й близько 150 інших поживних речовин таких як вітаміни, мікроелементи та макроелементи які використовуються організмом людини в процесі життєдіяльності. Разом з тим, використовуючи молоко та молочні харчі не відповідної якості та безпечності можна нанести суттєву шкоду здоров'ю, так як воно є найкращим поживним середовищем для розвитку патогенних мікроорганізмів. За порушення санітарно-гігієнічних вимог при виробництві, отримання та зберіганні, молоко може стати не придатним для використання. Одним із найбільш розповсюджених захворювань дійного стада яке впливає на якість та безпечність молока є мастит особливо субклінічної форми. Для зменшення захворюваності на мастит на виробництві з метою профілактики необхідно використовувати сучасні знання щодо способів і методів доїння та утримання молочного обладнання в належному санітарному стані. Разом з тим, одним із важливих показників при виробництві молока є безпечність повітря за мікробним забрудненням. При виробництві молока не завжди звертають увагу на чому тварина віддихає тобто яка підлога наскільки вона забруднена в тому числі і мікроорганізмами. Також одним із чинників який направлений на профілактику виникнення та поширення маститу дезінфекція приміщень, доїльного обладнання та гігієна вим'я тварин. На віть на тепер коли наука зробила значний крок у вивчення маститу стовідсотково не вдається його позбутися на жодній із ферм. Це пов'язано з тим що субклінічний мастит особливо на початку захворювання не має ознак. Через це уражена тварина довгий час може знаходитися у стаді. В наслідок цього через молочне обладнання особливо гуму доїльних стаканів може інфікувати інших тварин у стаді. Разом з тим не всі тварини хворіють навіть маючи збудника як в організмі так і на шкірі при цьому вони є переносниками інфекції. Ось чому неможливо повністю оздоровити стадо повністю. Одним із показників санітарного стану стада є постійний контроль вмісту соматичних клітин у збірному молоці, що дозволяє контролювати здоров'я стада та впливає на якість та безпечність молока. Так за даними Тишківської Н.В. (Tyshkivska N.V., 2014) за розвитку запального процесу в молоці корів збільшується кількість сіалових кислот, що пов'язано зі змінами у структурі білків, зростає

кількість імуноглобулінів, як наслідок захисної реакції організму. Масова частка загальних білків вірогідно не змінюється за рахунок сироваткових білків. Наступним показником здоров'я стада є бетагідроксидбарбітуратів (БГБ). В свою чергу субклінічний кетоз як і субклінічний мастит на перших порах не має клінічних ознак. Це захворювання виникає при порушенні годівлі що призводить до негативного обміну речовин і клінічно не проявляється на початку хвороби. В результаті чого втрачається продуктивність та якість молока. Ось чому контроль дотриманням за годівлею тварин є одним із перших у профілактиці кетозу. З цією метою додаванням кормових добавок у складі яких є халатні метали дозволить профілакувати захворюваність на кетоз корів та не допустить зниження якості молока. Отже, систематичний контроль за здоров'ям стада дозволяє отримувати молоко високої якості та безпечності. На теперішній час на ряду з кількістю молока особливу увагу звертають на якість та безпечність. Одним із показників якості є біологічна цінність яка базується на амінокислотному складі білка. Такі білки як казеїн, β -лактоглобулін і α -лактоальбумін в основному синтезуються у секреторному відділі вим'я. Але частина речовин що йде на синтез білків потрапляє в альвеолярні клітини молока через капілярну сітку із крові. Отже в утворенні молока приймає участь весь організм а не лише вим'я. А значить на його якість та безпечність впливає стан здоров'я тварин. За даним Р.І. Білик (2007) при захворюванні корів на лейкоз в амінокислотному складі білків молока, відмічається зниження кількісних і якісних показників. Так за його даними у молоці хворих тварин вміст незамінних амінокислот зменшений порівняно до здорової, що вказує на зниження їх синтезу. Разом з тим навпаки збільшення вмісту таких замісних амінокислот як глутамінової, валіну та проліну, порівняно з аналогічними показниками молока контрольних корів.

Мета роботи провести дослідження вмісту амінокислотного складу білків молока корів за захворювання на субклінічний кетоз та порівняти його зі здоровими тваринами.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проводили у ТОВ АФ «Хлібодар» с. Головашівка Сумського району Сумської області на коровах української чорно-строкатої молочної породи другої лактації. Протягом дослідження тварини знаходились в аналогічних умовах. Їм тримали на типовому силосно-сіно-концентратному раціоні. Для досліду тварин відбирали через 20-25 днів після розтелення. Та проводили дослідження крові на вміст кетонів тіл кетанометром. Для цього одноразовим шприцом отримували кров із під хвостової вени на наносили крапельку крові на пластинку яка була уставлена в кетанометри потім зчитували результат вмісту кетонів тіл дисплеї кетанометра – стандартне дослідження. Дослідження амінокислотного складу молока корів проводили в акредитованій лабораторії 201864 ДСТУ ISO/IEC17025. ВЦ ТОВ «ТОВ експериментальний центр діагностики та лабораторного супроводу «Біолайтс», вул. Ялтинська, буд. 5-6. м. Київ, 02099. Місце проведення випробувань: вул. Б. Хмельницького, 135, смт. Барішівка, Київська обл., 07500. Відділ прийому зразків: +38 096 054-86-57.

Методика підготовки проб молока для визначення амінокислотного складу 0,5 мл молока поміщали у кварцову вішалу і додавали 0,5 МП концентрованої соляної кислоти. Гідроліз проводили за допомогою автоматичної системи розкладання проб Milestone Ethos Easy. Після завершення програми гідролізу вміст віал кількісно переносили в мірну колбу на

10 мл, після чого аліквоту 2 мл доводили в мірній колбі на 10 мл за допомогою буфера з рН 2,2. Аналіз амінокислот проводили на амінокислотному аналізаторі SyscamS433 з постколоночною дериватизацією нінгідрином. Довжина хвилі детектування 440 і 570 нм

Отримані дані опрацьовували на комп'ютері в програмі Excel, визначаючи середню арифметичну величину (M), статистичну помилку середньої арифметичної величини (m).

Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Результати вважали вірогідними за $P < 0,05 - 0,001$.

Результати досліджень. В процесі досліджень нами було виявлено 17 амінокислот за якими можна виявити харчову повноцінність білків молока корів хворих на субклінічний кетоз та порівняти їх вміст з білками молока здорових тварин (табл. 1)

Таблиця 1

Амінокислотний склад білків молока здорових корів та хворих на кетоз

Номер п/п	Назва показників, одиниці вимірювання, мг/г	Результат досліджень (середнє значення 3^{\pm} тварин)		Відношення +/-
		хворі тварини	здорові тварини	
Незамінні амінокислоти				
1	Валін	1,33±0,045	1,72±0,054***	- 0,39
2	Фенілаланін	1,06±0,059	1,18±0,054	- 0,12
3	Лейцин	2,23±0,089	2,16±0,031	+ 0,07
4	Ізолейцин	0,83±0,038	1,37±0,044***	- 0,54
5	Треонін	0,58±0,023	0,97±0,037***	- 0,39
6	Метіонін	0,11±0,015	0,57±0,018***	- 0,46
7	Аргінін	0,80±0,029	1,20±0,038***	- 0,40
Сумарне значення		0,99±0,250	1,31±0,195	- 0,320
Замінні амінокислоти				
1	Пролін	2,23±0,094	2,82±0,063***	- 0,59
2	Гістидін	0,73±0,033	0,94±0,029**	- 0,21
3	Гліцин	0,48±0,023	0,50±0,033	- 0,02
4	Глутамінова кислота	4,69±0,093	5,40±0,071***	- 0,71
5	Аспаргінова кислота	2,08±0,011	1,90±0,032	+ 0,18
6	Аланін	0,70±0,092	0,72±0,039	- 0,02
7	Лізин	2,00±0,066	3,38±0,073***	- 1,38
8	Тирозин	0,26±0,015	0,82±0,023***	- 0,57
9	Серин	1,23±0,069	1,10±0,046	+ 0,12
10	Цистин	0,42±0,056	0,48±0,061	- 0,06
Сумарне значення		1,482±0,426	1,806±0,508	-0,324

Примітка. $P < 0,001$ до здорових тварин

Як відомо для повноцінного розвитку та життя живого організму амінокислоти, особливо незамінні повинні поступати з кормом. В даному випадку кормом для тварин і особливо для людей є молоко та молочні продукти. Аналізуючи дані табл. 1. видно що вміст незамінних амінокислот суттєво змінений. Наприклад така незамінна амінокислота як валін має менший вміст в порівнянні до здорових тварин на 22,6 %. Вона необхідна для метаболізму в м'язах та відновленню уражених тканин і підтримання нормального обміну азота в організмі. Разом з тим бачимо що зменшився також вміст амінокислоти Фенілаланін на 10,1% – це амінокислота є однією із складових білків. Біологічна дія фенілаланіну антидипресантна, покращуючи інтелектуальні функції, обезболюючи, зменшення залежності. Організм людини потребує фенілаланін як одну з складових частин усіх білків в організмі. Лейцин одна із амінокислот яку організм ніколи не виробляє сам у даному випадку при захворюванні на кетоз лейцин знаходиться практично на одному рівні. Основна функція лейцину це синтез м'язового білку, вплив на анаболічні процеси та здатність стимулювати виробництво глюкози та інсуліну. Ізолейцин відіграє значущу роль в утворенні енергії за рахунок розщеплення глікогену м'язів, разом з тим не достаток ізолейцину приводить до гіпоглікемії що виражається в'ялістю та сонливістю. Значна його кількість знаходиться в сироваткових білках. Дане дослідження показує що при захворюванні на кетоз її вміст зменшений на 39,4%. За літературними даними роль треоніну досить різноманітна: бере участь у відкладенні жиру в печінці; регулює обмін жирів,

білків і вуглеводів; бере участь у процесах метаболізму; під його дією утворюється колаген необхідний для росту молодняку; сприяє розвитку імунітету, синтезує імунні білки, впливає на білковий обмін. Наші дослідження показують що її кількість зменшена на 40,2 %. Метіонін незамінна амінокислота, яка знаходиться у складі ферментів усіх тканин. Суттєво впливає на стан нирок, зменшує токсичність значної кількості отруйних речовин, відновлює функцію печінки. За захворювання корів на кетоз у білках молока вміст метіоніну зменшується на 80,7 %. В білку молока корів є також одна із амінокислот яка вважається на-пів незамінною для людини це аргінін. Біологічні шляхи її утворення у організмі людини існують що правда в деяких випадках особливо при захворюванні і в певні періоди життя її утворюється дуже мало а отже вона повинна потрапляти з їжею. Разом з тим близько 40 % аргініну розщеплюється в тонкому відділі кишечника і не потрапляє в кров в зв'язку з цим виникає її дефіцит. При захворюванні на кетоз вміст аргініну зменшений на 33,3 %. Отже провівши аналіз даних наведених у табл. 1 щодо незамінних амінокислот можна зробити висновки. При захворюванні корів на кетоз у білках молока зменшується вміст практично всіх незамінних амінокислот. Виключення становить лише лейцин. Разом з тим необхідно відмітити, що при захворюванні корів на кетоз виникли зміни також в кількості замінних амінокислот. Проводячи аналіз вміст замінних амінокислот можна констатувати що їх вміст в молоці також зменшений майже усіх крім аспаргінової кислоти та сирина. Так вміст такої амінокислоти як пролін та гістидін зменшився

на 20,9 та 22,3 % відповідно. Також на 4 та 13,2 % відповідно зменшився вміст таких амінокислот як гліцин та глютамінова кислота. Суттєве зменшення вмісту відзначили у таких амінокислот як лізин та тирозин на 40,8 та 69,5 %. Але нами також відмічено що вміст таких замісних амінокислот як серин та аспаргінова кислота збільшився на 10,5 та 9,5 % відповідно.

Отже можна констатувати що при захворюванні корів на кетоз навіть субклінічної форми настає зниження біологічної цінності молока

Обговорення та інтерпретація дослідження. Молоко один із незамінних продуктів високої біологічної цінності, який супроводжує людину практично все життя. Традиційно для більшості населення України молоко і молочні продукти є одним із основних інгредієнтів раціону. Молоко – продукт який містить всі мікро- та мікроелементи, вітаміни, співвідношення білків, жирів і вуглеводів і всі ці компоненти залежить від добробуту тварини. Під добробутом необхідно розуміти умови утримання тварин, годівлю та стан здоров'я. Отже якісний та безпечний продукт можна отримати лише від здорової тварини. На теперішній час суттєвий вплив на показники якості та безпечності наклало таке захворювання як кетоз. Найбільш частою причиною яка призводить до захворювання на кетоз є мала кількість енергії особливо на початку лактації. Негативне зрушення обміну речовин розпочинається ще в кінці попередньої лактації і продовжується в сухостійний період. Корови більше 4 бали за вгдованістю після розтелення поїдають менше корму а значить одержують суттєво менше енергії. В наслідок цього підвищується мобілізація власного жиру що призводить до накопичення кетонів у організмі. Функція печінки не безмежна вона не може справитися з збільшеним навантаженням, що призводить до отруєння організму. В зв'язку з цим зменшується харчова та біологічна цінність молока. Так сумарна кількість. Наші дані показують що при захворюванні корів на кетоз зменшується вміст майже всіх амінокислот у білках молока. Сумарне зменшення вмісту незамінних амінокислот становить 2,23мг/г, а замісних 3,68 мг/г. Наші дослідження співпадають з даними Білик Р.І (2) яка вказує що при захворюванні корів на лейкоз відбувається не тільки зменшення амінокислотного вмісту а й співвідношення їх що призводить до зниження біологічної цінності молока. А.І. Кузін і Є.Н. Закрепіна

(12) повідомляють що в молоці корів хворих на кетоз, порівняно до здорових суттєво зменшений вміст метіоніну, лейцину, проліну, аспарагінової кислоти, аланіну, тирозину і загального білка. В молоці ж інфікованих корів знижено вміст загального білка, фенілаланіну, лізину, лейцину, проліну, аланіну і тирозину Разом з тим Кузін А.І., Закрепіна Є.Н. надали повідомлення, що амінокислотний склад молока корів уражених лейкозом, порівняно до здорових підвищився в середньому на 22,4 %, таке підвищення виникло за рахунок цистину (на 40,0 %), аргініну (на 46,6 %), аланіну (на 48,9 %) і аспарагінової кислоти (на 42,2 %). і в меншій мірі - за рахунок гістидину (на 5,3 %) і валіну (на 3,0 %). Необхідно відмітити що молоко корів уражених лейкозом мало метіоніну більше на 27,4 % порівняно до здорових молока здорових тварин. Такі розбіжності можна пояснити тим що при дослідженні не враховується деякі фактори. На наш погляд для порівняння результатів дослідження необхідно враховувати годівлю, вік тварин, період лактації, механізм та стадії захворювання.

Висновки: 1. Проведений аналіз біологічної цінності молока здорових корів та хворих на субклінічний кетоз Української чорно-строкатої молочної породи. Встановлено, що у молоці корів уражених субклінічним кетозом суттєво змінюється амінокислотний склад білків. Так сумарне зменшення кількості незамінних амінокислот становить 0,320 мг/г. Сумарне зменшення замісних амінокислот становить 0,324 мг/г.

2. Встановлено що із незамінних амінокислот лише лейцин має тенденцію до збільшення + 0,07мг/г.

3. Серед замісних амінокислот виявили тенденцію до збільшення аспарагінової кислоти та серину на 0,18 та 0,12 мг/г відповідно.

Перспективи подальших досліджень необхідно направити на вивчення амінокислотного складу білків молока корів хворих на клінічний кетоз.

Висловлюємо подяку за підтримку та допомогу у проведенні дослідження керівнику сектору мікологічного дослідження у експертному центрі діагностики та лабораторного супроводу «Біолайтс», к. вет. наук, доценту кафедри ветеринарно-санітарної експертизи, гігієни продуктів тваринництва та патанатомії ім. Й.С. Загаєвського, Білоцерківського національного аграрного університету Тишківській Н.В.

References

1. Bilyk R.I. (2007) Mineralnyi sklad ta tekhnolohichni vlastyivosti moloka, otrymanoho vid RID-pozytyvnykh koriv [Mineral composition and technological properties of milk obtained from RID-positive cows] *Problemy zootekhnyky ta veterynarnoi medytsyny: zbirnyk. Nauka. [Problems of zoo engineering and veterinary medicine: collection. Science]*, 16 (41), 2, 1, 95-98.
2. Bankovska, N.V. (2008), Hihiyenichna otsinka faktychnoho kharchuvannia dorosloho naseleння Ukrainy ta naukovi shliakhy optymizatsii [Hygienic assessment of actual nutrition of the adult population of Ukraine and scientific study ways to optimization]. *Kandydatska dysertatsiia, Natsionalnyi medychnyi universytet imeni Bohomoltsia [Ph. D. Thesis, Bogomolets National Medical University]*, Kyiv, 16p.
3. Borshch, O.O. (2017). Influence of various litter materials and premises characteristics on the comfort and behavior of cows. *Ukrainian Journal of Ecology*. Vol. 7, no. (4), pp.529–535. Available at: https://doi.org/10.15421/2017_156
4. Borshh, O., Ruban, S. (2017). Intensy'vniest' vy'roshhuvannya krosbredny'x tely'cz' za rizny'x tehnologij utry'mannya [Intensity of growth of crossbred heifers for different technologies of retention]. *Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii [Bulletin of the Poltava State Agrarian Academy]*. 4, 63–66.
5. Borshh, O.O., Borshh, O.V. (2017). Vplyv rizny'x variantiv bezpry'v'yaznogo utry'mannya koriv na vy'tratty' obminnoyi energiyi v period ny'z'kotemperaturnogo navantazhennya [Influence of different variants of unbounded maintenance of cows on expenses of exchange energy during the period of low-temperature loading]. *Naukovo-tekhnichny'j byuleten' IT NAAN [Scientific-technical bulletin NAAS]*. 117, 7–14.
6. Danshy'n, V.O. (2016). Ocinka pleminnoyi cinnosti bugayiv-plidny'kiv molochny'x porid [Estimation of breeding value of bulls-breeders of dairy breeds]. *Zbirnyk naukovy'x prac' BNAU [Collection of scientific works of BNAU]*. Ser. «Tekhnologiya

vy`robny` cztva i pererobky` produkciji tvary` nny` cztva» [Sir. "Technology of production and processing of livestock products"], 2 (126), 110–116. (in Ukrainian)

7. Dezetter, C. (2015). Inbreeding and Crossbreeding parameters for production and fertility traits in Holstein, Montbeliarde and Normande cows. *Journal of Dairy Science*. 98, 4904–4913. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8386>

8. Ferris, C.P., Heins, B.J., Buckley, F. (2014) Crossbreeding in Dairy Cattle: Pros and Cons. *WCDS Advances in Dairy Technology*. 26, 223–243.

9. Heins, B.J., Hansen, L.B. (2012). Short communication: Fertility, somatic cell score, and production of Normande × Holstein, Montbéliarde × Holstein, and Scandinavian Red × Holstein crossbreds versus pure Holsteins during their first 5 lactations. *Journal of Dairy Science*, 95, 2, 918–924. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4523>

10. Heins, B.J., Hansen, L.B., De Vries, A. (2012). Survival, lifetime production, and profitability of crossbreds of Holstein with Normande, Montbéliarde, and Scandinavian Red compared to pure Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 95, 1011–1021. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4525>.

11. Hulich, M.P. (2011). Balanced diet and healthy lifestyle – key factors maintaining the health of the population [Zbalansovane kharchuvannia ta zdorovyi sposib zhyttia - kluchovi faktory zberezhenia zdorovia naseleennia]. *Problemy starenia y dolholetia [problems of aging and longevity]*, 2, 128–132. (in Russian)

12. Kuzin A.I, Zakrepina E.N. (1997). Vplyv leukemii na produktyvnist koriv ta yakist moloka [Influence of leukemia on cow productivity and milk quality]. *Veterinarna miditsina [Veterinary medicine]*, 2, 19–21.

13. Ministry of Health of Ukraine (1999). Normy fiziologichnykh potreb naseleennia Ukrainy znakhodiatsia v osnovnykh kharchovykh rechovynakh ta enerhii [Norms of physiology necessities of population of Ukraine are in basic food substances and energy], available at: www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_19991118_272.html. (in Ukrainian)

14. Ruban, S.Yu. (2016). Krosbry dy`ng yak element vy` sokoprodukty` vnogo molochnoho skotarstva [Crossbreeding as an element of high-yield dairy cattle breeding]. *Biologiya tvaryn [Animal biology]*. 18, 2, 94–104. (in Ukrainian)

15. Ruban, S.Yu. (2017). Suchasni tekhnologiyi vy`robny` cztva moloka (osobly` vosti ekspluatatsiyi, tekhnologichni rishennya, eskizni proekty`) [Modern milk production technologies (features of exploitation, technological solutions, sketch designs)]. Kharkiv, 172 p. (in Ukrainian)

16. Sklyar, O.I, Gerun, I.V, Kirichuk, L.V (2018). Hoduvannia koriv yak odyn iz faktoriv ketozu ta vplyv na yakist ta bezpeku moloka [Feeding cows as one of the factors of ketosis and the impact on the quality and safety of milk] visnyk SNAU [Bulletin of Sumy National Agrarian University], 1 (42), 251-254. (in Ukrainian)

17. Tsimbalista, N.V. and Davydenko, N.V. (2008). "The mill of the actual village population is alimen-tatively reinforced", *Problemy kharchuvannia*, 1–2, 32–35.

18. Tyshkivska, N.V (2014). Vplyv kilkosti somatychnykh klityn u molotsi koriv na pokaznyky yoho bilkovoho skladu [Influence of the number of somatic cells in milk of cows on the indicators of its protein composition]. Visnyk Bilotserkiv. derzhavnyi ahrarniy Universytet [Visnyk Bilotserkiv. state agrarian University, 1, 251-254. (in Ukrainian)

Inessa Gerun, PhD student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Amino acid composition of milk of healthy cows and cows with ketosis

Protein deficiency is relevant both to the population of countries with sustainable economic development and to developing countries. The problem of quality and safe nutrition has been and remains unresolved around the world. Thus, the issue of balancing rations for the population is one of the most relevant for the Food and Agriculture Organization (FAO) established at the United Nations. A significant amount of work has been devoted to the study of the amino acid composition of cow's milk proteins. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). A significant amount of work has been devoted to the study of the amino acid composition of cow's milk proteins. Our research and their results are aimed at identifying changes in the amino acid composition of milk proteins in cows with ketosis and assessing the nutritional value of milk. However, the results of our research show that there are changes in the content in the direction of reducing almost all amino acids and especially non-replaceable ones that play an important role in human life because they are not synthesized in the body. Thus, according to our data, the content of the amino acid valine is reduced by 22.6%. However, we see that the amino acid content of phenylalanine also decreased by 10.1%. The amino acid leucine in ketosis is almost at the same level. The content of the essential amino acid isoleucine in ketosis decreased by 39.4%. Our studies show that the amount of threonine and methionine is reduced by 40.2 and 80.7%, respectively. In cow's milk protein is one of the amino acids that is considered semi-essential for humans is arginine. In diseases of ketosis, the content of arginine is reduced by 33.3%. Analysis of the results of the study of the content of substituted amino acids showed that a significant part of them also has a negative trend. Thus, the content of amino acids such as Proline and histidine decreased by 20.9 and 22.3%, respectively. Also, the content of such amino acids as glycine and glutamic acid decreased by 4 and 13.2%, respectively. A significant decrease in the content was noted in such amino acids as lysine and tyrosine by 40.8 and 69.5%. But we also noted that the content of such replacement amino acids serine and aspartic acid increased by 10.5 and 9.5%, respectively. Thus, such a disease as ketosis of cows leads not only to reduced productivity but also to the loss of biological value of milk and dairy products produced from it.

Key words: milk protein, amino acid composition, nutritional value, ketosis, milk, cows

Дата надходження до редакції: 20.10.2020 р.

ВИВЧЕННЯ ПОДРАЗЛИВОЇ І ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ «СУХОДЕЗ»

Сластьон Дар'я Сергіївна

аспірантка

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

ORCID:0000-0002-8110-3647

slasten_dasha@ukr.net

Коцур Олена Володимирівна

аспірантка

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

ORCID: 0000-0001-7779-9306

kocurelena7@gmail.com

Фотіна Тетяна Іванівна

доктор ветеринарних наук, професор

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

ORCID: 0000-0001-5079-2390

tatiana.fotina@snau.edu.ua

В статті представлено результати дослідження подразливої та алергенної дії дезінфікуючого засобу «Суходез» на тварин в лабораторних умовах. Визначено, що препарат Суходез має слабку дію за ступенем відповідної реакції на подразнення у мишей і кролів. Разом з тим препарат при одноразовій обробці приміщення в гранично допустимій концентрації 60 мг/м³ зумовлює помірну подразнюючу дію на слизові оболонки тварин, що дозволяє віднести його до 3 класу небезпеки. А при пероральному одноразовому введенні в дозах 1250, 2500 та 5000 мг/кг маси тіла не викликає загибелі піддослідних мишей та щурів. На цій підставі, засіб «Суходез» можна віднести до 4 класу небезпеки згідно до Міжнародного стандарту, або до категорії 5 за Міжнародною глобальною класифікацією Global Harmonized System, (GHS) (ЛД50 при пероральному надходженні перевищує 5000 мг/кг маси тіла).

Ключові слова: дезінфекція, дезінфектант, лабораторія, мікроорганізми, алергія, подразнююча дія

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.3.2>

Вступ. Дезінфекція – це комплекс заходів, спрямований на знешкодження збудників заразних захворювань у приміщеннях та довіллі. Благополуччя тваринництва, як і будь-якої іншої ланки аграрного виробництва, не може бути належним чином забезпечене без застосування дезінфікуючих засобів (Kovalenko V., 2012).

Арсенал засобів для ветеринарної дезінфекції розширюється. Пошук і розробка нових антисептичних і дезінфікуючих препаратів ведеться постійно. Це обумовлено тим, що, по-перше, жоден з існуючих засобів не є ідеальним, по-друге, постійно зростають вимоги споживачів щодо ефективності, по-третє, змінюються умови і технології виробництва, сировинні можливості й, по-четверте, можливо, найголовніше, споживачі все більше уваги приділяють екологічній безпеці та питанню мінімізації загальної токсичності. Все це значно обмежує коло хімічних сполук, які можуть бути використані у виробництві нових дезінфектантів. Сучасний асортимент дезінфікуючих засобів нараховує велику кількість комерційних препаратів, основними діючими речовинами яких є формальдегід, глутаровий альдегід, перекис водню, гідроген пероксид, пергідроль, гідроперит, хлорактивні сполуки, четвертинні амонієві сполуки (ЧАС) та їхні комбінації. Таким чином, аналіз властивостей сучасних дезінфектантів показує, що не існує універсальних засобів, придатних для дезінфекції, очищення перед стерилізацією і стерилізації всіх об'єктів. Майже всі дезінфекційні засоби мають обмеження за спектром протимікробної дії, сферою використання та ступенем токсичності, а також за впливом на матеріали, з яких виготовлені об'єкти знезараження. (Mandyhra M. et al., 2010; Romanishyna O. et

al., 2010).

При дослідженні ветеринарного дезінфікуючого засобу Суходез, ми опиралися на базу птахівничих підприємств. У птахівничих господарствах дезінфікують: приміщення для птиці, обладнання, інвентар та предмети догляду за птицею, підсобні споруди і територію, спецодяг, тару і транспорт, інкубатори і племінні яйця, пух, перо, забійний пункт і холодильні камери, підстилку і послід, стічні води та ін.

Особливість дезінфекції та дезінвазії птахівничих об'єктів полягає в тому, що птиця має дуже тісний контакт з обладнанням та інвентарем, а продукти птахівництва сильно поглинають запахи дезінфікуючих засобів. У зв'язку з цим дезінфекцію слід проводити обережно і ретельно. Крім того, при знезараженні птахівничих приміщень, обладнаних засобами механізації, автоматики, електрообладнанням, необхідно вибирати такі дезінфікуючі засоби, які не впливають на металеве обладнання та апаратуру. Особливо важко проводити дезінфекційні роботи в птахівничих приміщеннях, оскільки там багато важкодоступних для обробки місць. Перед проведенням дезінфекції ретельно прибирають гній, сміття, підстилку, залишки корму, очищують стіни від фекалій і інших забруднень. Щоб менше утворювалося пилу в процесі механічного прибирання, приміщення зрошують водою або дезінфікуючою рідиною. Одна з першорядних завдань ветеринарної санітарії - пошук і впровадження нових дезінфікуючих засобів і схем їх застосування в практику. Дезінфектанти сприяють знезараженню різних об'єктів тваринничих приміщень, знищення живих переносників збудників багатьох інфекційних хвороб тварин і людей (комахи і гризуни). Однак деякі

з них мають подразнюючу дію. Дезінфекція це способи і засоби знищення патогенних мікроорганізмів у зовнішньому середовищі; один із заходів комплексу боротьби з заразними хворобами, що впливає на збудників хвороб (Mandyhra M. et al., 2011).

Дезінфікуючі засоби, які зазвичай використовуються на неживих предметах або поверхнях (Romanishyna O. et al., 2010; Fotina T., & Vashchuk, Y., 2017). Оскільки знищення патогенних мікроорганізмів, присутніх на об'єктах, є більш бажаним результатом, то знищення мікроорганізмів - це кінцева мета при застосуванні дезінфікуючих засобів (Mandyhra M. et al., 2010; Romanishyna O. et al., 2010).

Дезінфекційна обробка птахівничих об'єктів складається з двох послідовно проведених операцій – це ретельне механічне очищення та власне дезінфекції (Romanishyna O. et al., 2010; HOST 12.1.007; Kotsiumbas I. et al., 2006).

Очищення та дезінфекція передбачають фізичне та хімічне видалення (зазвичай з використанням миючого засобу та води) забруднюючих речовин та сміття, а також зменшення або усунення патогенних мікроорганізмів в матеріалах або на поверхнях, щоб вони більше не представляли небезпеку для здоров'я (Zavorodnii A. et al., 2008; Romanishyna O. et al., 2010; Mandyhra M. et al., 2009). Для проведення дезінфекції можуть бути використані лише засоби, що дозволені до застосування Держпродспоживслужбою, які мають сертифікати виробника, що свідчать про їхню відповідність вимогам Державних (галузевих) стандартів чи технічних умов (Mandyhra M. et al., 2009; Kotsiumbas I. et al., 2010).

В сучасному промисловому птахівництві та тваринництві широкого розповсюдження набули наступні методи дезінфекції: аерозольна дезінфекція, волога дезінфекція, дезінфекція з застосуванням фізичних методів, з використанням бактерицидних пін, з використанням газових сумішей (Khudiakov A., 2010; Kotsiumbas I. et al., 2010). Для ефективного проведення дезінфекційної обробки птахівничих приміщень є обов'язково наявність достатньої кількості дезінфекційних засобів, що відносяться до різних груп хімічних сполук. Важливим також є обґрунтоване застосування і ротація дезінфекційних засобів (Mandyhra M. et al., 2011; Kasianenko O. et al., 2019; Kolos Yu. et al., 2007).

Ринок дезінфікуючих засобів великий і різноманітний. Засоби, що призначені для використання в різних напрямках, мають відмінні один від одного характеристики антимікробної ефективності (Mandyhra M. et al., 2009).

На вітчизняному ринку в даний час пропонується дуже широкий спектр різноманітних за хімічною природою біоцидних засобів (Mandyhra M. et al., 2009; Romanishyna O. et al., 2010). Практична цінність засобів нового покоління полягає в тому, що вони мають широкий спектр дії на мікроорганізми і пролонгований ефект, крім того їх можна використовувати практично в усіх галузях промисловості з гарантованою безпекою для людей, тварин і навколишнього середовища (Mandyhra M. et al., 2009; Romanishyna O. et al., 2010; Kolos Yu. et al., 2007).

Аналізуючи ринок дезінфікуючих препаратів ми прийшли к висновку, що на вітчизняному виробництві недостатньо вивчені і розповсюдженні сухі дезінфектанти, а ефективність їх застосування є досить значною. Переваги і недоліки використання сухих дезінфекційних підстилок:

- простота використання (укладається практично так само, як звичайний настил з соломи);

- ферментаційна підстилка підходить для пташників при напольному утриманні птиці;

- відсутність неприємного запаху, тому що бактерії попереджають виділення аміаку в повітря;

- птиця краще розвивається, так як постійно перебуває в теплі і чистоті;

- немає необхідності в частій зміні настилу;

Як вже було зазначено, сухі дезінфекційні підстилки зменшують трудовитрати і спрощують заходи проведення профілактичної дезінфекції. Але в порівнянні з настилами даний продукт коштує трохи дорожче. Однак з часом витрати окупаються.

Тому, розробка та впровадження у виробництво нових дезінфектантів є актуальним питанням сучасного птахівництва (Romanishyna O. et al., 2010; Khudiakov A., 2010).

Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми

Підбір дезінфектантів залежить від функціонального призначення приміщення та об'єкта знезараження, спектру антимікробної дії засобу і його цільового призначення. Перевагу надають комплексним дезінфікуючим засобам, які відповідають ряду вимог, а саме – універсальні, стабільні при транспортуванні, розчинні у воді або інших рідинах, або сухі. Обов'язково активні щодо широкого спектру мікроорганізмів, антикорозійні властивості стосовно будівельних конструкцій і матеріалів, екологічно безпечні та вартості робочої одиниці.

Найголовнішою вимогою до дезінфектантів під час знезараження у присутності тварин є безпечність їх застосування. Вони мають бути нетоксичними, не подразнювати шкірні покриви та слизові оболонки. На сьогодні відомий ряд комплексних і сухих дезінфектантів для санзації приміщень, але деякі з них використовуються без присутності тварин, що досить незручно в умовах тваринницьких ферм. Але головною умовою у використанні саме сухих дезінфектантів є відсутність потреби у додаткових приладах для дезінфекції тваринницьких приміщень (Romanishyna O. et al., 2010).

Більшість сухих дезінфектантів виготовленні на основі природних мінералів і рослинних компонентів застосовуються для видалення вологи, що перешкоджає розвитку мікроорганізмів. Вони не мають подразнюючої дії на шкіру і дихальні шляхи людини і тварин, володіють не тільки бактериостатичним ефектом, а й блокують розмноження мух, знижують кількість аміаку і сірководню в повітрі. Існують засоби з додатковим змістом бактерицидних ефірних масел. Переважна більшість порошкових дезінфектантів має закордонне походження. Тому вивчення та розробка вітчизняних порошкових дезінфектантів для підстилки у сільському господарстві, зокрема в птахівництві, є наразі досить актуальною (Kovalenko V., 2012).

Мета роботи - оцінка подразнюючої і алергічної дії нового експериментального дезінфікуючого засобу «Суходез».

Засіб «Суходез» (порошок для дезінфекції), виготовлений ТОВ «БРОВАФАРМА» 06. 2020 року, серія 03 Експериментальна серія. Засіб містить діючі речовини (%): хлорамін - 0,2; тимол - 0,1; міді сульфат - 2,0; заліза сульфат - 1,0; кальцію сульфат дигідрат - 45,0; цеоліт - 42,0; каолін - 9,6; ароматизатор - 0,1.

Матеріали та методи. Досліди проводили в умовах атестованого віварію Регіонального центру РЦ «ЕКОМЕД-ХІМ» СумДУ та СНАУ. Дослідження та оцінку отриманих результатів проводили у відповідності до методик наведених в

матеріалах збірника: Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів (І.Я. Коцюмбас, О.Г. Малик, І.П. Патерега та ін., 2006) Гостру токсичність засобу «Суходез» вивчали на 30 білих мишах масою 18,5-20,5 г. та 15 білих щурах масою 180 - 210 г. Тварин утримували згідно до вимог санітарних норм і правил, прийнятих у віварії Регіонального центру з використанням спеціалізованого комбікорму. Перед проведенням досліджень тварин зважували.

Препарат перед пероральним введенням тваринам ретельно подрібнювали до дрібного порошку на млинку та інтенсивно змішували порівну з водою. Одразу після змішування, препарат швидко вводили тваринам ранком натще перорально одноразово через зонд з канюлею в дозах 1250, 2500 та 5000 мг/кг маси тіла. Годівлю тварин розпочинали через дві години після введення препарату. Кожну із зазначених доз препарату вводили 10 білим мишам і 5 щурам.

За щурами і мишами вели спостереження впродовж 14 діб після введення препарату. В ході досліджень постійно спостерігали за клінічним станом тварин, враховували їх активність, споживання корму і води.

Вивчення токсичності засобу Суходез при тривалому пероральному введенні вивчали на двох, підібраних за принципом аналогів, групах білих щурів по 6 голів в кожній з початковою масою тіла 175 - 198 г. Утримання тварин проводили в таких же умовах як і при вивченні гострої токсичності препарату. Безпосередньо перед пероральним введенням препарат ретельно подрібнювали до дрібного порошку на млинку, інтенсивно змішували порівну з водою та вводили щурам піддослідної групи перорально щоденно в дозі 2500 мг/кг маси тіла впродовж 30 діб. Щурам другої (контрольної) групи перорально вводили інтенсивно подрібнений цеоліт у воді в тій же кількості.

Протягом всього дослідження спостерігали за загальним станом щурів, їх поведінкою, враховували кількість споживання тваринами корму та води. Зміну маси тіла щурів реєстрували перед початком, на 10 та 31 добу з початку дослідження.

Через одну добу після останнього введення препарату всіх щурів умертвляли після наркозування і відбирали проби крові для визначення гематологічних показників. Проводили

дослідження стану внутрішніх органів щурів (шлунку, кишківника, печінки, легенів, нирок, серця, селезінки) при розтині.

Вплив препарату на стан внутрішніх органів оцінювали шляхом порівняння їх відносних масових коефіцієнтів.

Шкірно-резорбтивну дію дослідного препарату вивчали на білих нелінійних мишах масою тіла 20 – 25 г. Клінічно здорових лабораторних тварин попередньо витримували на 14-денному карантині в віварії ветеринарної клініки університету. Утримували їх з урахуванням вимог нормативної документації. Потім мишей розділили на дослідну і контрольну групи по 6 голів у кожній. Тваринам дослідної групи хвосту на 2/3 довжини обробляли 10% - вим розчином засобу «Суходез» (максимальна концентрація по ДВ), а контрольної - занурювали в Твін-80. Час експозиції 2 год. протягом 5 днів.

Здатність препарату проникати через шкіру оцінювали після закінчення дослідження. Брали до уваги клінічну картину інтоксикації тварин і вплив на центральну нервову систему. Крім того, для оцінки працездатності мишей використовували метод "плавання". Реєстрували час, протягом якого тварина могла утримуватися на поверхні води.

Місцеву подразнюючу дію засобу «Суходез» визначали методом нашкірних аплікацій на 10 кролях масою тіла $2,97 \pm 0,3$ кг, що дозволяє виявити розвиток у них неалергічного контактного дерматиту в залежності від дози застосованої речовини. За 2 дні до початку дослідження на спині лабораторних тварин симетрично по обидві сторони від хребта вистригали ножицями ділянки розміром 7x8 см, залишаючи волоссяний покрив між ними 2 см. При цьому з правого боку наносили 10% - вий розчин засобу «Суходез» з розрахунку 1 мл на 1 кг маси тіла кроля, а з лівого - така ж кількість 0,9% - вого розчину натрію хлориду.

На час експозиції (4 год.) для виключення злизування препарату з шкіри на тварин надягали пластиковий комір, після чого препарат змивали водою. Перше тестування за шкалою оцінки шкірних проб проводили через 10 днів.

Зміна функціонального стану шкіри запального характеру (еритема, набряк) визначали при природному або близькому до нього штучному освітленні через 1, 24, 48 і 72 годин після видалення зразка відповідно до класифікації, представленого в таблиці 1.

Таблиця 1

Система класифікації шкірних реакцій

Реакція	Оцінка, бал
Еритема:	
відсутня	0
слабка (ледь помітна)	1
помірно виражена	2
виражена	3
різко виражена (темно-червона) з утворенням струпа	4
Набряк:	
відсутній	0
слабкий (злегка помітний)	1
помірний (виступає над поверхнею шкіри не більше ніж на 1 мм)	2
виражений (виступає над поверхнею шкіри і має чіткі межі)	3
різко виражений (виступає над поверхнею шкіри більш ніж на 1 мм)	4
Максимально можлива кількість балів	8

При негативному результаті досвід продовжували і доводили число аплікацій до 20, після чого повторно тестували. Потім бали шкірних реакцій для кожної тварини, включаючи еритеми і набряки в певний інтервал часу підсумову-

вали і ділили на загальне число спостережень. Отриманий індекс сумарного подразнення порівнювали зі значеннями, представленими в таблиці 2, і реєстрували в звіті про дослідження.

Ступінь відповідної реакції на подразнення у кролів

Відповідна реакція	Кількість балів
Незначна	від 0 до 0,4
Слаба	від 0,5 до 1,9
Помірна	від 2,0 до 4,9
Виразена	від 5,0 до 8,0

Отримані результати обробляли за допомогою програми Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., USA) і пакету статистичного аналізу даних StatPlus 2009 professional 5.8.4 for Windows (StatSoft Inc., USA). Для оцінки достовірності відмінностей між вибірками використовували t- критерій Стьюдента.

Результати досліджень і обговорення:

Результати вивчення гострої токсичності засобу «Суходез» при пероральному введенні показали, що одноразове пероральне введення засобу «Суходез» у всіх дозах, а саме 1250, 2500 та 5000 мг/кг маси тіла, не спричиняло видимої токсичної та шкодочинної дії на організм, а також загибелі піддослідних щурів та мишей (таблиця 3).

Таблиця 3

Результати вивчення гострої токсичності засобу «Суходез»

Доза введеного препарату, мг/кг маси тіла	Загибель тварин (загинуло/ загальна кількість в досліді)	
	щурі	миші
1250	0/5	0/10
2500	0/5	0/10
5000	0/5	0/10

З причини низької токсичності засобу «Суходез» та відсутності загибелі лабораторних тварин після його перорального одноразового введення, підрахунок токсикологічних параметрів (ЛД₅₀ гострої) препарату не проводили.

Впродовж всього досліді у піддослідних тварин, після одноразового перорального введення засобу «Суходез» в дозах 1250, 2500 та 5000 мг/кг маси тіла, не реєстрували специфічних клінічних проявів інтоксикації чи сторонньої дії.

На підставі проведених досліджень, можна зробити висновок, що максимальна доза засобу «Суходез», яка не викликає загибелі піддослідних щурів та мишей при одноразовому пероральному введенні (ЛД₀) є більшою за дозу 5000 мг/кг маси тіла. Відповідно, ЛД₅₀ засобу «Суходез» при одноразовому пероральному введенні щурам і мишам буде перевищувати дозу 5000 мг/кг маси тіла, і тому засіб «Суходез» можна віднести до 4 класу небезпеки згідно до Міжнародного

стандарту ГОСТ 12.1.007-76, або до категорії 5 за Міжнародною глобальною класифікацією Global Harmonized System, (GHS). (ЛД₅₀ засобу «Суходез» при одноразовому пероральному введенні перевищує 5000 мг/кг маси тіла).

Вивчення токсичності засобу «Суходез» при тривалому пероральному надходженні показало, що введення препарату в дозі 2500 мг/кг маси тіла впродовж 30 діб не впливало на клінічний стан і поведінку щурів. Впродовж всього досліді не реєстрували якоїсь сторонньої або негативної дії засобу «Суходез». Тварини охоче споживали корм і воду, були рухливі, адекватно реагували на звукові та тактильні подразники.

Також не реєстрували достовірного впливу засобу «Суходез», який вводився щурам впродовж 30 діб в дозі 2500 мг/кг маси тіла, на ріст та відносне збільшення маси щурів під час досліді в порівнянні з масою піддослідних щурів (Таблиця 4).

Таблиця 4

Динаміка зміни маси тіла щурів впродовж 30-денного перорального введення засобу «Суходез»

Термін дослідження, доба з початку досліджень	Групи тварин	
	отримували перорально засіб «Суходез» в дозі 2500 мг/кг	контрольна група
до введення препарату	186,90±1,73	187,10±2,30
10	225,40±2,63	225,40±3,66
31	289,26 ±3,33	288,89±3,66

При розтині тварин не спостерігали видимих патологічних змін у внутрішніх органах та тканинах щурів.

Також не реєстрували достовірних змін у порівнянні

відносних масових коефіцієнтів внутрішніх органів піддослідних та контрольних щурів до маси їх тіла в кінці дослідження (таблиця 5).

Таблиця 5

Масові коефіцієнти внутрішніх органів до маси тіла забитих піддослідних та контрольних щурів після 30-денного введення засобу «Суходез»

Внутрішні органи	Групи тварин та дозування	
	щурі отримували засіб «Суходез» в дозі 2500 мг/кг	контрольна
Печінка	5,23±0,09	5,31±0,90
Легені	0,96±0,17	0,97±0,16
Серце	0,41±0,09	0,42±0,07
Нирки	0,77±0,05	0,78±0,06
Селезінка	0,56±0,14	0,57±0,15

При дослідженні крові відібраної від піддослідних щурів

також не було встановлено достовірних змін в гематологічних показниках (таблиця 6).

Таблиця 6

Гематологічні показники у щурів після 30-денного введення засіб «Суходез»

Показники	Групи тварин та дозування		
	щури, що отримували засіб «Суходез» в дозі 2500 мг/кг	контрольна	
Гемоглобін, г/л	114,20±6,13	120,11±6,96	
Еритроцити, 10 ¹² /л	7,02±0,76	7,06±0,83	
Тромбоцити, 10 ⁹ /л	530,6±15,6	529,7±15,1	
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	8,34±0,93	8,52±0,66	
Лейкоцитарна формула, %	Нейтрофіли	27,00±2,33	25,20±1,66
	Моноцити	1,00±0,35	1,80±0,37
	Еозинофіли	0,50±0,16	0,50±0,22
	Лімфоцити	71,50±2,33	72,50±2,66

Таким чином, пероральне введення засобу «Суходез» впродовж 30 днів в дозі 2500 мг/кг маси тіла не спричиняло достовірної негативної та токсичної дії на організм щурів за всіма показниками, які досліджувались.

Піддослідні миші протягом усього експерименту практично не відрізнялися від контрольних особин, клінічної картини інтоксикації не спостерігали (таблиця 7).

Однак після маніпуляцій з обробки хвостів вони були трішки скуйовдженими, що пояснювалося стресом, а через 1 год. приходили в норму. При щоденному огляді у тварин дослідної групи відзначали еритему і сухість шкіри. Після припинення експерименту на 3 - 4-ту добу деяка сухість шкіри хвоста залишалася.

Таблиця 7

Деякі показники стану організму мишей після аплікації засобу «Суходез» на шкіру хвоста

Група	Маса тіла, г		СПП, ум.од.	Кров			Працездатність хв.
	до дії	після дії		Гемоглобін, г/л	Лейкоцити, 10 ⁹ /л	Еритроцити, 10 ¹² /л	
Контрольна	20,2±0,81	21,8±0,79	4,5±0,23	8,5±0,50	8,610±0,48	8,960±0,60	28,3±0,79
Дослідна	20,0±0,68	20,8±0,81	4,4±0,40	9,4±0,60	8,400±0,70	8,790±0,50	27,9±0,40

Незначне зниження величини сумарно-порогового показника (СПП) та працездатності за методом "плавання" (27,9 ± 0,40 хв. проти 28,3 ± 0,79 хв. в контролі) свідчить про прояв процесів гальмування в їх центральній нервовій системі. На

2-у добу після припинення обробки випробуваніми препаратом, дані показники вирівнювалися.

Результати випробування подразнюючої дії 10% - вого розчину засобу «Суходез» на шкіру кроликів представлені в таблиці 8.

Таблиця 8

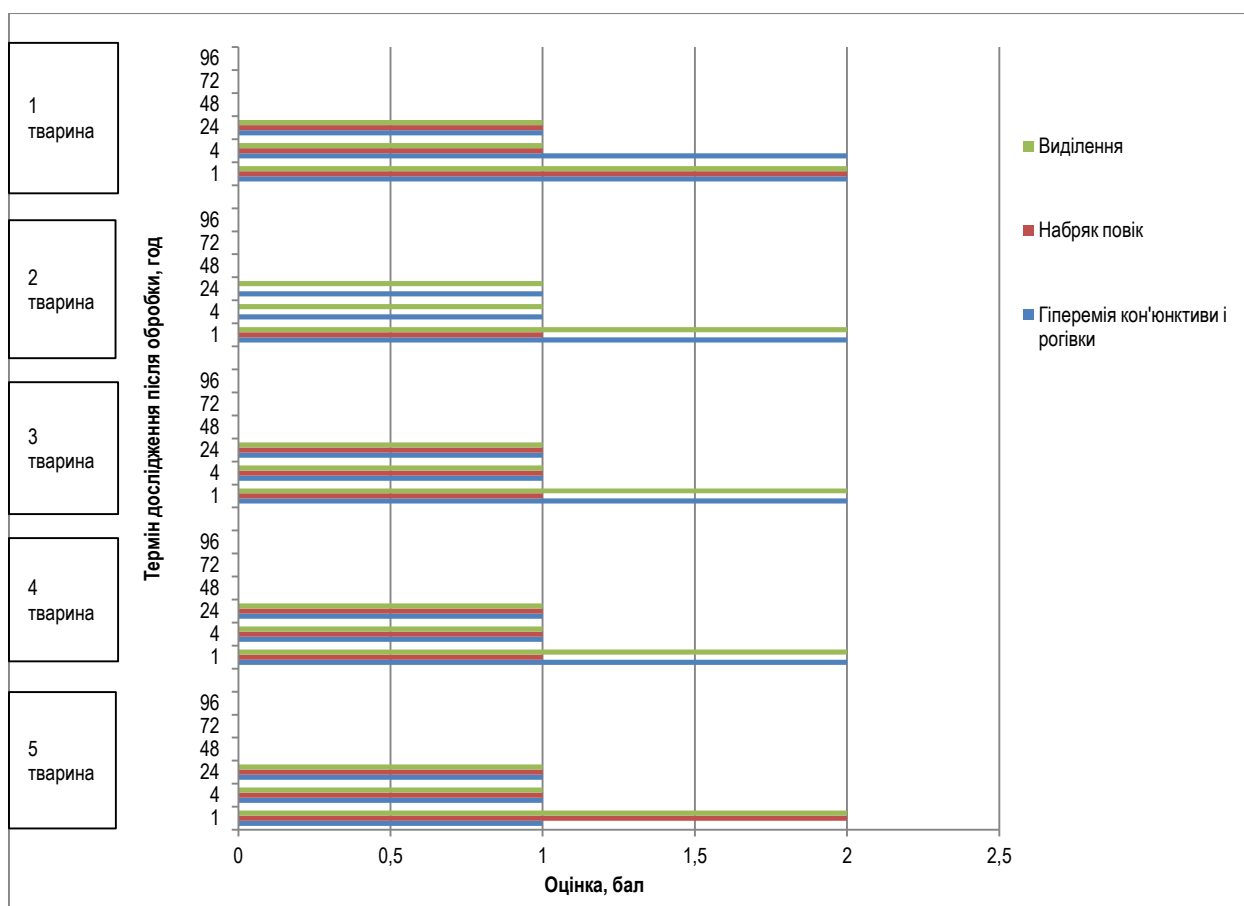
Результати вивчення подразнюючої дії 10%-вого розчину засобу «Суходез» на шкіру кролів.

Номер тварини	Маса, кг	К-сть препарату, мл	Індекс сумарного подразника, бал.
1	2,82	2,82	2,34
2	2,84	2,84	2,44
3	2,87	2,87	2,46
4	2,94	2,94	2,46
5	2,97	2,97	2,46
6	2,95	2,95	2,5
7	2,83	2,83	2,54
8	3,08	3,08	2,46
9	2,87	2,87	2,46
10	3,0	3,0	2,5
Середнє в групі	2,92±0,09	2,92±0,09	2,46±0,02

Встановили, що в середньому вираженість еритеми становить 2,46 бала. Відповідно до стандартів HOST 12.1.007 "Класифікація і загальні вимоги безпеки" даний засіб має помірно подразнюючу дію і відноситься до 3 класу небезпеки. Показники, що характеризують подразнюючу дію розчину засобу «Суходез» в гранично допустимій концентрації 60 мг/м³ на слизові оболонки очей кролів, представлені в діаграмі мал.1.

В середньому за підсумками проведених дослідів середній сумарний бал вираженості реакції на всіх 5 тваринах

складав від 0,5 до 0,7 балів., що свідчить про слабку ступінь вираженості ефекту. Також відразу після обробки препаратом, кролі починали турбуватися, чухати лапою очі. При цьому відзначали звуження очної щілини, помітне почервоніння слізної протоки і склери у напрямку до рогівці, набряк повік, значні виділення з зволоженням повік і вовни навколо очей, що проходять мимовільно протягом 24 - 48 годин. Даний факт вказує на слабкий виражений ефект подразнюючої дії засобу «Суходез» на слизові оболонки кролів.



Мал.1 Результати кон'юнктивальної проби на кролях

Висновки:

1. Засіб «Суходез» при пероральному введенні впродовж 30 діб дозі 2500 мг/кг маси тіла не спричиняв будь-якої негативної та токсичної дії на організм піддослідних щурів, не впливав на їх ріст та розвиток щурів, не спричиняв змін відносної маси внутрішніх органів та не призводив до зміни гематологічних показників в крові піддослідних тварин.

2. Дезінфікуючий засіб «Суходез» при нашкірних аплікаціях згідно ДСТУ ISO 10993-10 - 2011 має слабку дію ступенем відповідної реакції на подразнення у мишей і кролів. Разом з тим препарат при одноразовій обробці приміщення в

гранично допустимій концентрації 60 мг/м³ надає слабку подібною дію на слизові оболонки тварин, що дозволяє віднести його до 4 класу небезпеки.

3. Засіб «Суходез» при пероральному одноразовому введенні в дозах 1250, 2500 та 5000 мг/кг маси тіла не викликав загибелі піддослідних мишей та щурів. На цій підставі, засіб «Суходез» можна віднести до 4 класу небезпеки згідно до Міжнародного стандарту ГОСТ 12.1.007-76, або до категорії 5 за Міжнародною глобальною класифікацією Global Harmonized System, (GHS) (ЛД₅₀ при пероральному надходженні перевищує 5000 мг/кг маси тіла).

References:

1. Derzhavnyi reiestr veterinarykh preparativ, kormovykh dobavok, hotovykh kormiv ta premiksiv. [State register of veterinary drugs, feed additives, hot feed and premixes]. URL: http://vet.in.ua/menu/drugs.php?id_drugtype=7
2. Gilbert P. & Moore L. (2005). Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *Journal of Applied Microbiology*, 99(4), 703-715 [doi:10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x).
3. Lysytsia A., Stepaniak I., Mandyhra M. & Mandyhra Yu. (2008). Patent 34286 Ukraine, MPK (2006) A 61 K 33/00. Zasiб dezinfikuiuchy i Epidez [Patent 34286 Ukraine, IPC (2006) A 61 K 33/00. Disinfectant Epidez]. *Zaiavnyk i vlasnyk patentu Instytutu epizootologii UAAN [applicant and patent owner of the Institute of Epizootology UAAS]*, 01694; zaiavl. 08.02.2008; opubl. 11.08.2008, Biul. № 15. (in Ukrainian)
4. Mandyhra M., Lysytsia A., Stepaniak I. et al., (2009). Perspektivy vykorystannia polimernykh pokhidnykh huanidynu dlia dezinfeksii pry tuberkulozi [Prospects for the use of polymeric derivatives of guanidine for disinfection in tuberculosis]. *Naukovo-tekhichniy biuleten Instytutu biologii tvaryn i DNDKI vetpreparativ ta kormovykh dobavok [Scientific and technical bulletin of the Institute of Animal Biology and DNDKI veterinary drugs and feed additives]*, 10(4), 169-175. (in Ukrainian)
5. Mandyhra M., Serhiichyk S., Lysytsia A. et al. (2011). Patent na korysnu model № 63862 Zasiб dezinfikuiuchy stiiky do zamerzannia «Epi-dez-barier» [Patent for utility model № 63862 Disinfectant resistant to freezing "Epidemic barrier"], *Zaiavnyk i vlasnyk patentu Instytut epizootologii NAAN [Applicant and patent owner of the Institute of Epizootology UAAS]*, zaiavl. 14.03.2011 zaiavka № u 201102987; opubl. 25.10.2011, Biul. № 20. (in Ukrainian)
6. Mandyhra M., Lysytsia A., Stepaniak I., et al., (2009). Porivnialna otsinka bakterytsydnoi aktyvnosti riznykh pokhidnykh

huanidynu [Comparative evaluation of bactericidal activity of various guanidine derivatives]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho nats. universytetu vet. medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Gzhytskoho* [Scientific Bulletin of the Lviv National University. University of Vet. of Medicine and Biotechnology S. Gzhytsky], 2 (41), 220-226. (in Ukrainian)

7. Romanishyna O., Mandyhra-Melnyk Yu., Mandyhra M., & Lysytsia A. (2010). Biotsydna diia polimernykh pokhidnykh huanidynu na kulturu leptospir [Biocidal effect of polymeric derivatives of guanidine on leptospira culture]. *Naukovyi visnyk Natsionalnoho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy* [Scientific Bulletin of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine], 151(2), 166-170. (in Ukrainian)

8. Spysok zareistrovanykh veterynarnykh preparativ, kormovykh dobavok, hotovykh kormiv ta premiksiv [List of registered veterinary drugs, feed additives, finished feeds and premixes.]: URL: http://www.vet.gov.ua/sites/default/files/R_1_15.xl.s.

9. Zakon Ukrainy «Pro osnovni pryntsypy ta vymohy do bezpechnosti ta yakosti kharchovykh produktiv» vid 6 veresnia 2005 r. № 2809-IV. [Law of Ukraine "On Basic Principles and Requirements for Food Safety and Quality" of September 6, 2005 № 2809-IV.] URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/771/97-%D0%B2%D1%80#Text>

10. Zavorodnii A., Palii A., & Kalashnyk N. (2008). Bakterytsydni vlastyvoli dezinfektantu Delanol shchodo mikobakterii ta salmonel [Bactericidal properties of Delanol disinfectant against mycobacteria and salmonella]. *Veterynarna medytsyna. Mizhvidomchyi tematychnyi naukovyi zbirnyk* [Veterinary medicine. Interdepartmental thematic scientific collection], 91, 207-211. (in Ukrainian)

11. Fotina T., & Vashchuk, Y. (2017). Comparative evaluation of effectiveness of preparations "Saroflox" and enrofloxacin towards to the pathogens of poultry's bacterial diseases. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(77), 143–147. doi:10.15421/nlvvet7731.

12. HOST 12.1.007 - 76 SSBT. Shkidlyvi rehovyny. Klyasifikatsiia i zahalni vymohy bezpeky. [State standard 12.1.007 - 76 SSBT. Hazardous substances. Classification and general safety requirements].

13. Kasianenko O., Berezovskyi A., Kasianenko S., & Dolbonosova R. (2019). Analysis of the market of disinfectants in Ukraine. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*, 20(2), 439-445. doi:10.36359/scivp.2019-20-2.56

14. Khudiakov A. (2010). Efektyvna dezinfektsiia ta pidbir dezynfektanta [Effective disinfection and selection of disinfectant]. *Zhurnal Veterynarii* [Journal of Veterinary Medicine], 2, 18-22. (in Ukrainian)

15. Kolos Yu., Stets V., Tytarenko V. (2007). Rol sanitarnoi obrobky – dezinfektsii u pidtrymanni stabilnoho epizootychnoho blahopoluchchia u ptakhivnytstvi [The role of sanitation - disinfection while maintaining stable epizootic welfare in poultry]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy* [Veterinary medicine of Ukraine], 12, 28-30. (in Ukrainian)

16. Kotsiumbas I., Malyk, O., & Patereha, I. (2006). Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv [Preclinical studies of veterinary drugs]. *Vydavnytstvo Triada plus Lviv* [Triada plus Lviv publishing house], 360. (in Ukrainian)

17. Kotsiumbas I., Serhienko O., Kovalchuk L., et al. (2010). Suchasni zasoby veterynarnoi dezinfektsii [Modern means of veterinary disinfection]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy* [Veterinary medicine of Ukraine], 1, 36-38. (in Ukrainian)

18. Kovalenko V.. (2012). Suchasni dezinfektanty na kontroli biobezpeky. [Modern disinfectants for biosafety control]. *Biuletyn «Veterynarna biotekhnolohiia»* [Veterinary Biotechnology Bulletin], 21, 61–71. (in Ukrainian)

Daria Slaston, PhD student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Olena Kotsur, PhD student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Tatiana Fotina, Doctor of Sciences in Veterinary Medicine, Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Study of irritant and toxic effect of SUKHODEZ disinfectant

The article presents the results of the study of irritant and allergenic action of the disinfectant "Sukhodez" in the laboratory. As a result, we can say that the drug Sukhodez has a weak effect on the degree of response to irritation in mice and rabbits. However, the drug in a single treatment of the premises in the maximum allowable concentration of 60 mg / m³ has a moderately irritating effect on the mucous membranes of animals, which allows it to be classified as hazard class 3.

The vast majority of powder disinfectants are of foreign origin. Therefore, the study and development of powder disinfectants for bedding in agriculture, in particular in poultry is currently quite relevant. According to the results of our study, there are currently no more than 9 manufacturers of disinfectants in agriculture in Ukraine. At the same time, representatives of disinfectants of foreign origin outnumber this number dozens of times.

We studied the toxicity of Sukhodes with long-term oral administration to two groups of white rats selected according to the principle of analogues. We also studied the effect of the drug on the condition of internal organs, which was assessed by comparing their relative mass ratios.

The ability of the drug to penetrate the skin was evaluated after the experiment. The clinical picture of animal intoxication and the effect on the central nervous system were taken into account. In addition, the method of "swimming" was used to assess the performance of mice. To do this, recorded the time during which the animal could stay on the surface of the water.

We did research on the local irritant effect of "Sukhodez". Determined by the method of skin applications, which allows to detect the development of mice in non-allergic contact dermatitis depending on the dose of the substance used.

The study of the toxicity of the drug "Sukhodes" with prolonged oral administration showed that the introduction of the drug at a dose of 2500 mg / kg body weight for 30 days did not affect the clinical condition and behavior of rats. No foreign or negative effects of Sukhodes were recorded throughout the experiment. Animals willingly consumed food and water, were mobile, responded adequately to sound and tactile stimuli. The studies revealed low toxicity of the drug.

Based on the research, we concluded that the tool "Sukhodez" does not cause the death of experimental rats and mice and it

can be classified as hazard class 4 according to the International Standard GOST 12.1.007-76, or category 5 according to the International Global Classification Global Harmonized System, (GHS).

Key words: disinfection, disinfectant, laboratory, microorganisms, allergy, subtraction.

Дата надходження до редакції: 20.10.2020 р.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ДЛЯ ПТИЦІ ФЕРМЕНТА З ПРОТЕОЛІТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ «СІБЕНЗА® ДП 100» У ПЕРІОД НЕСУЧОСТІ

Фотіна Тетяна Іванівна

доктор ветеринарних наук, професор
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0001-5079-2390
tatiana.fotina@snau.edu.ua

Назаренко Світлана Миколаївна

кандидат ветеринарних наук
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0001-6733-8565
svetlana.nazarenko@snau.edu.ua

Фотін Олексій Володимирович

кандидат ветеринарних наук доцент
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0002-1872-3341
alexey.fotin@snau.edu.ua

Тимошенко Роман Юрійович

аспірант
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0003-4378-6376
roman.tymoshenko@novusint.com

В статті наведені результати застосування птиці фермента з протеолітичною активністю «Сібенза® ДП 100» у період несучості. При аналізі кормів і посліду встановлено, що застосування препарату «Сібенза® ДП100» в дозі 250 і 500 г на 1 т корму позитивно вплинуло на його засвоюваність. Це виражається в поліпшенні коефіцієнтів засвоюваності сухої речовини, азоту, органічної речовини і валової енергії. Після закінчення дослідів птиця, в раціоні якої для годівлі був доданий препарат «Сібенза® ДП100», за живою масою переважала особин контрольної групи: відповідно на 85 г (при додаванні 250 г на 1 т корму) і на 22 г (при додаванні 500 г на 1 т корму). Крім того, в раціоні значно покращився коефіцієнт засвоєння сухої речовини (на 7 і на 8,6 %), азоту (на 42 і на 57 %), органічної речовини (на 6 і на 9 %) і обмінної енергії (на 5 і на 9 %). Під час визначення каротиноїдів та масової частки жиру в жовтках виявлено, що всі зразки відібраних яєць з 3-х партій містять допустиму кількість речовин, що вказує на доброякісну та збалансовану годівлю курей-несучок.

Ключові слова: кури-несучки, «Сібенза® ДП100», якість яйця, продуктивність птиці, поживні речовини.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.3.3>

Вступ. Ферменти - біокаталізатори. Вони можуть прискорювати реакції, не нейтралізуючись в процесі реакції, ця особливість робить їх потужним інструментом в оптимізації рецептів для годівлі птиці. Ферменти залучені в контроль всіх реакцій, пов'язаних із життям і синтезуються практично всіма живими організмами: тваринами, рослинами і мікроорганізмами. Ферменти використовуються протягом декількох років, щоб природно обробити і зберегти сільськогосподарські продукти, але швидкий розвиток молекулярної біології дозволило збільшити розвиток і застосування промислових ферментів (Катеринич О. та ін., 2018).

Спочатку ферменти використовувалися в спиртогорілчаній, пивоварній, хлібопекарській, текстильній промисловості, при промисловому отриманні лимонної кислоти шляхом ферментації. Перша стаття, яка вказує на користь використання екзогенних ферментів в кормах, була опублікована приблизно 20 років по тому (Катеринич О. та ін., 2018; Палій А., 2019).

Новий напрямок кормових ферментів - це ферменти

з протеолітичною активністю. Протеази класифікують за механізмом дії. Залежно від будови функціональної групи каталітичного центру і послідовності амінокислот, що входять до складу ферменту, протеази поділяють на 4 групи: серинові, аспарагінові, цистеїнові (тіолові) і металопротеази. Кожна група позначається певною буквою кодування, яка визначає тип каталази: S, C, A, M і U, відповідно позначає серинові, цистеїнові, аспарагінові, метало-, а також протеази з невідомим каталітичним механізмом (Палій А., 2019).

Екзогенні протеази мають дуже специфічну активність: вони доповнюють ендогенні ферменти, які природно присутні в шлунково-кишковому тракті птиці. Застосування протеази в корми птиці забезпечує більш ефективне засвоєння білка. Складний процес перетравлення харчових білків в травному тракті «налаштований» таким чином, щоб шляхом послідовної дії протеолітичних ферментів позбавити білки корму видової і тканинної специфічності і надати продуктам розпаду здатності всмоктуватися в кров через стінку кишечника (Царенко П.П., 1988).

Одна з важливих цілей застосування протеолітичних ферментів, крім збільшення доступності білків корму тваринами - це зниження виділення не засвоєних поживних речовин в навколишнє середовище з калом. Занепокоєння суспільства щодо впливу сільського господарства, особливо тваринництва, на навколишнє середовище збільшується. Якщо білки корму не повністю використовуються тваринами при травленні, то не засвоєний білок виділяється з послідом в навколишнє середовище, де в подальшому білки перетворюються в аміак і нітрат, завдаючи шкоди екології навколишньому середовищі (Глебова Ю. та ін., 2014).

Нижче розглянемо деякі протеази, представлені ринку.

Ензинат Гроу 125 протеаза, виробник ферменту - компанія Jеfo. Це фермент з класу гідролаз, який розщеплює пептидні зв'язки між амінокислотними залишками в білкових ланцюгах. У складі препарату дегідровані культури дріжджів, які містять протеазу (*streptomyces*). Форма випуску: порошок бежевого кольору, без запаху. Застосування добавки в корми дозволяє більш раціонально використовувати протеїн кормів, а саме замінювати до 7 % протеїну раціону або до 10 % засвоєваних амінокислот.

Використання Ензинат Гроу 125 сприяє поліпшенню стану кишечника тварин, знижує в'язкість вмісту кишечника, підвищує рівень росту молодняка і знижує його смертність. Препарат додають в корми, білково-вітамінно-мінеральні концентрати і премікси на комбікормових заводах або кормоцехах господарств, використовуючи існуючі технології змішування. Вплив протеази Ензинат Гроу 125 на продуктивність і здоров'я кишечника птиці, які отримували рецепти згідно раціону і рецепти зі зниженою поживністю досліджували в Бразилії (Глебова Ю. та ін., 2014).

Об'єктом дослідження були курчата кросу Кобб, період вирощування птиці - 42 доби. Використовувалися рецепти двох видів: стандартний раціон на основі нормативів бразильських таблиць для сільськогосподарської птиці та рецепти зі зниженою поживністю, зі зменшенням сирого протеїну на 6 % і основних засвоєваних амінокислот. Рецепти були або доповнені Jеfo протеазой в дозуванні 125 г/т або ні. Ефективність оцінювали шляхом зважування в періоди (1-7, 7-21, 21-35 та 35-42). До 7 днів між групами не було достовірних відмінностей у живій масі. Групи, які споживали рецепти зі зниженою поживністю і без протеази були по живій масі менше всіх ($P < 0,05$). При цьому, рецепти з протеазой, але зі зниженою поживністю дали позитивний ефект на приріст живої маси птиці ($P < 0,05$) і відповідали аналогічній продуктивності птиці, яких годували рецептом стандартним раціоном без протеази. У 42-денному віці, птиці, вирощувані на стандартному раціоні + Протеаза, відрізнялися найбільшою живою масою (+24 грама, $P = 0,1$). Що стосується аналізу здоров'я кишечника, встановлено, що птиця із додаванням протеази, показала найкращий морфологічний стан цього органу.

Кормова добавка Сібенза ДП 100 (Cibenza DP 100) виробництва компанії «Новус Інтернешнл Інк» являє собою термостабільний протеазний фермент широкого спектра дії, отриманий з бактерій штаму *Bacillus licheniformis* PWD-1, який доповнює ендogenous ферменти організму для більш ефективного гідролізу важкоперетравних білків в кормі.

Для оцінки впливу протеази на продуктивність промислового стада бройлерів і на собівартість виробництва м'яса були проведені дослідження на 720 добових курчат кросу Кобб 500. Результати досліджень були представлені Павезі М. і співавт. в 2011 р на XXII Конгресі по птахівництву в Бразилії. У відповідності зі схемою дослідження все поголів'я випадковим методом розділили на три групи по вісім повторень, в кожній з яких було 30 голів. Програма годування складалася з чотирьох фаз: престаертер (1-7 днів), ертер (8-21 день), ріст (22-35 днів) і фініш (36-42 днів). Застосовували раціони на основі кукурудзи, соєвого шроту, м'ясо-кїсткового борошна (по 5 % в престаертерному і ертерному раціонах, по 4 % для росту і фінішному) і пір'яного борошна (по 2 % в раціонах для росту і фінішному). В результаті застосування «Сібензи ДП 100» в раціоні зі зниженим вмістом амінокислот і обмінної енергії значно покращилися такі показники, як конверсія корму і середньодобові прирости бройлерів, в порівнянні з контрольною групою, птиця якої отримувала стандартний раціон. При зіставленні з контролем жива маса курчат в групі зі зниженим вмістом амінокислот була на 80 г більше, при одночасному зниженні споживання корму - на 60 г (Фисинин В., 1998; Бородай В.П. та ін. 2000).

RONOZYME® ProAct - виробник компанії DSM.

РОНОЗИМ. Фермент, який застосовують для поліпшення засвоєння протеїну в кормах для домашніх птахів, свиней та інших моногастричних тварин, він здатний гідролізувати протеїни до пептидів і амінокислот.

РОНОЗИМ Проактив (СТ) термостійка протеаза, отримана шляхом глибинної ферментації *Bacillus licheniformis*. В системі IUB (Міжнародний Біохімічний Союз) РОНОЗИМ Проактив (СТ) класифікується як протеаза.

Препарат випускається у вигляді гранул бежевого кольору, покритий оболонкою. Гранульовані частинки мають середній розмір 500 мкм. Не утворює пилу, що є суттєвою перевагою в порівнянні з порошкоподібними ферментами. Загальні рекомендації з дозування: 200 г/тону корму (Фисинин В., 1998; Бородай В.П. та ін. 2000).

Результати застосування протеази Проактив в годівлі курчат-бройлерів (птахофабрика «Човни-Бройлер») свідчили про збільшення збереженості поголів'я птиці на 1 %, зниження конверсії корму на 0,1 пункт, в порівнянні з групою курчат, які не споживали протеазу. За рахунок збільшення збереженості поголів'я в групі птахів, в раціон яких вводили протеазу, було отримано на 0,24 кг більше живої маси бройлерів на 1 см² (Катеринич О. та ін., 2018).

В результаті проведення експерименту в промислових умовах ЗАТ "Птахофабрика Роскар" використання ферментного препарату «Ронозім Проактив» в раціонах для бройлерів дозволило здешевити комбікорми за рахунок більш широкого використання недорогої сировини. Застосування протеази сприяє збільшенню середньодобового приросту живої маси курчат на 3,3 г, в порівнянні з контролем. У масштабах птахофабрики подібна програма дозволяє отримати велику економію на кормах тільки завдяки використанню ферменту «Ронозім Проактив».

ТестакПРО-протеаза виробництва бразильської компанії TECTRON. Протеаза отримана від *Aspergillus niger* і *Bacillus subtilis*. Норма введення 125 г на тону корму. Термостабільна протеаза, включає в себе суміш двох протеаз: кисла, що працює в шлунку (рН 2,5 ~ 3,5); нейтральна, яка працює в кишечнику (рН 6,7 ~ 7,5).

Оцінка впливу TECMAX-PRO в раціонах для бройлерів від 1 до 42-денного віку, була здійснена в досвіді на фермі Державного університету Londrina. В експерименті використовувалися дві фази годування (від 1 до 21 і від 22 до 42 днів). Були сформовані 4 групи бройлерів кросу Кобб: РС: позитивний контроль; негативний контроль (зі зниженою поживністю); NC + 125 г ТестмахПро «зверху»; PC + 125 г ТестмахПро «зверху».

Група NC + 125 г ТестмахПро «зверху» демонструвала високі показники по живій масі в 42 доби. Результат дослідження показав, що використання ТестмахПро ефективно при зниженні поживності в раціоні (Катеринич О. та ін., 2018).

Акстра™ PRO301 TPT (Astra® PRO301 TPT) - протеаза, виробництва компанії

«Genencor International OY» / «Джененкор Інтернешнл ОУ», Фінляндія. Акстра™ PRO301 TPT містить діючу речовину фермент субтилізин (протеаза) з активністю не менше - 80000 од/г (штам-продуцент *Bacillus subtilis*); допоміжні речовини: сульфат натрію, гідратований силікат магнію (тальк), крохмал, полівініловий спирт. Дана добавка не містить генно-модифікованих продуктів і організмів, спеціально розроблена для використання у всіх типах раціонів. Її використання підвищує перетравність білка, руйнує антипоживні речовини в різних компонентах кормів для сільськогосподарської птиці і свиней.

Для встановлення впливу протеази Акстра™ PRO301 TPT на засвоєння амінокислот птицею був проведений дослід дослідниками Аяаї, Н.І., Cowieson, A.J & Roos, F.F. В експерименті було задіяно 3 групи птиці: 1 - контроль - звичайний раціон; 2 - негативний контроль зі зниженою поживністю; 3 - негативний контроль + додавання протеази. Група курчат з додаванням протеази AXTRA PRO показала зменшення конверсії корму в порівнянні з групою, зі зниженою поживністю рецепта в віці 42 доби. Рівень засвоєних амінокислот в раціоні зі зниженою поживністю був в середньому на 3 % нижче, ніж в контрольному раціоні, а також знижена енергія на 40 ккал/кг ($P < 0,05$) (Палій А., 2019).

Таким чином, аналіз досвіду використання ферментів протеолітичної дії в харчуванні птахів, свідчить про доцільність їх використання в складі раціонів. Цікавим є комплексне вивчення їх біологічного дії на організм птахів.

Високий рівень несучості залишається ключовим параметром для визначення рентабельності комерційних стад курей-несучок. В останні кілька десятиріч цей показник значно покращився. Для підтримки продуктивності птиці на високому рівні велику увагу приділяли збереженню її здоров'я, зокрема шлунково-кишковому тракту.

Відомо, що на стан кишечника великий вплив має раціон. Існує широкий асортимент доступних кормових інгредієнтів, які відрізняються і по вартості, і по якості поживних речовин. Для максимально ефективного використання поживності сировини і оптимізації структури рецепта існують додаткові інструменти, які допомагають забезпечити постійну рентабельність господарств. Численні дослідження довели, що додавання препарату протеаз в корм курей-несу-

чок при одночасному зменшенні в ньому кількості сирого протеїну, засвоєних амінокислот і обмінної енергії дозволяє підтримувати продуктивність птиці і якість яєць на попередньому рівні. При цьому витрати на корм істотно зменшуються (Катеринич О. та ін., 2018). Таким чином, дослідження ефективності використання протеаз є актуальною проблемою.

Мета досліджень. Оцінити ефективність застосування кормової добавки «Сібенза® ДП 100» в раціоні курей-несучок в двох різних дозах, а також визначити вплив добавки на засвоєність поживних речовин та якість та безпечність харчового яйця.

Матеріали і методи досліджень. «Сібенза® ДП100» від компанії «Новус» - це кормова добавка, яка в своєму складі має термостабільну протеазу високої концентрації. Препарат характеризується широким спектром дії, спрямованої на поліпшення засвоєності різних протеїнів, як тваринного так і рослинного походження у раціонах для птиці. Дослідження проводились в умовах птахо господарства ТОВ «Сумітехноорм» Сумської області.

Методом випадкової вибірки було відібрано 240 курей-несучок кросу «Хай Лайн Браун» що були поділені на три групи по сім голів у клітці (десять повторень на групу). Починаючи з піку несучості (24-й тиждень) і до кінця досліду (48-й тиждень, всього 168 днів) птиця обох груп отримувала стандартний раціон. У корм курей-несучок дослідних груп додавали препарат «Сібенза® ДП100»: першій дослідній групі - в дозі 250 г на 1 т, другій - 500 г на 1 т. Птиця контрольних груп отримувала лише стандартний комерційний раціон.

Корми були розсіпними, мали однакову поживність згідно із рекомендаціями по вирощуванні цього кросу і не містили в своєму складі кормових антибіотиків, кокцидіостатиків та інших стимуляторів росту.

Для оцінки впливу фермента на засвоєння поживних речовин брали проби із кожної партії корму і проводили приблизний аналіз на вміст валової енергії (ВЕ) і оксида титана. Щоб розрахувати загальну засвоєність поживних речовин у шлунково-кишковому тракті, із сьомого тижня на чотири повних дні під клітками розмістили лотки для щоденного збору посліду і подальшого аналізу маркера, вмісту сухої речовини, азоту та енергії.

На підставі отриманих даних відносно інтенсивності несучості, кількості вибракованих яєць (тріснутих, брудних, із несформованою шкаралупою і пошкоджених) і конверсії корму (1 кг для виробництва одного яйця) визначили продуктивність птиці. Показники щодня фіксували і після кожних чотирьох тижнів дослідження проводили розрахунок. Ветеринарно-санітарне інспектування харчових яєць проводили відповідно до ДСТУ 5028:2008 «Яйця курячі харчові. Технічні умови» (ДСТУ 5028:2008).

Результати власних досліджень. На першому етапі досліджень було сформовано раціон для дослідних та контрольних груп. Компоненти корму поживні цінності наведені у таблиці 1 та 2.

Аналізуючи складові компоненти та поживну цінність раціону птиці можна зробити висновок, що раціон збалансований за головними компонентами.

Таблиця 1

Результати аналізу складових раціону яких використовувалася для годівлі птиці, %

Компонент	Період, тижд.		
	24-44		
	перша, друга*, третя партія	четверта партія	45-48
Кукурудза	43,46	43,96	44,63
Рапсовий шрот	18,8	18,8	18,8
Сонях	7	7	7
Шрот сої, містить 48 % протеїну	4	3	2,2
Олія	3	3	3
Карбонат кальція (великого помелу)	7,5	8	8,1
Карбонат кальцію	2	2	2
Дикальцій фосфат	2	2	2
Хлорид натрію	1,3	1,3	1,3
МНА	0,23	0,23	0,26
L-лізин HCL	0,2	0,2	0,2
L-триптофан	0,05	0,05	0,05
Мінерально-вітамінний премікс -1	0,4	0,4	0,4
Кантакол 10 % (пігмент)	0,0025	0,0025	0,0025
Ксамакол (пігмент) в дозі 40 г на 1 кг корма	0,0025	0,0025	0,0025

* Корм другої партії має маркер (TiO₂) в дозі 5 кг/т для вимірювання засвоюваності.

Таблиця 2

Результати аналізу поживної цінності раціонів різних груп птиці (розрахункові величини)

Компоненти	Період, тижд.		
	24-44		
	перша, друга*, третя партія	четверта партія	45-48
ОЕ, ккал/кг	2628	2628	2628
Сирий протеїн, %	13,9	14	13,2
Амінокислоти, що засвоюються, %:			
лізин	0,58	0,58	0,54
метіонін+цистин	0,53	0,53	0,5
треонін	0,45	0,45	0,43
триптофан	0,12	0,12	0,12
Сирий жир, %	4,6	3,7	5,9
Сира клітковина, %	4,2	4,2	4,1
Зола, %	12,1	12,1	12,9
Сухий залишок, %	87,6	86,8	87,4
Макроелементи, %:			
натрій	0,15	0,15	0,15
хлор	0,26	0,27	0,26
фосфор	0,64	0,64	0,6
Нефітатний фосфор	0,35	0,35	0,32
кальцій	3,54	3,54	3,9

* Корм другої партії має маркер (TiO₂) в дозі 5 кг/т для вимірювання засвоюваності.

Крім того, аналіз результатів довів переваги застосування препарату «Сібенза® ДП100» для підтримання високого рівня несучості. Отже, за період експерименту у курей-несучок, які отримували протеазу в дозі 250 г на 1 т корму, істотно збільшилася несучість (+ 5 % відносно контрольної групи, $p = 0,016$) і середня маса яйця, а також достовірно зменшився коефіцієнт конверсії корму (- 5 % відносно контрольної групи).

Продуктивність курей-несучок другої дослідної групи, які отримували раціон з добавкою «Сібенза® ДП100» у дозі 500 г на 1 т корму, також була на багато вища, ніж у контрольної групи, в раціон яких протеазу не використовували.

Після закінчення досліду птиця, в раціоні якої для годівлі був доданий препарат «Сібенза® ДП100», за масою тіла переважала особин контрольної групи: відповідно на 85 г (при додаванні 250 г на 1 т корму) і на 22 г (при додаванні 500

г на 1 т корму).

Доведена ефективність дії кормової добавки «Сібенза® ДП100» на кількість відсоток вибракуваних яєць (відсоток яєць із несформованою шкаралупою, тріснутих, брудних і з іншими технічними дефектами), так в дослідних групах цей показник був нижчим ніж у контролі.

При проведенні аналізу кормів і посліду доведено, що застосування кормової добавки «Сібенза® ДП100» в дозі 250 і 500 г на 1 т корму позитивно вплинуло на його засвоювання. Це виражається в підвищенні коефіцієнтів засвоюваності сухої речовини, азоту, органічної речовини і валової енергії. Відсоток сухої речовини в контролі 53,1, а в досліді цей показник збільшився до 57 -57,7%. Показники азоту також були вище на 0,8 -1,3 %. Валова енергія у контрольній групі була 2750 ккал/кг, а в дослідних групах цей показник становив 2888 - 2993 ккал/кг (таблиця 3).

Вплив кормової добавки «Сібенза® ДП100» на засвоєння сухої речовини, азоту, органічної речовини і валової енергії в кишечнику птиці

Показник	Група			р
	контрольна	дослідна		
		«Сібенза® ДП100», 250 г на 1 т корму	«Сібенза® ДП100», 500 г на 1 т корму	
Суха речовина, %	53,1	57	57,7	0,003
Азот, %	60,2	61,5	61	<0,001
Валова енергія, ккал/кг	2750	2888	2993	<0,001

Примітка. 30 повторень, з них 10 - в групі з 8 голів; відбір проб посліду з 47-го по 50-й день досліду.

При оцінці якості яєць було відзначено позитивний вплив кормової добавки на харчову цінність яєць. Так, через 16 тижнів від початку дослідження колір жовтка яєць, одержаних від курей-несучок, яким згодовували раціон з додаванням препарату «Сібенза® ДП100» в дозі 250 або 500 г на 1 т корму, значно покращився (відповідно на 0,2 і на 0,3 RYCF у порівнянні з аналогічним показником у контрольній групі, $p < 0,05$) і не змінився до закінчення досліду.

Під час визначення каротиноїдів та масової частки жиру в жовтках виявлено, що всі зразки відібраних яєць з 3-х партій містять допустиму кількість речовин, що вказує на доброякісну та збалансовану годівлю курей-несучок (таблиця 4).

Під час визначення показників безпечності яєць у всіх відібраних пробах не містилось перевищення допустимого рівня жодних токсичних елементів і антибіотиків.

Таблиця 4

Показники каротиноїдів та вмісту жиру в жовтку харчових яєць

Група	Каротиноїди, мкг/г	Вміст жиру в жовтку, %
контрольна	15,38	32
дослідна 1	17,42	34
дослідна 2	18,31	36

Доведено, що це обумовлено покращенням засвоєння поживних речовин корму та, як наслідок, поліпшення здоров'я кишечника завдяки кращому перетравленню протеїна.

Безперечно, в сучасних умовах кури-несучки отримують збалансований раціон з оптимальною поживністю, але доповнення його протеазами «Сібенза® ДП100» в період несучості сприяє підтримання високого рівня продуктивності за рахунок поліпшення засвоюваності кормової сировини, багатої протеїном.

Результати нашого дослідження показали, що застосування препарату «Сібенза® ДП100» в дозі 250 і 500 г на 1 т корму має позитивний вплив. Про це свідчить те, що рівень несучості зріс на 5 % ($p < 0,10$), вихід яєчної маси - майже на 8 % ($p < 0,01$), вага яйця - на 2 і на 3 % відповідно ($p < 0,05$), а також покращилася конверсія корму і якість яйця.

Крім того, значно покращився коефіцієнт засвоєння сухої речовини (на 7 і на 8,6 %), азоту (на 42 і на 57 %), органічної речовини (на 6 і на 9 %) і обмінної енергії (на 5 і на

9 %).

Таким чином, збагачення кормів для курей-несучок протеазами «Сібенза® ДП100» сприяє збільшенню продуктивності птиці і дозволяє знизити витрати корму на виробництво одиниці продукції, а також отримати безпечно та якісне харчове яйце.

Висновки. 1. Продуктивність курей-несучок дослідних груп, які отримували раціон з добавкою «Сібенза® ДП100» у дозі 250 і 500 г на 1 т корму, була вища на 5%, вихід яєчної маси - майже на 8 %, вага яєць - на 2 і на 3 % вище, ніж у контрольних групах, в раціоні яких протеазу не використовували.

2. В харчових яйцях отриманих від птиці, що отримували кормову добавку «Сібенза® ДП100», кількість каротиноїдів була вища на 2,04 – 2,93 мкг/г, а масова частка жиру на 2-4%, що вказує на їх доброякісність та високу харчову цінність.

References:

1. Tsarenko P.P. (1988), *Povyshenye kachestva produktsyy ptytsevodstva: pyshchevye y unyubatsyonnye yaytsa* [Improving the quality of poultry products: food and hatching eggs]. L.: *Agropromizdat*, 240 p. (in Ukrainian)
2. Demchuk M., Kravtsov R. (2003), *Roľ likarya veterynaranoi medytsyny v realizatsiyi normatyvno-pravovykh aktiv, hihiyenykh norm, veterynarno-sanitarnykh vymoh i pravyl shchodo vyrobnytstva produktsiyi tvarynnystva* [The role of veterinary medicine in the implementation of regulations, hygienic norms, veterinary and sanitary requirements and rules for the production of livestock products]. *Veterinarna medicina Ukrainy* [Veterinary Medicine of Ukraine]. 3, 44- 46. (in Ukrainian)
3. Borodai V.P. (1998), *Teoriya i praktyka udoskonalennya ptytsi m' yasnykh krosiv* [Theory and practice of improving poultry meat crosses]. Kherson, 100 p. (in Ukrainian)
4. Fisinin V. (1998), *Polnee yspol'zovat' nauchnyy potentsyal* [Make fuller use of scientific potential], *Ptkhivnystvo* [Poultry]. 3, 22-24. (in Ukrainian)
5. Borodai V.P., Vertiyuchuk A.I., Tsyganyuk O.V., Melnyk V.V. (2000), *Naukovi aspekty rozvytku ptkhivnystva v Ukraini* [Scientific aspects of poultry development in Ukraine], *Agrarna nauka I osvita* [Agrarian science and education]. 1,1, 104-108. (in Ukrainian)
6. DSTU 5028: 2008 (1998), «Yaytsya kuryachi kharchovi. Tekhnichni umovy» [“Chicken food eggs. Technical conditions”]. 11 p. (in Ukrainian)

7. Fisina A.Sh. (2004), Resursoberehayushchaya tekhnolohyya proyzvodstva yayts [Metodycheskye rekomendatsyy Resourcesaving technology of egg production. Methodical recommendations], Sergiev Posad. 112 p. (in Russian)
8. Glebova Y., Vertiyuchuk A. (2014), Diyetychni vlastyvoli kuryachykh kharchovykh yayets' [Dietary properties of chicken eggs]. *Ptakhivnytstvo [Poultry breeding]*. 6, 24–26. (in Ukrainian)
9. Katerynych O., Pankova S. (2018), Shcho potribno znaty fermeru pro yakist' yayets' i mozhlyvosti yiyi pokrashchennya [What a farmer needs to know about the quality of eggs and opportunities for its improvement]. *Ptakhivnytstvo [Poultry breeding]*. 11, 10–12. URL:<http://avianua.com/pticevod/index.php?productID=197> (in Ukrainian)
10. Paliy A. (2019), Vady shkarlupy yayets': prychny vynyknennya [Eggshell defects: causes], *Ptakhivnytstvo [Poultry breeding]*. 5, 24–25. (in Ukrainian)

Tatiana Fotina, Dr. of Sciences in Veterinary Medicine, Professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Svitlana Nazarenko, PhD in Veterinary Medicine Sciences, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Olexii Fotin, PhD in Veterinary Medicine Sciences, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Roman Timoshenko, postgraduate student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

Application of enzyme with proteolytic activity of "Sibenza® DP 100" for birds in the egg laying period

Introduction. It is known that the condition of the intestine is greatly influenced by diet. There is a wide range of available feed ingredients that vary in both cost and quality of nutrients. To make the most efficient use of raw materials and optimize the structure of the recipe, there are additional tools that help ensure constant profitability of farms. "Sibenza® DP100" from Novus is a feed additive that contains a highly stable thermostable protease.

The goal of the work. To evaluate the long-term cost-effectiveness of the drug "Sibenza® DP100" in the diet of laying hens in two different doses, as well as to determine the effect of the additive on the absorption of nutrients and evaluate the quality and safety of egg.

Materials and methods of research. 240 laying hens of the High Line Brown cross were randomly selected and divided into three groups of seven heads per cage (ten replicates per group). From the peak of laying (24th week) to the end of the experiment (48th week, only 168 days), the birds of both groups received a standard diet. "Sibenza® DP100" was added to the feed of laying hens of the experimental groups: the first - at a dose of 250 g per 1 ton, the second - 500 g per 1 t. Analogs of the control group consumed only the standard commercial diet.

Results of research and discussion. In the analysis of feed and manure it was found that the use of the drug "Sibenza® DP100" at a dose of 250 and 500 g per 1 ton of feed had a positive effect on its absorption. This is expressed in the improvement of the coefficients of digestibility of dry matter, nitrogen, organic matter and gross energy. At the end of the experiment, the bird, in the diet of which was added for feeding the drug "Sibenza® DP100", the live weight was dominated by individuals of the control group: respectively 85 g (with the addition of 250 g per 1 ton of feed) and 22 g (with the addition of 500 g per 1 ton of feed). In addition, the absorption rate of dry matter (7 and 8,6 %), nitrogen (42 and 57 %), organic matter (6 and 9 %) and metabolic energy (5 and 5 %) significantly improved in the diet. 9 %). During the determination of carotenoids and mass fraction of fat in the yolks, it was found that all samples of selected eggs from 3 batches contain an acceptable amount of substances, which indicates a good and balanced feeding of laying hens.

Conclusions. 1. It was found that the productivity of laying hens of experimental groups that received a diet with the addition of "Sibenza® DP100" at a dose of 250 and 500 g per 1 ton of feed was higher than in control groups in which the diet did not use protease. 2. Therefore, during the determination of carotenoids and mass fraction of fat in the yolks, it was found that all samples of selected eggs from 3 batches contain an acceptable amount of substances, which indicates a good and balanced feeding of poultry.

Key words: laying hens, Sibenza® DP100, egg quality, poultry productivity, nutrients

Дата надходження до редакції: 27.10.2020 р.

ДО ЕПІЗООТОЛОГІЇ КИШКОВОГО ІЕРСИНІОЗУ СОБАК

Зон Ілля Григорович

аспірант

Сумський національний аграрний університет (м.Суми, Україна)

ORCID: 0000-0001-9969-3465

zonillya@hotmail.com

Зон Григорій Анатолійович

кандидат ветеринарних наук, професор

Сумський національний аграрний університет (м.Суми, Україна)

ORCID: 0000-0001-8205-4149

hryhorii.zon@snau.edu.ua

Івановська Людмила Борисівна

кандидат ветеринарних наук, доцент

Сумський національний аграрний університет (м.Суми, Україна)

ORCID: 0000-0001-7406-0696

liudmyla.ivanovska@snau.edu.ua

В роботі представлені матеріали щодо скринінгових серологічних досліджень по з'ясуванню рівня контамінації *Y. enterocolitica* собак різних за статтю, віком, умовами утримування і годування. З діагностичною метою в реакції аглютинації використовували вітчизняний набір ієрсиніозних антигенів сероварів O:3, O:6.30, O:9, що є найбільш поширеними серед тварин. Найбільша кількість позитивних реакцій виявлена на ієрсиніозний антиген O:9 - 114 проб, що склало 46,9 %. До антигену O:6.30 було виявлено 49 позитивних сироваток - 20,2 %, а на антиген O:3 - 9,9 % від загальної кількості позитивних реакцій; у 23 % випадках встановлені змішані позитивні реакції. Встановлена неоднорідність контамінації сероварами збудника кишкового ієрсиніозу в різних регіонах України собак. Позитивно реагуючими на ієрсиніозні антигени є переважно тварини 1-3 років, у собак понад 4 років спостерігаються поодинокі випадки позитивних реакцій. Не виявлено достовірної статеві та порідної схильності цього виду тварин до захворювання на кишковий ієрсиніоз. Позитивні реакції на ієрсиніозні антигени виявляли незалежно від породи і статті. Показано, що у сироватці крові певних особин виявляються доволі високі титри антитіл на кишковий ієрсиніоз, які можуть свідчити про захворювання або активне бактеріоносійство збудника та потенційну можливість його виділення в оточуюче середовище. Середній титр в сироватках собак з антигеном O:3 становив 1:190,5, з ієрсиніозними антигенами O:6.30 - 1:291,4 та O:9 - 1:364. За різних умов утримання і годування собак контакт з ієрсиніями є неоднаковим і коливається від 40,7 до 85 %.

Ключові слова: *Y. enterocolitica*, кишковий ієрсиніоз, собаки, епізоотологія, ієрсиніозні антигени.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.3.4>

Вступ. Проблема ієрсиніозів набула особливої актуальності в зв'язку зі зростанням захворюваності серед людей. В Україні дослідженню ієрсиніозу тварин, зокрема собак, приділяється недостатньо уваги, не з'ясовано багато питань щодо епізоотології, діагностики, клінічного перебігу, лікування і профілактики хвороби. Досі не з'ясована роль собак як природного резервуара збудника ієрсиніозу та потенційних переносників його до людини. В офіційних формах ветеринарної звітності не приділяється уваги ієрсиніозам будь-яких тварин. В лабораторіях ветеринарної медицини відсутні специфічні діагностичні методи щодо виявлення ієрсиніозів тварин, і хворобу встановлюють переважно в разі диференційної діагностики за позитивних або сумнівних реакцій на бруцельоз. Зростання чисельності собак, особливо безпритульних, створення умови за яких можуть поширюватися різні інфекційні захворювання, в тому числі кишковий ієрсиніоз, що є зооантропоозом.

Аналіз останніх досліджень і публікацій в яких започатковано розв'язання проблеми. За антигенною будовою збудник ієрсиніозу має O-антиген полісахаридної природи і джгутиковий термостабільний H-антиген, який руйнується при кип'ятінні. За O-антигеном розрізняють 34 серовари і 20 за H-антигеном (Identifier of Bergy's, 1997; Tseneva,

H.Ia., 2006; Orehova, G.A., 2015). Проте найважливішу роль в патології людини і тварин відіграють серовари O:3; O:5.27 (Haskell R.M., & Bennet M., 2000; Domashenko, O.M., et al, 2002; V'yalih, Zh.E. et al., 2009); O:6.30; O:7.8 (Lenchenko, E.M., & Kulykovskiy, A.V., 1998; Zon G.A., et al, 2015; Domashenko, O.N., et al, 2016); O:8; O:9 (Vokoun, P., 1985; Ivanovskaya, L., & Zon, M., 2001; Pollschuk, N.M., 2008; Malyi, V.P., 2016). В останні роки в світовій ветеринарній літературі все частіше з'являються повідомлення про позитивно реагуючих на ієрсиніозні антигени собак (Fukushima, H., et al, 1984; Nymand, Kh.H., & Suter, P.F., 2001; Greene, C.F., 2006; Wang, X., et al, 2010; Wojciechowska, B., et al, 2010; Byun, J.W., et al, 2011; Liang, J., et al, 2015). В зв'язку з тим, що в патології людини переважають сероваріанти *Y. enterocolitica* O:3, O:8, O:9 та O:5.27 (Holovchak, H.S., 2000; Domashenko, O.M. et al, 2002; Tseneva, H.Ia., 2006; Kavruk, L.S., 2006) собак розглядають як потенційних носіїв та джерел збудника ієрсиніозу людини (Lenchenko, E.M., & Kulykovskiy, A.V., 1998; Lenchenko, E.M. 2000; Panyn, A.N., & Kulykovskiy, A.V., 2012; Malyi, V.P., 2016). Тому визначення епізоотичного стану щодо ієрсиніозу собак має як епізоотологічне, так і епідеміологічне значення (Skrypnyk, V.H., 1997; Sobakyn, A.S., et al, 1998; Holovchak, H.S., 2000; Ushkalov, A.V., 2013;

Orehova, G.A., 2015; Nezghoda, I.I., & Naumenko, O.M., 2018).

Існують повідомлення про серопозитивність сироваток собак в реакції аглютинації як до ієрсиніозних антигенів *Y. enterocolitica* O:3, O:6, O:9 але і до 5A, 5B та ін. (Ivanovskaya, L.B., & Zon, M.G. 1999; Skrypnyk, V.H., 1999; Skibltkiy, V.G., & Kozlovskaya, G.V., 2012; Zon, G.A., et al, 2015), так і рідше до *Y. fredericsonii*, *Y. kristensenii* та *Y. pseudotuberculosis* (Vokoun, P. 1985; Trimnell, A., et al, 1988; Byun, J.W., 2011). Серопозитивність до ієрсиніозних антигенів виявляли як у клінічно хворих, так і у здорових собак. В Україні існують тільки окремі повідомлення про серопозитивність собак щодо *Y. enterocolitica*. (Ivanovskaya, L., & Zon, M., 1999; 2001; Zon, G.A., et al, 2015). За даними Івановської Л. Б. (Ivanovskaya, L., & Zon, M., 1999) серед м'ясоїдних позитивні титри встановлювали до антигенів O:3 та O:6.30. Відповідно у сук середній титр склав 1:344 та 1:356, в той час як у кобелів - 1:256 та 1:222. У кішок цей показник складав відповідно 1:383 та 1:295, а у котів 1:283 і 1:310. Причому у більшості з цих тварин не виявлено клінічних ознак захворювання. Відомо, що серологічні методи дослідження при захворюванні тварин відіграють роль первинного скринінгу і дозволяють припустити наявність циркуляції збудника, зокрема ієрсиніозу. За умов отримання позитивних результатів серологічних досліджень фахівець приймає рішення щодо подальшого проведення бактеріологічних досліджень з метою ізоляції збудника і встановлення остаточного діагнозу (Ivanovskaya, L., & Zon, M., 1999; Lytvyn, V.Iu., et al, 2004; V'yaliy, Zh.E., et al., 2009; Ushkalov, A.V., 2013; Zon, G.A., et al, 2015; Domashenko, O.N., et al, 2016).

Вже багато років для серологічних досліджень сироваток крові на ієрсиніоз використовують розгорнуту РА в пробірках або плексигласових пластинах. Реакцію проводять в чотирьох розведеннях сироватки в фенолізованому (0,5%) ізотонічному розчині (рН 7,0-7,2) в об'ємі 0,5 мл (1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800). Дослідження сироваток різних сільськогосподарських тварин, проведені в РА з ієрсиніозними антигенами ННЦ «ІЕКВМ», показали, що у тварин з господарств більшості областей України рівень серопозитивності коливався в межах від 0,7 до 100 %. У багатьох випадках позитивні реакції встановлювали одночасно з трьома сероваріантами (O:9, O:3 і O:6.30) (Ivanovskaya, L., & Zon, M., 1999). Необхідно зазначити, що на цей час фактично відсутні вітчизняні діагностичні засоби щодо виявлення сероварів O:5, O:8 та інших, хоч про важливе епізоотичне та епідемічне значення їх свідчать роботи закордонних дослідників (Wang, X., et al, 2010; Byun, J.W., et al, 2011; Liang, J., et al, 2015).

Крім того можна застосовувати і інші сучасні методи лабораторної діагностики (ІФА, ПЛР тощо). Є свідчення перспективності методу імуноблотінгу з використанням моноклональних антитіл для діагностики ієрсиніозу, викликаного *Y. enterocolitica* серовару O3 (Lenchenko, E.M., & Kulykovskiy, A.V., 1998; Lenchenko, E.M., 2000; Polischuk, N.M. 2008; Malyi, V.P., 2016). Цей метод, на думку авторів, знімає проблему перешкоди реакцій проти різних близькородних серотипів і грамнегативних мікроорганізмів. Метод використання моноклональних антитіл можна також використовувати для прискореного аналізу *Y. enterocolitica* серовару O:3 в РА на склі і непрямому методі флуоресцюючих антитіл. Найбільш перспективним експрес-методом діагностики в сучасних умовах є метод MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization –

Time of Flight), що дає можливість швидко та достовірно ідентифікувати видову приналежність мікроорганізмів, яка базується на роботі лазера, що пронизує культуру бактерій, підіймаючи у вакуумі специфічні білки і надаючи їм певного заряду. Як детектор використовується мас-спектрометр TOF, який аналізує спектр білків, для порівняння з базою даних мікроорганізмів. Результат отримують за 1-2 дні, а на 3 добу можна встановити і результати чутливості до антибактеріальних препаратів. Проте реакція аглютинації до цього часу залишається найпоширенішим діагностичним тестом, який допомагає швидко визначити не тільки серопозитивність, але й конкретний сероваріант збудника кишкового ієрсиніозу, що має певне епізоотологічне значення. Дслідження відносно віку тварин, яких уражає збудник кишкового ієрсиніозу, свідчать про переважну сприйнятливості молодняка, як це відбувається і за інших ентеробактеріозів (Nymand, Kh.H., & Suter, P.F., 2001; Wojciechowska, B., et al, 2010). Дані щодо інфікування тварин за статтю мають суперечливі результати (Ivanovskaya, L., & Zon, M., 2001; Greene, C.F., 2006). Досліджень щодо рівня контамінації збудником кишкового ієрсиніозу у собак в залежності від умов існування та годування не знайдено, проте в окремих повідомленнях зазначають про виражену залежність виникнення захворювання від рівня санітарно-гігієнічних умов приміщень, де утримують тварин (Holovchak, H.S., 2000; Lytvyn, V.Iu., et al, 2004; Tsenevoi H.Ia., 2006; V'yaliy, Zh.E., et al, 2009; Wang, X., et al, 2010). Таким чином залишаються багато не з'ясованих питань щодо епізоотології кишкового ієрсиніозу собак, які потребують вирішення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалась в рамках науково-дослідної роботи кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці Сумського НАУ: «Удосконалення методів ранньої діагностики і лікувально-профілактичних заходів для запобігання емерджентних та економічно значущих хвороб тварин» (№ державної реєстрації №0118U100371) з 2016 по 2020 роки.

Метою нашої роботи було з'ясувати сучасний ступінь контамінації собак різних за статтю, віком, умовами утримання і годування найбільш розповсюдженими сероваріантами збудника кишкового ієрсиніозу в Україні.

Матеріали і методи досліджень. Проби сироваток крові відбирали у 380 собак різних за породою, віком і статтю, що проходили обстеження з різного приводу в клініках ветеринарної медицини кількох міст України (Київ, Львів, Полтава, Одеса, Суми, Харків, Чернівці). Для виявлення ієрсиніозних антитіл використовували в РА стандартні ієрсиніозні антигени (O:3, O:6.30, O:9), виготовлені лабораторією вивчення бруцельозу ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (м. Харків). Постановку РА здійснювали макрометодом за класичною методикою і в разі отримання позитивної реакції визначали максимальний титр. Проводили аналіз амбулаторної документації клінік ветеринарної медицини дрібних тварин та серологічних відділів ветеринарних лабораторій. Розрахунки середньої квадратичної здійснювали відповідно до "Statistics notes: measurement error" (Bland, J.M. & Altman, D.G., 1996) з використанням програмного забезпечення Microsoft World 10.

Результати дослідження. Дослідженнями за період з 2016 по 2020 роки встановлено, що з 380 проб сироваток крові собак з різних міст країни позитивні реакції з трьома антигенами *Y. enterocolitica* виявлено у 243 тварин (64,6 %).

Кількість позитивних випадків коливалась в межах від 22 (м. Одеса) до 52 (м. Суми), відповідно від 44 % (м. Одеса) до 84 % (м. Чернігів). Відносно випадків позитивної реакції з ієрсиніозними антигенами встановлено наступне: монореакцію з антигеном O:3 виявили 24 позитивні реакції, що склало 9,9 % від загальної кількості позитивно реагуючих тварин. Одночасні позитивні реакції з антигенами O:3 та O:6.30 встановлено в п'ятьох випадках (9,6 %), антигенами O:3 та O:9 -

26 сироваток (10,6 %). Самостійно з антигеном O:6.30 встановили 49 позитивних реакції (20,2 %), разом з антигеном O:3, як згадувалося вище - 5 позитивних реакцій, а разом з антигеном O:9 - 22 випадки (9,1 %). Найчастіше зустрічалась позитивна реакція щодо антигену O:9 - 114 проб, що склало 46,9 %. Крім того, як згадувалось вище, були виявлені сироватки крові собак одночасно позитивні з антигенами O:9 та O:3 в 26 випадках, а з антигенами O:9 та O:6.30 - в 22 випадках (таблиця 1).

Таблиця 1.

Результати скринінгових серологічних досліджень сироваток крові собак з різних міст України з антигенами *Y. enterocolitica* (2016-2020 рр.)

Місто	Досліджених сироваток крові	Позитивних		Негативних		Позитивних до ієрсиніозного антигену:						Позитивно до кількох антигенів одночасно, проб /%р
		Кількість	%	Кількість	%	O:3 *		O:6.30 **		O:9 ***		
						п	%	п	%	п	%	
Суми	80	52	65,0	28	35,0	2	3,8	6	11,5	32	61,5	O:3+O:9/ 7/13,6**** O:3+O:6.30/5/9,6
Харків	50	36	72,0	14	28,0	2	5,6	9	25,0	17	47,2	O:3+O:9/5/13,9**** O:9+O:6.30/3/8,3****
Полтава	50	31	62,0	19	38,0	-	-	4	12,9	21	67,7	O:3+O:9/ 4/12,9**** O:9+O:6.30/2/6,5****
Чернігів	50	42	84,0	8	16,0	-	-	11	26,2	23	54,8	O:9+O:6.30/8/19,0****
Київ	50	27	54,0	23	46,0	6	22,2	8	29,6	4	14,8	O:3+O:9/ 3/11,1**** O:9+O:6.30/6/22,3****
Одеса	50	22	44,0	28	56,0	2	9,1	3	13,6	9	40,9	O:3+O:9/ 7/31,8**** O:9+O:6.30/1/4,6****
Львів	50	33	66,0	17	34,0	12	36,4	8	24,2	8	24,2	O:3+O:9/ 3/9,1**** O:9+O:6.30/2/6,1****

*p = 1,6; ** p = 1,069; *** p = 3,74; **** p = 0,78; ***** p = 0,81

Оцінюючи ступінь контамінації собак сероваріантами *Y. enterocolitica* в різних регіонах країни треба зауважити, що в м. Суми позитивні реакції переважно пов'язані з антигеном O:9 (61,5 %), менше тварин контаміновано сероваром *Y. enterocolitica* O:6.30 (11,5 %) і поодинокі випадки пов'язані з сероваріантом O:3 (3,8 %). Тварини з м. Харкова майже в половині кількості випадків (47,2 %) були контаміновані сероваріантом O:9, чверть позитивних випадків (25,0 %) пов'язана з контамінацією сероваром O:6.30, і в 5,6 % випадках контамінація тварин була пов'язана з сероваром O:3. Переважна більшість серопозитивних до збудника кишкового ієрсиніозу собак з м. Полтава була пов'язана з сероваром O:9 (67,7 %), частина (12,9 %) - з сероваром O:6.30 і в жодному випадку з сероваром O:3 *Y. enterocolitica*. В позитивних сироватках собак з м. Чернігів також не виявили реакцій до антигену серовару O:3, переважали контамінанти сероваром O:9 (54,8 %), менше серопозитивність тварин була пов'язана з сероваріантом O:6.30 (36,2 %). В той же час серопозитивність собак щодо збудника кишкового ієрсиніозу була насамперед пов'язана з сероваріантом O:6.30 (29,6 %), дещо менше з сероваріантами O:3 (22,2 %) і O:9 (14,8 %). Серед серопозитивних собак з м. Одеса виявили домінування серовару O:9 (40,9 %) рідше виявлялися сироватки, що позитивно реагували з ієрсиніозним антигеном O:6.30 (13,6 %) і ще менше з антигеном O:3 (9,1). Серопозитивність сироваток собак з м. Львова щодо збудника кишкового ієрсиніозу була розподілена наступним чином: до серовару O:3 - 36,4 %, до сероварів O:9 та O:6.30 по 24,2 % (рисунок 1).

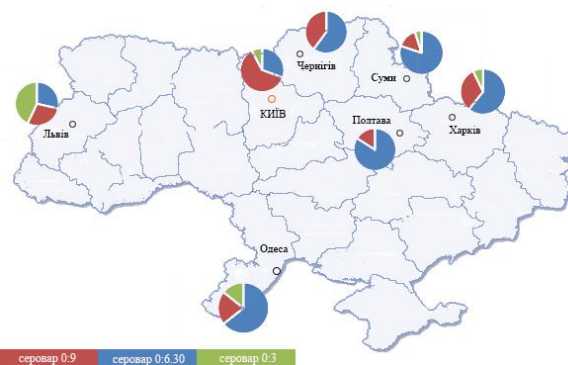


Рисунок 1. Картографічне відображення контамінації собак сероварами *Y. enterocolitica* у різних регіонах України.

Встановлено, що максимальне значення титрів антитіл щодо серовару O:3 майже не перевищували 1:200 (20 випадків/83,3%). В трьох випадках максимальні титри були в межах 1:400 (12,5 %) і тільки в одному випадку - 1:800 (4,2 %). Середній титр при цьому становив 1:190,5. Щодо позитивних реакцій з ієрсиніозним антигеном O:6.30 максимальні титри 1:200 виявили відповідно в 32 сироватках (65,3 %), 1:400 максимально позитивно реагували 12 сироваток (24,5 %) і в п'ятьох випадках (10,2 %) 1:800. Середній титр становив при цьому 1:291,4. Майже у половини позитивних реакцій (52/45,6%) максимальні титри до антигену O:9 не перевищували 1:200. В 45 випадках (39,5 %) позитивні реакції не перевищували 1:400, а максимальний титр 1:800 виявили у 17 серопозитивних сироваток (14,9%). Середній титр в цьому випадку становив 1:364,1 (таблиця 2).

Таблиця 2.

**Максимальні титри антитіл до моноантигенів *Y. enterocolitica*
в сироватці крові собак з різних міст України**

Місто	n	Антигени <i>Y. enterocolitica</i>											
		0:3			середній титр	0:6.30			середній титр	0:9			середній титр
		1:200	1:400	1:800		1:200	1:400	1:800		1:200	1:400	1:800	
Суми	40	2	-	-	1:200	4	2	-	1:266,7	14	13	5	1:375,0
Харків	28	2	-	-	1:200	6	2	1	1:311,1	10	4	3	1:352,9
Полтава	25	-	-	-	-	3	1	-	1:200	12	7	2	1:323,8
Чернігів	34	-	-	-	-	7	2	2	1:345,5	8	12	3	1:382,6
Київ	18	4	2	-	1:266,7	4	3	1	1:350	2	2	-	1:300
Одеса	14	2	-	-	1:200	2	1	-	1:266,7	2	5	2	1:444,4
Львів	28	10	1	1	1:266,7	6	1	1	1:300	4	2	2	1:400
n	187	20	3	1	1:190,5	32	12	5	1:291,4	52	45	17	1:364,1

Дані таблиці 3 свідчать, що позитивні реакції до антигенів ієрсиній найбільш часто спостерігались у тварин до 1 року - 47,6 %, дворічних - 19,8 %, трирічних - 13,9 %, суттєво

менше у чотирирічних та п'ятирічних, відповідно 4,3 % та 3,2 %. У тварин старше 5 років такі реакції виявлялися випадково в межах 0,53 - 1,07 %.

Таблиця 3.

Діагностичні титри до моноантигенів *Y. enterocolitica* у різних за віком собак

Місто	Вік тварин, роки													всього
	до року	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	старші 12 років	
Суми	13	7	8	3	4	-	-		1			1	3	40
Харків	12	6	4	2		1		1		1			1	28
Полтава	14	4	3		1		1		1				1	25
Чернігів	14	10	6	1			1					1	1	34
Київ	10	3	1		1							1	2	18
Одеса	7	2	3	1		1								14
Львів	19	5	1	1						1			1	28
Разом, n	89	37	26	8	6	2	2	1	2	2	-	3	9	187
%	47,6	19,8	13,9	4,3	3,2	1,07	1,07	0,53	1,07	1,07	-	1,6	4,8	100

Результати щодо контамінації збудником кишкового ієрсиніозу собак не виявили кількісних відмінностей залежно від статі тварин. Так, якщо в окремих містах виявляли більше

контамінованих *Y. enterocolitica* самців або самок то в цілому це співвідношення становило практично 1:1 (таблиця 4).

Таблиця 4.

Результати щодо контамінації збудником кишкового ієрсиніозу собак різних за статтю, голев

Стать	Міста України							Разом	
	Суми	Харків	Полтава	Чернігів	Київ	Одеса	Львів	голів	%
	40	28	25	34	18	14	28	187	100
♂	18	15	11	15	10	8	16	93	49,7
♀	22	13	14	19	8	6	12	94	50,3

Дослідження породної схильності собак до ієрсиніозу не дозволяють дійти достовірних висновків через відносно невелику кількість порід, що представлені у досліді та нерівномірну розповсюдженість різних порід собак в регіонах Ук-

раїни. В той же час заслуговує уваги те, що контамінація ієрсиніями відбувається серед порід собак які за звичай мають більш активний спосіб життя і здатні контактувати з різними об'єктами зовнішнього середовища (таблиця 5).

Таблиця 5.

Реакції сироваток собак різних порід з ієрсиніозними антигенами, n=187

№ з/п	Порода	Серопозитивні		№ з/п	Порода	Серопозитивні	
		к-ть	%			к-ть	%
1	Німецька вівчарка	23	12,3	13	Боксер	3	1,6
2	Метиси	35	18,7	14	Мастіно неаполітано	3	1,6
3	Англійський коккер-спаніель	14	7,5	15	Чорний російський тер'єр	3	1,6
4	Шарпей	5	2,7	16	Різеншнауцер	2	1,1
5	Пекінес	4	2,1	17	Американський стафордшир-тер'єр	11	5,9
6	Чау-чау	5	2,7	18	Американський питбультер'єр	5	2,7
7	Лабрадор-ретривер	18	9,6	19	Кане-корсо	4	2,1
8	Алабай	9	4,8	20	Доберман	4	2,1
9	Російська гонча	1	0,5	21	Такса	8	4,3
10	Міттельшнауцер	5	2,7	22	Хаскі	7	3,8
11	Йоркширський тер'єр	5	2,7	23	Басет-хаунд	1	0,5
12	Питбультер'єр	3	1,6	24	Лайка	9	4,8

Дослідження щодо виникнення позитивних реакцій у |

тварин в залежності від умов існування та годування показали наступне. Серед тварин, що переважно знаходяться в помешканнях власників 56,3% мали позитивні реакції до ієрсиніозних антигенів, серед тварин яких утримують на подвір'ї цей показник був набагато більшим і становив 81,2 %, що також перевищувало показник тварин яких утримували в притулку (70,0 %) проте дорівнювало показникам контамінації ієрсиніями безпритульних тварин (83,3 %). На фоні годівлі

тварин переважно промислово виготовленими кормами контамінація ієрсиніями була на рівні 40,7 %, при використанні індивідуальних раціонів та змішаною структурою раціону цей показник суттєво був збільшеним і становив відповідно 71,4 % та 73,7 %, а у тварин з невідомим складом раціону позитивні реакції до ієрсиніозних антигенів становили 85,0% (таблиця 6).

Таблиця 6.

Результати досліджень сироваток крові собак з ієрсиніозними антигенами, за різних умов їх утримання і годівлі (м. Суми)

Умови утримання	Кількість	Позитивно		Негативно		Умови годування	Кількість	Позитивно		Негативно	
		п	%	п	%			п	%	п	%
Утримання в помешканні господаря	48	27	56,3	21	43,7	Промислово виготовленими кормами	27	11	40,7	16	59,3
Утримання на подвір'ї господаря	16	13	81,2	3	18,8	Індивідуальні раціони	14	10	71,4	4	29,6
Утримання в умовах притулку	10	7	70,0	3	30,0	Змішана структура раціону	19	14	73,7	5	26,3
Безпритульні тварини (виняткові дослідження)	6	5	83,3	1	16,7	Не визначено	20	17	85,0	3	15,0
Разом	80	52		28			80	52		28	

Обговорення отриманих результатів. Як показали наші дослідження з 380 проб сироваток крові собак з різних міст країни позитивні реакції з трьома антигенами *Y. enterocolitica* виявлено у 243 тварин (64,6 %). Найчастіше позитивні реакції виявлено до ієрсиніозного антигену O:9 - 114 проб, що склало 46,9 %. Крім того були виявлені сироватки крові собак одночасно позитивні з антигенами O:9 та O:3 в 26 випадках, а з антигенами O:9 та O:6.30 – в 22 випадках. До антигену O:6.30 було виявлено 49 позитивних сироваток, що становило 20,2 % від загальної кількості позитивних реакцій тобто в 2,3 рази менше чим на до антигену O:9. Кількість позитивних реакцій на антиген O:3 була найменшою і становила 9,9 % від загально позитивної кількості. Також треба зазначити, що у 23 % випадків встановлені змішані позитивні реакції. Світовий досвід свідчить про певні локальні контамінації сероваріантами *Y. enterocolitica* в різних країнах і навіть регіонах країн (Vokoun, P., 1985; Trimmell, A., et al, 1988; V'yaliñ, Zh.E., et al, 2009; Rosner, B.M., et al, 2010; Byun, J.W., et al, 2011; Ushkalov, A.V., 2013; Liang, J., et al, 2015). В той же час сучасна глобалізація світу, природна та штучна міграція тварин може швидко змінювати спектр збудників в тій чи іншій місцевості, що вимагає розширення діагностичних можливостей (Petrenko, Y.D., 2004; Wang, X., et al, 2014; Domashenko, O.N., et al, 2016).

При оцінці рівня титрів до ієрсиніозних антигенів, виявлено, що з антигеном O:3 середній титр становив 1:190,5, а з ієрсиніозним антигеном O:6.30 - 1:291,4. В той же час якщо майже у половини позитивних реакцій (52/45,6 %) максимальні титри до антигену O:9 не перевищували 1:200, в 45 випадках (39,5 %) ці реакції не перевищували 1:400, а максимальний титр 1:800 виявили у 17 серопозитивних сироваток (14,9 %). Середній титр в цьому випадку становив 1:364. Встановлено, що серовар O:3 має більшу ентеротоксичність, а O:9 більшу інвазивність (Domashenko, O.M., et al, 2002; Skiblt'skiy, V.G., & Kozlov'ska, G.V., 2012; Malyi, V.P., 2016), що звичайно може впливати на інфекційну активність сероваріантів збудника розвиток септицемічного процесу.

Проведені дослідження показали, позитивні реакції до

антигенів ієрсинії найбільш часто спостерігались у тварин до 1 року - 47,6 %, дворічних - 19,8 %, трирічних - 13,9 %, суттєво менше у чотирирічних та п'ятирічних, відповідно 4,3 % та 3,2 %. У тварин старше 5 років такі реакції виявлялися випадково в межах 0,53 - 1,07%. Закордонні дослідники також іноді реєструють гострий перебіг кишкового ієрсиніозу переважно у собак раннього віку (Fukushima, H., 1984; Trimmell, A., et al, 1988; Greene, S.F., 2006). Результати щодо контамінації збудником кишкового ієрсиніозу собак не виявили кількісних відмінностей залежно від статі тварин. Так, якщо в окремих містах виявляли більше контамінованих *Y. enterocolitica* самців або самок, то в цілому це співвідношення становило практично 1:1. З цього приводу літературних джерел не знайдено.

Дослідження породної схильності собак до ієрсиніозу не дозволяють дійти достовірних висновків через відносно невелику кількість порід, що представлені у досліді та нерівномірну розповсюдженість різних порід собак в регіонах України. В той же час заслуговує уваги те, що контамінація ієрсиніями відбувається серед порід собак які за звичай мають більш активний спосіб життя і здатні контактувати з різними об'єктами зовнішнього середовища

Дослідження щодо виникнення позитивних реакцій у тварин в залежності від умов існування та годування показали, що серед тварин, які переважно знаходяться в помешканнях власників, більше половини мали позитивні реакції до ієрсиніозних антигенів, серед тварин, яких утримують на подвір'ї, цей показник був набагато більшим і становив 81,2 %, що також перевищувало показник тварин, яких утримували в притулку (70,0 %), проте дорівнювало показникам контамінації ієрсиніями безпритульних тварин (83,3 %). Годівля тварин переважно промислово виготовленими кормами обмежувала контамінацію ієрсиніями, при використанні індивідуальних раціонів та зі змішаною структурою раціону цей показник суттєво був збільшеним, а у тварин з невідомим складом раціону позитивні реакції до ієрсиніозних антигенів становили 85,0 %. Ці дослідження свідчать про те, що за різних умов утримання і годування собак контакт з ієр-

синіями, як представниками потенційної сапронозної інфекції, є неоднаковим. Це також дає уяву про різний рівень існування *Y. enterocolitica* в шлунково-кишковому тракті як коменсала.

Висновки.

1. Встановлено, що з 380 проб сироваток крові собак з різних міст країни, позитивні реакції з трьома антигенами *Y. enterocolitica* виявлено у 243 тварин (64,6 %).

2. Найчастіше позитивні реакції виявлено до ієрсиніозного антигену O:9 - 114 проб, що склало 46,9 %. Крім того були виявлені сироватки крові собак одночасно позитивні з антигенами O:9 та O:3 в 26 випадках, а з антигенами O:9 та O:6.30 – в 22 випадках.

3. Середній титр в сироватках собак з антигеном O:3 становив 1:190,5, ієрсиніозними антигенами O:6.30 - 1:291,4

та O:9 - 1:364.

4. Позитивно реагуючими на ієрсиніозні антигени є переважно тварини 1-3 років, у собак понад 4 років спостерігаються у вигляді поодиноких випадків.

5. Залежності частоти виявлення позитивних реакцій до ієрсиніозних антигенів від породи і статі не виявлено.

6. За різних умов утримання і годування контакт з ієрсиніями, як представниками потенційної сапронозної інфекції, є неоднаковим і коливається від 40,7 до 85 %.

Напрямки подальших досліджень пов'язані з визначенням ролі собак в сучасному епідеміологічному процесі за кишкового ієрсиніозу людини.

Подяка. Автори статті висловлюють щире подяку колегам, лікарям ветеринарної медицини різних міст України хто долучився до відбору біологічного матеріалу від собак.

References:

1. Babkin, A.F., & Nikolaenko, M.N. (2005). Serologicheskie issledovaniya sluzhebnykh sobak na brutsellez, iersinioz i hlamidioz v pitomnikakh s uchetom kliniko-epizootologicheskikh danih [Serological studies of service dogs for brucellosis, yersiniosis and chlamydia in kennels, taking into account clinical and epizootological data]. *Veterinarna meditsina: mlzhvdomchiy tematchniy naukoviy zblrnik, Harklv: "NNTs" IEKVM. T.1. 72-76* [in Russian].
2. V'yali, Zh.E., Yakovenko, T.B., Drobot, O.V., Sorochan, O.S., Gubar, O.V., & Levitska, S.L. (2009). Serologichna nalezhnlost shtamlv *Yersinia enterocolitica*, vidllenih z rlnih ob'ektiv na teritoriyi Ukraini [Serological affiliation of *Yersinia enterocolitica* strains isolated from different objects on the territory of Ukraine]. *Proflaktichna meditsina*, 4 (8). 36-39 [in Ukrainian].
3. Haskell, R.M., & Bennet, M. (2000). Rukovodstvo po ynfektsyonnym bolezniam sobak y koshek [A guide to infectious diseases in dogs and cats]. M.: Akvaryum LTD, 224 s. [in Russian].
4. Holovchak, H.S. (2000). Epidemiologichna kharakterystyka iiersynioziv v umovakh urbanistychnykh terytorii ta udoskonalennia systemy epidemiologichnoho nahliadu: avtoref. dys. ... kand. med. nauk: 14.02.02. – Epidemiologhiia [Epidemiological characteristics of yersiniosis in urban areas and improving the system of epidemiological surveillance: author. dis. ... cand. of medical. science: 14.02.02. - Epidemiology]. K., 19 s. [in Ukrainian].
5. Domashenko, O.M., Samoilenko, T.S., Soshenko, I.I., & Vereshchahina, V.Ia. (2002). Kharakterystyka vodnoho spalakhu iiersyniozu v Donetskii oblasti. [Characteristics of water outbreak of yersiniosis in the Donetsk region]. *Vestnyk hyhyeny y epydemiohohyy*, 6, 2, 223-226 [in Ukrainian].
6. Domashenko, O.N., Cherkasova, T.Y., Kolesnykova, T.Y., & Nebesnaia, L.V. (2016). Sovremennye metody dyahnostyky yersynioza [Modern methods of diagnosing yersiniosis]. *Arkhyv klynycheskoi y eksperymentalnoi medytsyny*, 25, 2, 103-106 [in Russian].
7. Ivanovskaya, L.B., & Zon, M.G. K izucheniyu roli *Y. enterocolitica* v patologii plotoyadnykh. [To study the role of *Y. enterocolitica* in the pathology of carnivores]. *Mater.VII Mezhd. konf. na probl. vet. med. melk. dom. zhivotnykh (3-5 marta 1999 g.)*. M., 262-263 [in Russian].
8. Zon, H.A., Ivanovskaya L.B., Kuznetsov, M.Iu., & Kuznetsova, E.Iu. (2015). Rezultaty serologicheskoho monytorynha kyshechnoho yersynioza sobak s klynycheskymy pryznakamy gastroenteryta [Results of serological monitoring of intestinal yersiniosis in dogs with clinical signs of gastroenteritis]. *Uchenye zapysky UO VHAVM. Vytebsk*, 51(1), 201-205 [in Russian].
9. Yersyny y yersyniozy [Yersinia and Yersiniosis]: pod red. Tsenevoi H.Ia. (2006). S.-Peterburh, 168 s. [in Russian].
10. Kavruk, L.S. (2006). Ekologicheskyye aspekty tsyrkulyatsyy vozbyudytelia kyshechnoho yersynioza [Ecological aspects of the circulation of the causative agent of intestinal yersiniosis]. *Veterinary of agricultural animals*, 11.10–11 [in Russian].
11. Lenchenko, E.M., & Kulykovskiy, A.V.(1998).Yersynioz. Etyologhiya, epyzootologhiya, dyahnostyka, mery borby y profylaktyky [Yersiniosis. Etiology, epizootology, diagnostics, control and prevention measures]. M., 126 s. [in Russian].
12. Lenchenko, E.M. (2000). Byologhiya y ekologhiya yersyniy – vozbyudyteli pyshchevykh toksykoynfektsiy: avtoref. dys....dokt. vet. nauk 16.00.03. – veterynarnaia mykrobiologhiya, vyrusologhiya, epyzootologhiya, mykologhiya y ummunologhiya [Biology and ecology of *Yersinia* - causative agents of foodborne toxicoinfections: author. dis doct. vet. sciences 16.00.03. - veterinary microbiology, virology, epizootology, mycology and immunology]. M., 44 s. [in Russian].
13. Lytvyn, V.Iu., Pushkareva, V.Y., & Emelianenko, E.N. (2004). Byotsenotycheskye osnovy pryrodnoi ochahovosty sapronozov (ytohyy 15 – letnykh nabliudenyi) [Biocenotic foundations of natural foci of sapronoses (results of 15-year observations)]. *Journal of Microbiology. Epidemiol. and Immunobiol.* 4, 102–108 [in Russian].
14. Malyi, V.P. (2016). Yersynioz [Yersiniosis]. *Klinichna imunologhiia. Alerhologhiia. Infektologhiia [Clinical immunology, allergology, infectology]*, №5(94). S.14-22 [in Russian].
15. Nezghoda, I.I., & Naumenko, O.M. (2018). Uvaha: kyshkovyy iiersynioz! [Attention: intestinal yersiniosis!]. *Aktualna infektologhiia [Modern infectology]*, 6, 3, 161-167 [in Ukrainian]. http://nbuv.gov.ua/UJRN/akinf_2018_6_3_9.
16. Nymand, Kh.H., & Suter, P.F. (2001). Bolezny sobak [Diseases of dogs]. M.: Akvaryum LTD, 816 s. [in Russian].
17. Dzh. Khoul, N.Kryha, P.Snyta, Dzh.Steily, S.Uylliamsa(1997). Identifier of Bergy's bacteria, 2 vol, 432 s.
18. Orehova, G.A. Kishkovyy iersinioz tvarin (aktualnlost, eplzootologiya, dlagnostika) (2015). [Intestinal yersiniosis of animals

(relevance, epizootology, diagnosis). *NNTs «IEKVM», N. sb. «Veterinarna meditsina», [Veterinary medicine]. 101. 125-129 [in Ukrainian].*

19. Pany, A.N., & Kulykovskiy, A.V. (2012). Rasprostraneniye y ystochnyky vozbyuditelei zoonozov y pyshchevyukh toksykoynfektsiy v stranakh ES [Distribution and sources of pathogens of zoonoses and foodborne diseases in the EU]. *Veterynaryia. № 8. S. 3–6 [in Russian].*

20. Petrenko, Y.D. (2004). Klynyko-epyzootolohycheskye y patoloho-anatomycheskye pokazaniya dlia provedeniya serolohycheskoi y bakteriolohycheskoi dyahnostyky na yersynyoz y kamylobakteryoz zhyvotnykh [Clinical and epizootic and pathological and anatomical indications for serological and bacteriological diagnostics for yersiniosis and campylobacteriosis in animals]. *Veterinary medicine: interdepartmental topic. science. collection. 84. 565–567 [in Russian].*

21. Polischuk, N.M. (2008). Epidemiologichni ta epizootologichni aspekti Iersinioziv [Epidemiological and epizootological aspects of yersiniosis]. *Annals of Michnicov institute, 4. 5-8 [in Ukrainian]. www.imiamn.org/journal.htm*

22. Revoliutsiia v diahnostytsi-metodom MALDI-TOF MS [A revolution in diagnostics-method MALDI-TOF MS]. *Mat. XV Mizhnarod. konf. «Ptakhivnytstvo -2019». 2019. S.139-140 [in Ukrainian].*

23. Skibitskiy, V.G., & Kozlovska, G.V. (2012). Zbudnik kishkovogo Iersinlozu - Yersinia enterocolitica ta pov'yazanl z nim problem [The causative agent of intestinal yersiniosis is Yersinia enterocolitica and related problems]. *Gumanitarni ta resursni problemi natsionalnoyi bezpeki Ukraini. Kyiv, kn.2. 19-31 [in Ukrainian].*

24. Skrypnik, V.H. (1997). Epizootolohiia iersynioziv [Epizootology of yersiniosis]. *Rozvytok veterynarnoi nauky v Ukraini, zdobutky ta problemy. Kharkiv, S.107 -108 [in Ukrainian].*

25. Skrypnik, V.H. (1999). Kyshechnye yersynyozy zhyvotnykh [Intestinal yersiniosis of animals]. *Library of veterinary medicine. – K., 4. 48 s. [in Russian].*

26. Sobakyn A.S., Zykyn L.F., Khaptsev Z.lu., & Orkyn V.F. (1998). Vyiavlenniye kyshechnoho yersynyozu y psevdotuberkulezu u zhyvotnykh [Identification of intestinal yersiniosis and pseudotuberculosis in animals]. *Veterynaryia. [Veterinary medicine]. №8. S.15 - 16 [in Russian].*

27. Ushkalov, A.V. (2013). Epizootichna ta epidemologichna charakteristika Iersinlozlv. [Epizootic and epidemiological characteristics of yersiniosis]. *Veterinarna meditsina Ukrayini [Veterinary medicine of Ukraine]. 11(213). 15-18; 12 (214). 11-14 [in Ukrainian].*

28. Byun, J.W., Yoon, S.S., Lim, S.K., Lee, O.S., & Jung, B.Y. (2011). Hepatic yersiniosis caused by Yersinia enterocolitica 4:O3 in an adult dog. *J Vet Diagn Invest. Mar;23(2):376-8. <https://doi.org/10.1177/104063871102300233>.*

29. Fukushima, H., Nakamura, R., Iitsuka, S. et al. (1984). Prospective systematic study of Yersinia spp. in dogs. *J. Clin. Microbiol. v. 19. P.616-622.*

30. Greene, C., F. (2006). Yersiniosis in diseases of the dog and cat. W.B. Saunders Company, London, st. Louis M.O., 3 rd, p.361-362.

31. Ivanovskaya, L., & Zon, M. (2001). The role of Y. enterocolitica in the pathology of animals. *The Materials of Sixth International Veterinary Immunology Symposium (July 15-20, 2001). Swedish university of Agricultural Sciences. Uppsala, Sweden. P. 164.*

32. Liang, J., Duan, R., Xia, S., et al. (2015). Ecology and geographic distribution of Yersinia enterocolitica among livestock and wildlife in China. *Vet Microbiol. Jul 9;178(1-2):125-131. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.05.006>.*

33. Rosner, B.M., Stark, K., & Weber, D. (2010). Epidemiology of reported Yersinia enterocolitica infections in Germany, 2001-2008. *BMC Public Health 10:337 <https://doi.org/10.1186/1471-2458-10-337>.*

34. Trimnell, A., Trimnell, A. & Adesiyun, A. (1988). Characteristics of the first isolate of Yersinia enterocolitica serogroup O:8 from a dog in Nigeria. *Israel J. Vet. Med. v.44. №4. P.244-247.*

36. Wang, X., Cui, Z., Wang, H., Tang, L. et al. (2010). Pathogenic strains of Yersinia enterocolitica isolated from domestic dogs (Canis familiaris) belonging to farmers are of the same subtype as pathogenic Y. enterocolitica strains isolated from humans and may be a source of human infection in Jiangsu province, China. *J. Clin. Microbiol. 48(5):1604–1610 <https://doi.org/10.1128/JCM.01789-09>.*

37. Wang, X., Liang, J., Xi, J., Yang, J. et al. (2014). Canis lupus familiaris involved in the transmission of pathogenic Yersinia spp. in China. *Vet Microbiol. Aug 6; 172(1-2):339-44. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.04.015>.*

38. Wojciechowska, B., Mikulska, E., Skupien, A., Platt-Samoraj, A. et al. (2010). Occurrence of Yersinia enterocolitica in canine excrement contaminating urban lawns. *Bull, vet. Inst Pulawy, 54. P.153-155.*

39. Bland, J.M. & Altman, D.G., 1996. *BMJ. 312 (7047):1654. <https://doi.org/10.1136/bmj.312.7047.1654>.*

Zon I.G., PhD student, Sumy National Agrarian University, (Sumy, Ukraine)

Zon G.A., PhD of Vet. Science, Professor, Sumy National Agrarian University, (Sumy, Ukraine)

Ivanovskaya L.B., PhD of Vet. Science, assistant professor, Sumy National Agrarian University, (Sumy, Ukraine)

To the epizootology of intestinal yersiniosis in dogs

The paper presents materials on serological screening tests to determine the level of Y. enterocolitica contamination in dogs of different gender, ages, housing and feeding conditions. The diagnostic was based on agglutination reaction using locally produced yersiniose antigens of serovars O: 3, O: 6.30, O: 9, which are the most common among animals. The largest number of positive reactions were detected to Yersinia antigen O: 9 -114 samples, which amounted to 46.9%. 49 positive serum samples were detected for antigen O: 6.30 - 20.2%, and 9.9% for antigen O: 3. In 23% of cases mixed serovar positive reactions are established. Heterogeneity of serovars contamination of the causative agent of intestinal yersiniosis in different regions of Ukraine has been established. Positively responding animals are mainly 1-3 years. There are isolated cases of positive serological reactions in dogs over 4 years. There is no significant

sexual and breed predisposition of this species to intestinal yersiniosis.. It has been shown that the serum of certain individuals contained noteworthy titers of antibodies to intestinal yersiniosis, which may indicate a disease or active bacterial carrier and the potential for environment contamination. The average titer in canine serum were: O: 3 1: 190.5, O: 6.30 - 1: 291.4 and O: 9 - 1: 364. In different housing and feeding conditions for dogs, the spread of the microorganism throughout the population varies from 40.7 to 85%.

Key words: *Y. enterocolitica, intestinal yersiniosis, dogs, epizootology, yersiniosis antigens*

Дата надходження до редакції: 29.10.2020 р.

ESTABLISHMENT OF INFLAMMATORY MODEL OF BOVINE MAMMARY EPITHELIAL CELLS INDUCED BY LIPOTEICHOIC ACID

Ping Xu

Postgraduate student

Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Institute of Science and Technology (Xinxiang, China)

ORCID: 0000-0002-3862-3567

121558423@1qq.com

Tetiana Fotina

Doctor of Veterinary Sciences, Professor

Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

ORCID: 0000-0001-5079-2390

tatiana.fotina@snau.edu.ua

Hanna Fotina

Doctor of Veterinary Sciences, Professor

Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

ORCID: 0000-0002-0761-3681

hanna.fotina@snau.edu.ua

Sanhu Wang

Professor

College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Institute of Science and Technology (Xinxiang, China)

ORCID: 0000-0002-1300-3185

wangsanhu2012@126.com

The mammary gland of the cow is particularly susceptible to infections of a wide range of pathogenic bacteria, including both Gram-positive and Gram-negative bacteria. The endotoxins of these pathogenic bacteria include peptidoglycan (PGN), lipoteichoic acid (LTA) and lipopolysaccharide (LPS), and they are the pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) to induce mastitis. Cow mastitis is a detrimental factor in dairy farming industry. Lipoteichoic acid (LTA) is the main component of Staphylococcus aureus cell wall and the key cytotoxic factor causing inflammation. The aims of our work was to establish inflammatory model of study procedures were approved by the Animal Care and Use Committee of the Sumy National Agricultural University, Sumy, Ukraine, and the Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, China, and performed in accordance with the animal welfare and ethics guidelines.

The BMECs harvested from mid-lactation dairy cow milk were isolated by our laboratory. Briefly, the base medium for this cell is DMEM/F-12 (Gibco, USA, cat.12400-024). The complete growth medium included 10% fetal bovine serum (Biological Industries, Israel, cat.04-011-1A/B), DMEM/F-12, and 10 ng/mL epidermal growth factor (Sigma, USA, cat. E4127). Cells were maintained at 37 °C in an incubator containing 5% CO₂. When cells grew to 80% confluency, the cells were rinsed twice with PBS, and then the primary mammary epithelial cells were trypsinized with 0.25% trypsin plus 0.02% EDTA and passaged. In this study, one inflammatory bovine mammary epithelial cell (BMEC) model was established by infecting the cells with LTA. The BMEC viability induced by LTA were evaluated. The expressions of pro-inflammatory cytokines (TNF- α and IL-6) were measured by ELISA and RT- qPCR. The results showed that the treatment of BMECs with LTA at 20 ng/ μ L for 24 h obviously improved TNF- α and IL-6 protein and gene expression levels. The establishment of the model will play an important role in the screening of anti-inflammatory drugs and the study of the mechanism of action in the future.

Key words: *inflammatory, Lipoteichoic acid, Bovine, bovine mammary epithelial cells, cows mastitis.*

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.3.5>

Introduction. Mastitis is one of the most prevalent and devastating inflammatory diseases in dairy cows over the world. It results in severe economic losses to the dairy industry, due to reduced milk yield and quality as well as increased treatment costs and the cull rate of cows. The annual total economic cost of mastitis was estimated at approximately 2 billion dollars and 1.55 billion euros in the USA and Europe, respectively (Zowalaty, A.E.E.al., 2018).

When a cow suffers from mastitis, its mammary epithelial cells can synthesize and secrete a large number of proinflammatory factors, mainly including interleukin (IL)-1 β , IL-6,

IL-8, tumor necrosis factor (TNF)- α and other cytokines. This might disturb the proliferation and milk synthesis of bovine mammary epithelial cells (BMECs), resulting in a decrease in milk yield and quality. The amounts and secretory activity of BMECs are related to milk yield (Sun, X.D.al., 2019), and the lipid content of milk, is an important indicator of milk quality (Shen, J. al., 2018). Triglyceride (TG) accounted for more than 98% of milk lipid, (Sheng, R. al., 2015). Fatty acids can be rapidly taken up and converted into lipid droplets by the lactating mammary gland (Viguier, C. al., 2009). Non-esterified fatty acid (NEFA) is a source of fatty acids and can increase milk fat synthesis (Szyda,

J. al., 2019). A variety of genes, such as fatty acid synthase (FASN), acetyl coenzyme-A carboxylase 1 (ACACA), and stearoyl-CoA desaturase (SCD), etc., are involved in milk fat synthesis (Nagasawa, Y al., 2018). FASN catalyzes the synthesis of long-chain fatty acids (He, X.J al., 2019), ACACA is the rate-limiting enzyme catalyzing the first reaction step of fatty acid synthesis, and SCD is responsible for catalyzing the synthesis of mono-saturated fatty acids (Qi, L. al., 2014).

With the development of society and the expansion of dairy farming industry, bovine mastitis continues to be one of the most common diseases worldwide and has been seriously impacting on milk yield, milk composition and animal welfare (Seegers H et al., 2003). Mastitis is the persistent inflammatory response of mammary tissue attributed to intra-mammary invasion of pathogens (Rinaldi Met al., 2010). Bovine mammary gland inflammation is mainly caused by changes in metabolism, physiological trauma, and contagious or environmental pathogenic microorganisms (Oviedo-Boyso et al., 2007; Lahouassa H et al., 2007). So for mastitis, it is important to understand the mechanisms controlling the immune response at the molecular level (Wellnitz O and Bruckmaier RM, 2012).

Literature Review. The BMECs was first infected when the pathogenic bacteria infect the mammary gland through the milk duct to reach the acinar of the mammary gland, and then inflammatory reactions occur (Park HJ et al., 2016). Bovine mammary epithelial cells (bMECs) are capable of initiating an innate immune response (IIR) to invading bacteria (Zhao and Lacasse, 2008).

Gram-positive bacteria as *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) is one of the major contagious pathogens which account for clinical and subclinical bovine mastitis through rapid multiplication and persistent adhesion in mammary gland tissue, and it is a chronic and recurrent disease that affect dairy cattle worldwide (Bradley AJ., 2002). *S. aureus* by the mammary gland is not as well as known therecognition of *Escherichia coli*, another major pathogen for the mammary gland. The counterpart of *E. coli* outer membrane lipopolysaccharide (LPS), as a proinflammatory bacterial agonist of the mammary gland innate immune system, has not yet been established for *S. aureus*. Lipoteichoic acid (LTA) is the main component of *S. aureus* cell wall and the key cytotoxic factor causing inflammation (Schroder NW et al., 2003; Bougarn S et al., 2010). LTA has been shown to be an important pattern for immunerecognition of *S. aureus* (Van Amersfoort E.S. et al., 2003). One of the advantages of LTA as a tool to model inflammation, it is a defined bacterial PAMP which targets identified pattern recognition receptors (PRR) and increasingly defined accessory molecules for recognition and for the signaling cascade. LTA signals through toll like receptor 2 (TLR2) in the bovine mammary gland by bMEpC (Schröder N.W. et al., 2003; Henneke P. et al., 2005). In this study, we used a purified commercial preparation of *S. aureus* LTA to determine whether the bovine mammary gland responds to LTA, to determine the dose-response effects, and to begin to characterize the induced inflammatory response. The establishment of the model will play an important role in the screening of anti-inflammatory drugs and the study of the mechanism of action in the future.

Aims. The aims of our work was to establish inflammatory model of bovine mammary epithelial cells induced by lipoteichoic acid

Materials and Methods. Bioethics statement The study

procedures were approved by the Animal Care and Use Committee of the Sumy National Agricultural University, Sumy, Ukraine, and the Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, China, and performed in accordance with the animal welfare and ethics guidelines.

Cultivation and treatment of BMECs

The BMECs harvested from mid-lactation dairy cow milk were isolated by our laboratory. Briefly, the base medium for this cell is DMEM/F-12 (Gibco, USA, cat. 12400-024). The complete growth medium included 10% fetal bovine serum (Biological Industries, Israel, cat. 04-011-1A/B), DMEM/F-12, and 10 ng/mL epidermal growth factor (Sigma, USA, cat. E4127). Cells were maintained at 37°C in an incubator containing 5% CO₂. When cells grew to 80% confluency, the cells were rinsed twice with PBS, and then the primary mammary epithelial cells were trypsinized with 0.25% trypsin plus 0.02% EDTA and passaged.

The BMECs were seeded into 6-well plated overnight at 37°C. Then, the cells were treated with different concentration (0, 10, 20, 40, 80 ng/μL) lipoteichoic acid (LTA) (InvivoGen, Carlsbad, CA, USA, cat. tlr-sita). After 12 h, 24 h, and 48 h of stimulation, the BMECs were harvested for subsequent analyses.

Extraction and purification of total RNA

Total RNA was extracted from adherent BMECs using RNAiso Plus (TaKaRa, Dalian, P. R. China, cat. 9109) in accordance with the manufacturer's instructions. The assessment of the quantity and quality of RNA was verified using a NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, Co., Ltd., P. R. China). The 260:280 nm optical density value was between 1.8 and 2.0. Then, the first-strand cDNA was synthesized using PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (TaKaRa, Dalian, P. R. China, cat. RR047A).

Cell Counting Kit-8 Assay

BMECs were seeded at a concentration of 1x10⁴ cell per well in 96-well plates with eight replicates per condition. At the indicated timepoint, Cell counting KIT-8 (Beijing Solarbio Science & Technology Co., Ltd., Beijing, P. R. China, cat. CK04) solution at a medium dilution of 1:10 diluted was added to each well and the plate was incubated at 37°C for 3 h. The absorbance was measured at a wavelength of 450 nm by a microplate reader (Bio-Rad, Hercules, CA), and the proliferation of each groups was calculated using the equation: [(AS - Ab) / (AC - Ab)] x 100%.

AS: The absorbance value of the wells with cells, LTA, CCK-8;

AC: The absorbance value of the wells with cells, CCK-8;

Ab: The absorbance value of the wells without cells.

Real-Time Cell Assay (RTCA)

The Real-Time Cell Assay (RTCA) was used to detect the effect of different concentrations (0, 10, 20, 40, 80 ng/μL) of LTA on BMEC proliferation. The CI value is directly proportional to the number of cells. RTCA was determine the CI value by measuring the impedance record.

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

BMECs were cultured for 12h, 24 h, and 48h in fresh serum-free medium after treatment with LTA. The medium was collected and centrifuged at 12,000 rpm for 5 min to remove cell debris. The levels of tumor necrosis factor α (TNF-α), and Interleukin-6 (IL-6) in the supernatants of BMECs were detected according to the ELISA kit instructions (Jiangsu Mei Biao Biological Technology Co., Ltd., Jiangsu, P. R. China, cat. MB-

4838A\MB-4837A).

RT-qPCR analysis

Real-time PCR primers for amplification of mRNA were designed using Primer Premier 5.0 and synthesized by Sangon Biotech (Shanghai, P. R. China, Co., Ltd.). The primers used are in Table 1. Real-time quantitative PCR was performed using TB

Green Premix Ex Taq™ II (TaKaRa, Dalian, P. R. China, cat#RR820B) on a 7500 Real-Time PCR system (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA). GAPDH was used as a reference gene. The relative gene expression was calculated using the 2- $\Delta\Delta$ Ct method.

Table 1.

Real-time quantitative PCR Primer Information

Gene	Accession	Sequence	Product size (bp)
TNF- α	NM_173966.3	F:5'GGTGGTGGGACTCGTATGCCAATGC3' R:5'GTGAGGAACAAGGGGTGG3'	151
IL-6	NM_173923.2	F:5'ACAGCTATGAACTCCCGCTT3' R:5' TCTCACATATCTCCTTCTCATTGC3'	226
GADPH	NM_001034034.2	F:5'AGATGGTGAAGGTCGGAGTG3' R:5'CGTTCTCTGCCTTGACTGTG3'	189

Statistical analysis

The results are expressed as means \pm SD. Statistical differences were analyzed using a t-test for independent groups. The ANOVA was performed using GraphPad Prism version 6.01 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Statistical significance was declared as *P< 0.05, **P< 0.01, and ***P< 0.001. Each experiment was repeated at least 3 times.

Results

CCK-8 and RTCA assay for cell viability

CCK-8 assay carried out to examine the viability of cells.

The viability of BMECs infected with LTA were lower than that of the normal BMECs. RTAC was used to detect the effect of different concentrations of LTA on the proliferation of BMECs, the results were shown in Figure 2. With the increase of LTA concentration, the proliferation activity of BMEC cells was inhibited. According to the change of cell index value and different proliferation curves, the dynamic detection after LTA treatment of cells was found.

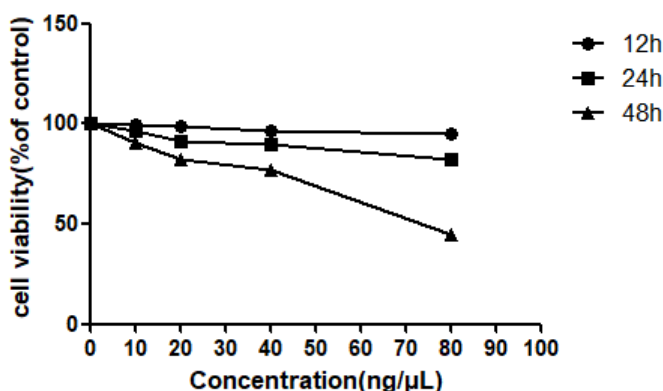


Fig. 1. The cell viability of LTA in BMEC

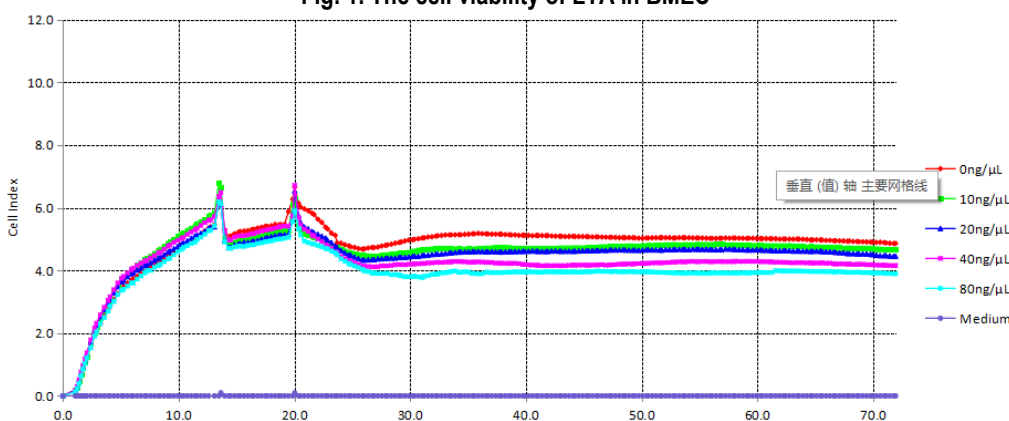


Fig. 2. Effect of LTA on the BMEC proliferation

Secretion of inflammatory cytokines by BMEC

It shown that the basal expression of TNF- α and IL-6 protein in the culture supernatant of BMECs in the blank control group was low (Figure 3). BMECs were stimulated by different mass concentrations of LTA for different time, the expression of

TNF- α and IL-6 protein Significantly increased. When different mass concentrations of LTA acted on cells for 12h, 24h, and 48h, the expression of TNF- α and IL-6 protein reached its peak when the mass concentration of LTA was 20 ng/μL. At the LTA mass concentration was 40 and 80 ng/μL, the expression of TNF- α and

IL-6 protein was lower than that at 20 ng/μL, but they were still significantly higher than the control group.

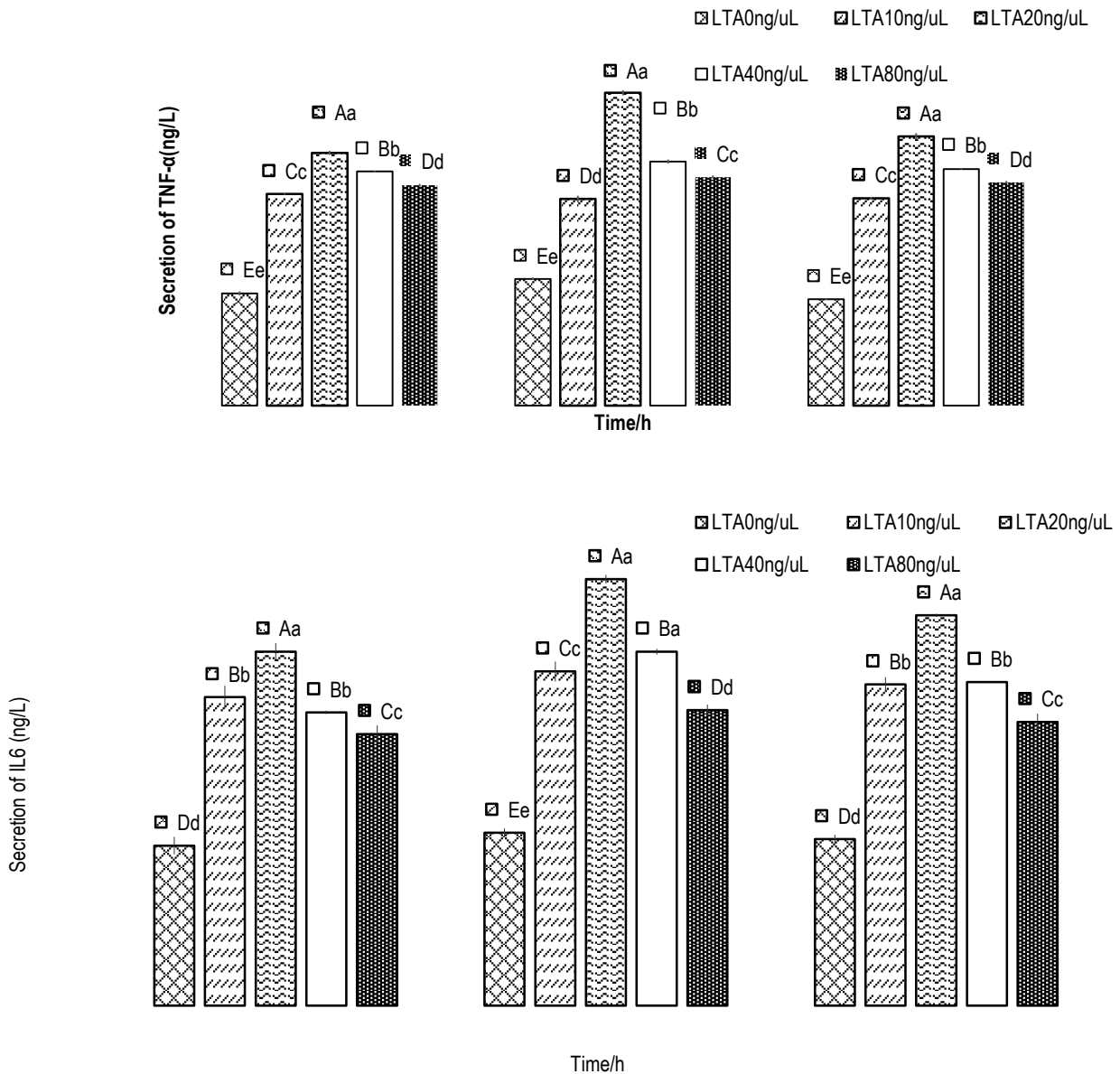


Fig. 3. Effect of LTA on the BMEC TNF-α and IL6 production. (A) (B)

Expression of inflammatory cytokines by BMEC

It shown that the TNF-α and IL6 mRNA expression in the culture supernatant of BMECs in the blank control group was low (Figure 4). As the BMECs were stimulated by different mass concentrations of LTA for different time, the mRNA expression of TNF-α and IL-6 increased significantly. The LTA acted on the cells for 12h and 48h, the mRNA expression of IL-6 did not

change significantly with the increase in mass concentration. However, the mRNA expression of TNF-α changes significantly. The mRNA expression of TNF-α and IL6 reached the maximum,when the LTA concentration was 20 ng/μL with different times later. It can be seen that the LTA of 20 ng/μLtreating BMECs for 24 h can induce a significant cellular immune response in BMECs.

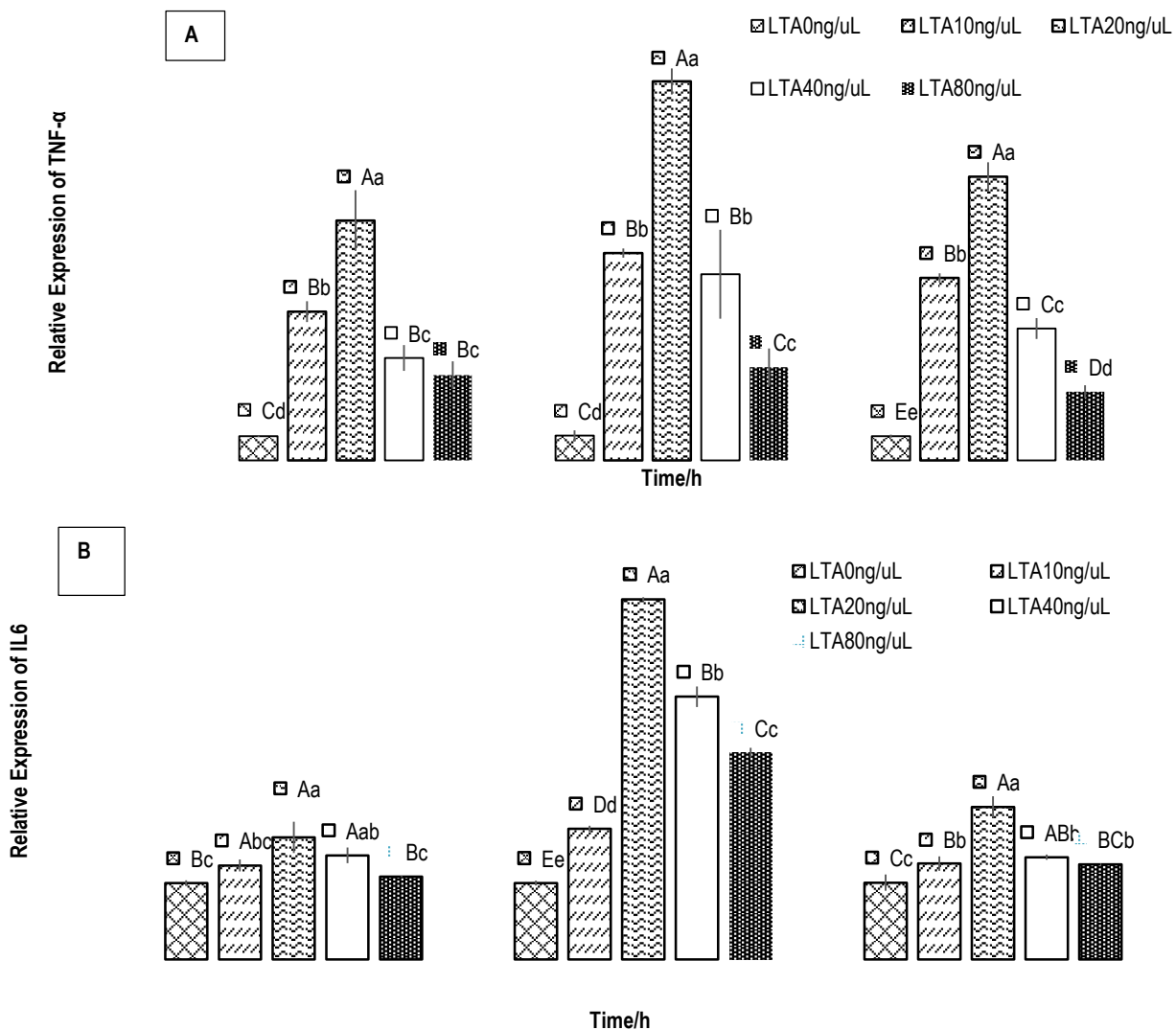


Fig. 4. Effect of LTA on the BMEC TNF-α and IL6 gene expression. A B

Discussion and Conclusion

Inflammatory response refers to the multi-cytokine involved in the occurrence and development of inflammation by regulating the balance between pro-inflammatory factors and anti-inflammatory systems (Wu T, et al., 2016; Dinarello, C. A. 2009). TNF-α is the earliest and most important inflammatory mediator in the process of inflammation. IL6 can induce B cells to differentiate and produce antibodies, and is a promoter of inflammatory response. LTA is an important component of the cell wall of *Staphylococcus aureus* and can activate inflammatory cells to cause inflammation. In the process of inflammation, LTA activates macrophages through the TLR2 receptor, which leads to the production of inflammatory cytokines TNF-α and IL6. The secretion of cytokines can induce further activation of inflammatory cells, leading to excessive or uncontrolled inflammatory response, and ultimately causing inflammatory case damage to host tissues and organs (Giovannin A E J, et al., 2017). Due to the immune characteristics of BMECs, specific inflammatory substances can be selected to induce BMECs to produce an immune response. The most used in the experiment is LPS and bacterial culture filtrate. However, there are few reports on the establishment of inflammation models by LTA on BMECs. In this study, LTA was used as a proinflammatory

mediator. The two classic acute early cytokines, IL-6 and TNF-α, were selected as the criteria for measuring the success of the model. CCK-8, RTAC, ELISA and qRT-PCR were used to test the method, the results showed that treatment of bovine mammary epithelial cells with 20 ng/μL LTA for 24 h can significantly increase the protein and gene expression levels of TNF-α and IL-6. The establishment of this model could play an important role in screening anti-inflammatory drugs and studying the mechanism of action in the future.

Author's contributions

All authors participated in this article design. Ping Xu participated and performed writing and data collection. All authors read and approved the final manuscript. All authors contributed to the draft of the manuscript. All authors gave final approval for publication.

Acknowledgments

This research was financially supported by the National Natural Science Foundation of Henan (Grant No.182300410086) and Key Scientific Research Projects of Higher Education in Henan Province (No. 20A180025).

Conflict of interest. Author does not report any financial or personal connections with other persons or organizations, which might negatively affect the contents of this publication

References.

1. Bougarn S, Cunha P, Harmache A, Fromageau A, Gilbert F. B, & Rainard P. (2010). Muramyl dipeptide synergizes with Staphylococcus aureus Lipoteichoic acid to recruit neutrophils in the mammary gland and to stimulate mammary epithelial cells. *Clinical & Vaccine Immunology*, 17(11), 1797-1809. doi: 10.1128/CVI.00268-10.
2. Bradley AJ. (2002). Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet J*, 164(2), 116-128. doi: 10.1053/tvj.2002.0724.
3. Dinarello, C. A. (2009). Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol.*, 27:519-550. doi: 10.1146/annurev. immunol.021908.132612.
4. Giovannin A E J, Borne B H P, Wall S K, Wellntz O, Bruckmaier R M, & Spadavecchia. (2017). Experimentally induced subclinical mastitis: Are lipopolysaccharide and lipoteichoic acid eliciting similar pain responses. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 59(1), 40. doi: 10.1186/s13028-017-0306-z.
5. Henneke P., Morath S., Uematsu S., Weichert S., Pfizenmaier M., Takeuchi O., Muller A., Poyart C., Akira S., Berner R., Teti G., Geyer A., Hartung T., & Golenbock D.T., (2005). Role of lipoteichoic acid in the phagocytosis response to group B streptococcus. *J. Immunol*, 174(10), 6449–6455. doi: 10.4049/jimmunol.174.10.6449.
6. Lahouassa H, Moussay E, Rainard P, & Riollot C. (2007). Differential cytokine and chemokine responses of bovine mammary epithelial cells to Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *Cytokine*, 38(1), 12-21. doi: 10.1016/j.cyto.2007.04.006.
7. Oviedo-Boyso J, Valdez-Alarcon JJ, Cajero-Juarez M, Ochoa-Zarzosa A, Lopez-Meza JE, Bravo-Patino A, & Baizabal-Aguirre VM. (2007). Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection*, 54(4), 399–409. doi: 10.1016/j.jinf.2006.06.010.
8. Park HJ, Lee WY, & Jeong HY. (2016). Regeneration of bovine mammary gland in immunodeficient mice by transplantation of bovine mammary epithelial cells mixed with matrigel. *International Journal of Stem Cells*, 9(2), 186-191.
9. Rinaldi M, Li RW, & Capuco AV. (2010). Mastitis associated transcriptomic disruptions in cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 138(4), 267–279. doi: 10.1016/j.vetimm.2010.10.005.
10. Schroder NW, Morath S, Alexander C, Hamann L, Hartung T, Zahring U, Gobel U B, Weber J R, & Schumann R R. (2003). Lipoteichoic acid (LTA) of Streptococcus pneumoniae and Staphylococcus aureus activates immune cells via Toll-like receptor (TLR)-2, lipopolysaccharide-binding protein (LBP), and CD14, whereas TLR-4 and MD-2 are not involved. *J Biol Chem*, 278(18), 15587-15594. doi: 10.1074/jbc.M212829200.
11. Seegers H, Fourichon C, & Beaudeau F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res.*, 34(5), 475-491. Doi: 10.1051/vetres:2003027.
12. Van Amersfoort E.S., Van Berkel T.J., & Kuiper J. (2003). Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clin. Microbiol. Rev.*, 16(3), 379–414. doi: 10.1128/CMR.16.3.379-414.2003.
13. Wellnitz O, & Bruckmaier RM. (2012). The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *Vet J.*, 192(2), 148–152. doi: 10.1016/j.tvj.2011.09.013.
14. Wu T, Wang C, Ding L, Shen Y, Cui H, Wang M, & Wang H. (2016). Arginine relieves the inflammatory response and enhances the casein expression in bovine mammary epithelial cells induced by lipopolysaccharide. *Mediators Inflamm.*, 2016(4), 1-10. doi: 10.1155/2016/9618795.
15. Zhao X, Lacasse P. (2008). Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *Journal of Animal Science*, 86(13), 57–65. doi: 10.2527/jas.2007-0302.
16. Chong, B.M.; Reigan, P.; Combs, K.D.M.; Orlicky, D.J.; McManaman, J.L. (2011). Determinants of adipophilin function in milk lipid formation and secretion. *Trends Endocrinol. Metab.* 22, 211–217.
17. Zowalaty, A.E.E.; Li, R.; Chen, W.; Ye, X. (2018). Seipin deficiency leads to increased endoplasmic reticulum stress and apoptosis in mammary gland alveolar epithelial cells during lactation. *Biol. Reprod.* 98, 570–578.
18. Sun, X.D.; Wang, Y.Z.; Looor, J.J.; Bucktrout, R.; Shu, X.; Jia, H.D.; Dong, J.H.; Zuo, R.K.; Liu, G.W.; Li, X.B.; et al. (2019). High expression of cell death-inducing DFFA-like effector a (CIDEA) promotes milk fat content in dairy cows with clinical ketosis. *J. Dairy Sci.* 2019, 102, 1682–1692.
19. Shen, J.; Zhu, B. (2018). Integrated analysis of the gene expression profile and DNA methylation profile of obese patients with type 2 diabetes. *Mol. Med. Rep.* 17, 7636–7644.
20. Sheng, R.; Yan, S.M.; Qi, L.Z.; Zhao, Y.L. (2015). Effect of the ratios of unsaturated fatty acids on the expressions of genes related to fat and protein in the bovine mammary epithelial cells. *Vitr. Cell. Dev. Biol. Anim.* 51, 381–389.
21. Viguier, C.; Arora, S.; Gilmartin, N.; Welbeck, K.; O’Kennedy, R. (2009). Mastitis detection: Current trends and future perspectives. *Trends Biotechnol.* 27, 486–493.
22. Szyda, J.; Mielczarek, M.; Fraszczak, M.; Minozzi, G.; Williams, J.L.; Maksymiec, K.W. (2019). The genetic background of clinical mastitis in holstein-friesian cattle. *Animal*, 13, 2156–2163.
23. Nagasawa, Y.; Kiku, Y.; Sugawara, K.; Tanabe, F.; Hayashi, T. (2018). Exfoliation rate of mammary epithelial cells in milk on bovine mastitis caused by Staphylococcus aureus is associated with bacterial load. *Anim. Sci. J.* 89, 259–266.
24. He, X.J.; Lian, S.; Zhang, X.; Hao, D.D.; Shan, X.F.; Wang, D.; Sun, D.B.; Wu, R.; Wang, J.F. (2019). Contribution of PPAR gamma in modulation of LPS-induced reduction of milk lipid synthesis in bovine mammary epithelial cells. *Int. J. Agric. Biol.* 22, 835–839.
25. Qi, L.; Yan, S.; Sheng, R.; Zhao, Y.; Guo, X. (2014). Effects of saturated long-chain fatty acid on mRNA expression of

genes associated with milk fat and protein biosynthesis in bovine mammary epithelial cells. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 27, 414–421.

Пінг Сюй, аспірант, Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна), Коледж наук про тварин та ветеринарну медицину, Інститут науки і технологій Хенань (Сінсян, Китай)

Тетяна Фотіна, доктор ветеринарних наук, професор, Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

Ганна Фотіна, доктор ветеринарних наук, професор, Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

Санху Ван, професор Коледжу наук про тварин та ветеринарної медицини, Інститут науки і техніки Хенань, Сінсян, Китай.

Встановлення моделі запалення епітеліальних клітин молочної залози корів

В роботі викладені результати дослідження встановлення моделі запалення епітеліальних клітин молочної залози корів що індукується ліпoteйхоєвою кислотою. Мастит корів є фактором ризику для молочної галузі. До складу клітинної стінки *Staphylococcus aureus* входять муреїн і ліпoteйхоєві кислоти. Ліпoteйхоєва кислота (ЛТА) є головним компонентом клітинної стінки золотистого стафілокока та ключовим цитотоксичним фактором, що викликає запалення. Метою роботи було визначити модель запалення епітеліальних клітин молочної залози корів під дією ліпoteйхоєвої кислоти золотистого стафілокока. Дослідження проводили в лабораторії безпеки та якості продуктів тваринництва Сумського НАУ, факультету ветеринарної медицини, Суми, Україна та на базі Науково-технічного інституту Хенань, Сінсян, Китай. Дослідження були проведені згідно вимог Комітету з питань біоетики та виконувались відповідно до керівних принципів добробуту та етики тварин. Були відібрані зразки коров'ячого молока середнього періоду лактації, де лабораторно виділяли ЕКМЗ. Для дослідження використовували метод імуноферментного аналізу та ПЛР діагностику. Проводили аналіз клітин з використанням ПЛР у реальному часі (RTCA) для виявлення впливу різних концентрацій (0, 10, 20, 40, 80 нг / мкл) ліпoteйхоєвої кислоти (LTA) на проліферацію ЕКМЗ. Результати ІФА та qRT-PCR показали, що обробка епітеліальних клітин молочної залози великої рогатої худоби 20 нг / мкл LTA протягом 24 годин може значно підвищити рівень експресії білка та генів TNF- α та IL-6. Створення цієї моделі може зіграти важливу роль у скринінгу протизапальних препаратів та вивченні механізму дії в майбутньому.

Ключові слова: ліпoteйхоєва кислота, мастит корів, золотистий стафілокок. епітеліальні клітини молочної залози.

Дата надходження до редакції: 27.10.2020 р.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРЕПАРАТІВ *ELITE ZOO ДОГ* ТА *ELITE ZOO KET* НА ГЕЛЬМІНТОФАУНУ ДРІБНИХ ДОМАШНІХ ТВАРИН

Березовський Андрій Володимирович

доктор ветеринарних наук, професор
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0002-5825-9504
bav13@meta.ua

Морозов Богдан Станіславович

аспірант¹
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)
ORCID: 0000-0002-6755-752X
MorozovBS@meta.ua

У статті наведені дані щодо ефективності застосування препаратів *ELITE ZOO ДОГ* та *ELITE ZOO KET* (виробник Україна ООО фірма ПРОДУКТ) для лікування собак і котів, хворих на гельмінтози. До складу препаратів входять діючі речовини фіпроніл – 100 мг; моксидектин – 25 мг; празиквантел – 40 мг, які вважаються ефективними за кишкових паразитозів у багатьох тварин. Для визначення ефективності препаратів формували умовні групи тварин по 6 гол. в кожній. Вивчали загальний стан хворих та анамнез зі слів господарів тварин. В кожній групі були тварини, в яких перед дегельмінтизацією виявляли асоційований перебіг нематодозної та цестодозної інвазії за результатами копроовоскопічних досліджень, проведених за методом Котельникова-Хренова. У собак інтенсивність інвазії нематодами і цестодами в середньому по групі складала відповідно 80-87 %, а у котів 53-78 %. Препарати призначали в рекомендованих виробником дозах собакам масою тіла 1-5 кг – 0,5 мл препарату; масою тіла 5-10 кг – 1 мл, котам масою тіла 1-5 кг – 0,5 мл препарату; масою тіла 5-10 кг – 1 мл препарату. За результатами досліджень було встановлено, що при клінічному випробуванні препарату *ELITE ZOO ДОГ* екстенсефективність проти нематодозів собак (*T. canis*) становила 100 %, а проти цестодозів (*Stenosephalides canis*) 80 %. При застосуванні препарату *ELITE ZOO KET* екстенсефективність проти нематодозів котів (*T. cati*) становила 100 %, а цестодозів (*Stenosephalides felis*) 100 %. Дослідами доведено, що терапевтична ефективність розчину *ELITE ZOO ДОГ* при змішаних цестодозах склала 80-87,5 %. По результатам досліджень виявлена 100 % ефективність розчину *ELITE ZOO KET* при лікуванні котів, інвазованих токсокарами та дипілідіями.

Ключові слова: собаки, коти, гельмінти, нематоди, цестоди, токсокароз, токсокароз, тенізіоз, дипілідіоз, антигельмінтні препарати: *ELITE ZOO ДОГ* та *ELITE ZOO KET*

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.3.6>

Вступ. На сьогоднішній день популярним є розведення собак та котів елітних порід. Ці тварини регулярно беруть участь у виставках, змаганнях, тому їхнє переміщення по території країни, а також за її межамі є необхідним, тому їх господарі змушені в обов'язковому порядку проводити комплекс профілактичних заходів, що включають і дегельмінтизацію (Бодня Е.І., 2006; Дахно І.С. та ін., 2010; Дубина І.Н., 2006; Есаулова Н.В., 2010; Лисенко А.Я. та ін., 2002). Собаки є найпопулярнішими домашніми тваринами у всьому світі, але вони часто хворіють на гельмінтози, що може становити загрозу здоров'ю людей, особливо дітей, людей похилого віку та людей із порушеннями імунітету (Лисенко А.Я. та ін., 2002; Павленко С.В., 2004; Сорока Н.М. та ін., 2010). Власники тварин, які утримуються в приватному секторі, квартирах, не дотримуються елементарних правил санітарії та не прибирають екскременти за своїми улюбленицями і тому відбувається інфікування в першу чергу дітей. Наприклад, *Dipylidium caninum*, *Echinococcus granulosus*, *Ancylostoma spp.* та *Toxocara canis* є загальними паразитами собак, які можуть вражати людей і ці хвороби зареєстровані у різних країнах світу. Знання про види паразитів у домашніх собак, поширеність та інтенсивність зараження гельмінтами серед популяцій собак, передача собачих паразитів та сезонна динаміка

зараження паразитами є важливими для контролю та профілактики гельмінтозів у домашніх тварин та людей. Дослідження популяцій вільно існуючих собак, як частини міської екології є головним ключем для вирішення багатьох екологічних проблем в промислових екосистемах (Сулейманова Г.Ф., 2000; Черкаський Б. Л., 2006).

Аналіз останніх досліджень і публікацій в яких започатковано розв'язання проблеми. Шлунково-кишкова фауна гельмінтів у собак налічує 21 вид паразитів. Існує вісім видів стрічкових гельмінтів з сімейств *Taeniidae*, *Dipylidiidae*, *Mesocestoidida* та *Diphyllobothriidae*. Круглі паразити представлені шістьма видами із сімейств *Ascarididae*, *Ancylostomatidae*, *Strongiloididae* та *Trichuridae*. Серед плоских гельмінтів виявляють сім видів із родин *Opisthorchiidae*, *Dicrocoeliidae* та *Diplostomatidae*. Деякі види, такі як *Toxascaris leonina*, *T. canis*, *D. caninum*, *E. granulosus* і *A. caninum*, часто зустрічаються у собак з різних регіонів України. Діагноз на гельмінтози, що вражають собак, встановлюють шляхом копрологічного обстеження, виявлення личинок (*Strongyloides*) та посмертним дослідженням. Яйця гельмінтів зазвичай виявляються в калі звичайними копрологічними методами, такими як метод Фюллеборна та метод Дарлінга. Проте ці методи мають низьку чутливість для деяких

¹Науковий керівник: д.вет.н., проф. А.В. Березовський

видів гельмінтів і призводять до недооцінки реальної поширеності деяких паразитів (Bittirov A.M., 2012; Gadzhie I.G. et al., 2010; Kolesnikov V.I. et al., 2012). Деякі методи флотації та седиментації застосовуються лише в країнах СНД. Наприклад, методи Котельнікова-Варенічева та Котельнікова-Хренова – це відцентрова техніка флотації, яка має високу чутливість для багатьох видів гельмінтів. Техніка седиментації запропонована Горячевим, даний метод використовують при діагностиці гельмінтозів, збудники яких виділяють яйця з великою щільністю, вони більш трудомісткі ніж методи флотації, що пов'язано зі складністю відмивання яєць гельмінтів в осаді досліджуваної суміші, запропонована для виявлення яєць опісторхісів, використовується і деякими іншими дослідниками (Lun Z.R. et al., 2005). Проте інші методи копрологічного обстеження, що застосовуються у всьому світі, в Україні переважно не використовують. Наприклад, TF-test®, розроблений для виявлення шлунково-кишкових паразитів людини (Nikolaeva N. et al, 2005) також використовується для виявлення яєць гельмінтів у собак. Деякі порівняльні дослідження показали, що техніка відцентрової флотації була більш чутливою, ніж відцентрова седиментація та TF-test® для виявлення яєць *Ancylostoma spp.*, *T. canis*, *Trichuris vulpisy* фекаліях котів. Іншим методом є техніка Вілліса, що має високу чутливість до яєць *T. canis* у собак (Lin R.Q., 2011). Більше того, недавнє дослідження показало, що цей метод виявився кращим, ніж відцентрова техніка флотації та техніка Гофмана-Понса-Жанера для виявлення *Ancylostoma spp.* у фекаліях собак (Kolesnikov V.I., 2012).

При посмертному дослідженні використовуються методи тотального та часткового гельмінтологічного дослідження, що були запропоновані Скрябіним (King S., 2001), і використовуються у паразитологічних дослідженнях. Більшість видів гельмінтів, що реєструється у собак України, мають зоонозний потенціал. *T. canis* є найпоширенішим кишковим ендопаразитом у всьому світі. Люди заражаються токсокарозом через контакт з забрудненим ґрунтом яйцями гельмінтів, шерсть домашніх тварин, предмети догляду за тваринами, реманент (Kolesnikov V.I., 2012). Відомо, що чинниками передачі збудників інвазії є саме забруднені яйцями токсокар ґрунт, шерсть тварин, предмети догляду за ними, овочі, столова зелень, руки (Есаулова Н.В., 2000; Лисенко А.Я., 2002; Черкаський Б.Л., 2006).

Проблема токсокарозу у людей та собак висвітлюється у всьому світі. В Україні токсокароз часто реєструється у дітей, з проявом алергічної реакції від 16 % до 47 %. Вісцеральний токсокароз частіше реєструється у дорослих. Рівень зараженості в різних регіонах та у людей різних вікових груп в цілому різний. Збудник ехінококозу (*E. granulosus*) – широко розповсюджений паразит, який завдає великі збитки та соціально-економічні витрати. Існування дорослих паразитів відбувається в тонкому кишечнику собак, і люди заражаються потраплянням в організм зараженої їжі (Абере Т. et al., 2013) або при безпосередньому контакті із зараженими собаками шерстний покрив яких забруднений яйцями гельмінтів (Neves D. et al., 2014). Забруднення навколишнього середовища яйцями гельмінтів є великою проблемою в багатьох міських і сільських районах України. Так, рівень забрудненості ґрунту яйцями геогельмінтів коливається в межах 3–9 %, у той же час від 29 до 48 % проб ґрунту з виявленими збудниками паразитозів містять яйця токсокар; у ґрунті на території

дитячих закладів їх частка досягає 58–67 %, на дитячих майданчиках житлових будинків – 90 %, на пляжах – від 86 до 100 % позитивних проб (Paliy A. et al., 2019).

Інтенсивність екскреції яєць статевозрілими гельмінтами, що населяють кишечник тварин, стійкість яєць у зовнішньому середовищі – все це є визначальними факторами поширення інвазії. Обстеженнями проведеними в різних країнах, встановлена значна забрудненість ґрунту в населених пунктах яйцями гельмінтів, з коливаннями від 2,9 до 60 % позитивних проб (Субботин А.М., 2012; Дубина І.Н., 2006; Черкаський Б.Л., 2006; Галатюк О.Є. та ін., 2018). Отже, за наявності результатів санітарно-гельмінтологічного дослідження ґрунту на територіях регіону можна прогнозувати ризик інвазування людей токсокарозом.

Ехінококоз людини є найсерйознішим паразитарним захворюванням, оскільки летальний кінець настає у 2-23 % випадків (Overgaauw P.A. et al., 2009). Найпоширенішою хвороба є у Китаї, західній та південній частині Росії, Південно-Західній Європі, Південній Африці та Центральній та Південній Америці (Masse G. et al., 2017). В останні роки були проведені дослідження на основі ДНК і встановлено, що *E. granulosus* містить 10 генотипів, які були виділені у різних видів. *E. granulosus* s. s. (*G1-G3*), *E. canadensis* (*G6, G8 i G10*) виявлені в Україні. Люди рідко заражаються *D. caninum*, який виникає через потрапляння в організм котятих бліх, заражених ланцюжковими гельмінтами, але така інвазія теж зареєстрована в Україні. В зв'язку з цим контроль та профілактика гельмінтозних зоонозів є актуальною ветеринарною та медичною проблемою. *T. canis* та *E. granulosus*, які мають поширення у всьому світі однак офіційних рекомендацій щодо контролю цих інвазій у собак не існує, в таких як рекомендації Companion Animal Parasite Council (CAPC: <http://www.capcvet.org/>) у США та European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP: <http://www.esccap.org/>) в Європі.

Моніторинг паразитарних захворювань здійснюється нерегулярно. Велика кількість безпритульних собак, неконтрольоване використання протипаразитарних препаратів спричиняють забруднення навколишнього середовища яйцями гельмінтів (Soroka N.M. et al., 2010).

Знання видового складу гельмінтів у собак, вивчення поширення гельмінтозів, екстенсивності і інтенсивності інвазії, а також вікової та сезонної динаміки необхідно для визначення епізоотології гельмінтозів домашніх м'ясоїдних тварин і епідеміології інвазійних хвороб. Це допоможе більш правильно і ефективно проводити профілактичні та лікувальні заходи за даних паразитозів та допоможе запобігти активному розповсюдженню збудників гельмінтів. В даний час основні методи профілактики зараження гельмінтами собак включають регулярну дегельмінтизацію домашніх тварин, контроль забруднення навколишнього середовища (уникати забруднення фекаліями собак в громадських місцях) та поширення інформації про зоонозних паразитів (Suleymanova G.F., 2000). Більше того, контроль якості їжі та дієти домашніх тварин допомагають запобігти зараженню паразитами. Багато власників собак не можуть дозволити собі профілактичні заходи і діятимуть лише тоді, коли проблема, що загрожує життю, стосується їх тварин. Державні установи не можуть керувати цими процесами в повному обсязі через відсутність належної інфраструктури та навченого персоналу для прове-

дення ефективної довгострокової програми контролю популяції. Як наслідок, домашнім собакам і котам зазвичай загрожує широкий спектр паразитів, які можуть спричинити захворювання у них. Тісний контакт між домашніми тваринами та людьми може мимоволі представляти небезпеку для людей. Тому, щоб уникнути потенційних ризиків інфікування людини від тварини принципово важливо утримувати домашніх тварин у доброму здоров'ї. Тому ветеринарні лікарі та медичні лікарі повинні спільно працювати над покращенням добробуту та загального стану здоров'я як тварин, так і людей. Останніми роками не завжди проводилось достатня кількість наукових досліджень направлених на вивчення інфекційної та інвазійної патології даних тварин. Пероральне застосування препаратів у вигляді таблеток, розчинів, суспензій, паст у дрібних тварин часто супроводжується проблемами як із їх застосуванням (агресія тварин), так і з наслідками – піна зі слини, блювання та ін. Тому актуальним є розробка нових засобів профілактики гельмінтозів та лікування домашніх тварин уражених гельмінтами для зовнішнього застосування, точкового нанесення на шкіру тварини за допомогою ампуликрапельниці у місця, недоступні для злизування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалася на кафедрі ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського НАУ за наступним тематичним планом науково-дослідної роботи «Прогнозування ризиків транскордонного заносу та поширення особливо небезпечних хвороб тварин та розробка науково обґрунтованих систем дезінфекції на основі інноваційних імпортозамінних високоефективних засобів» (№ державної реєстрації 0115 U 001342, 2018-2023 рр.)

Метою нашої роботи було визначення ефективності нових експериментальних препаратів ELITE ZOO ДОГ та ELITE ZOO КЕТ (ООО фірма ПРОДУКТ) для лікування собак і котів за складних кишкових паразитоценозів.

Матеріали і методи. Дослідження проводили в умовах ветеринарної клініки «Ветсервіс» міста Суми та на кафедрі епізоотології та паразитології Сумського національного аграрного університету. Собак з мікст інвазіями кишковими збудниками відбирали за результатами копроовоскопічних досліджень проведених за методом Котельникова-Хренова. Для випробування препарату ELITE ZOO ДОГ формували умовну групу з 30 безпородних собак різної статі, спонтанно інвазованих *Toxascaris leonine*, нематодами сімейства *Ancylostomatidae* і *Toxocaracanis*.

Інвазованих гельмінтами котів відбирали за результатами копроовоскопічних досліджень і розподіляли на групи в залежності від ступеня їх інвазованості та виду гельмінтів. В дослід було взято 20 тварин спонтанно вражених токсокарами та дипілідіями. Ефективність розраховували на основі результатів копроовоскопічних досліджень, кількості гельмінтів в 1 г біоматеріалу до та після використання препарату ELITE ZOO КЕТ.

Препарат ELITE ZOO КЕТ (розчин для зовнішнього застосування, точкового нанесення) – прозора масляниста рідина від світло-жовтого до темно-жовтого кольору зі специ-

фічним запахом складових компонентів. 1 мл препарату містить діючі речовини: фіпроніл – 100 мг; оксидектин – 10 мг; празиквантел – 40 мг. Складові препаратів: фіпроніл-5-аміно-1-[2,6-дихлоро-4-(трифлуорометил)феніл]-4-[(трифлуорометил)сульфініл]-1Н-піразол-3-карбонітрил фенілпіразолу. Механізм дії фіпронілу у безхребетних полягає в гальмуванні проходження іонів хлору в залежних хлоридних каналах, що порушує роботу нервової системи членистоногих. Через системне блокування фіпронілом нервової системи настає нервово-перезбудження і загибель ектопаразитів; оксидектин – напівсинтетична сполука групи мільбеміцинів (макроциклічні лактони) стимулює виділення ГАМК та, зв'язуючись із постсинаптичними рецепторами, викликає порушення м'язової іннервації, параліч та загибель ектопаразитів та нематод; празиквантел – похідне піразинізохіноліну, діє на більшість видів цестод (у тому числі на їх личинкові стадії) та трематоди викликає деполарізацію нейром'язових гангліїв, порушення транспортування глюкози та мікротубулярної функції у цестод, що призводить до паралічу та загибелі паразитів.

Препарат ELITE ZOO ДОГ застосовували зовнішньо, наносили на суху, неушкоджену шкіру тварини за допомогою ампуликрапельниці у місця, недоступні для злизування (на холку та вздовж хребта), у дозах: собакам масою тіла 1-5 кг – 0,5 мл препарату; масою тіла 5-10 кг – 1 мл препарату; масою тіла 10-20 кг – 2 мл препарату; масою тіла 20-30 кг – 3 мл препарату; масою тіла 30-40 кг – 4 мл препарату; масою тіла 40-60 кг – 6 мл препарату.

ELITE ZOO КЕТ застосовували зовнішньо, наносили на суху, неушкоджену шкіру тварини за допомогою ампуликрапельниці у місця, недоступні для злизування (на холку), у дозах: котам масою тіла 1-5 кг – 0,5 мл препарату; масою тіла 5-10 кг – 1 мл препарату.

Антигельмінтну ефективність ELITE ZOO ДОГ розраховували на підставі результатів копроовоскопічних досліджень, оцінюючи кількість яєць гельмінтів в 1 г біоматеріалу до введення препарату та через 7-10 днів після застосування препарату.

Антигельмінтна ефективність при цестодозах була вивчена на 30 собаках віком старше 6 років, що були спонтанно інвазовані дипілідіями та теніями і утримувались у притулку. Оцінка ефективності препарату проводилась на 7-10-й день після лікування за допомогою копроовоскопічних досліджень методом Щербовича. Собак годували сухим збалансованим кормом фірми «Josega», доступ до води не обмежений.

Антигельмінтну ефективність препарату ELITE ZOO КЕТ за змішаної інвазії цестод та нематод вивчали на умовній групі з 20 котів віком старше 4 років, яких утримували в приватних помешканнях м. Тростянець Сумської області. Після встановлення рівня мікст інвазії застосовували препарат ELITE ZOO КЕТ тваринам з масою тіла 1-5 кг – 0,5 мл, а з масою тіла 5-10 кг – 1 мл препарату. Котів годували сухим кормом «Мяу», а також рибою та сиров яловичиною.

Результати досліджень щодо ефективності препарату ELITE ZOO ДОГ при мікстинвазії круглих гельмінтів - токсокар, токсокар та анкілостом представлено в таблиці 1.

Ефективність розчину ELITE ZOO ДОГ при лікуванні собак за гельмінтозів (M±m, n= 30)

Гельмінтоз	Кількість інвазованих собак		Інтенсефективність, %	Кількість яєць гельмінтів в 1 г фекалій		Ефективність лікування (екстенсефективність), %
	до лікування	після лікування		до лікування	після лікування	
Токсаскариоз	14	0	100	60,0±3,0*	0	100
Токсокароз	11	0	100	81,4±4,1*	0	100
Анкілостомоз	5	0	100	76,7±3,8*	0	100

Примітка: * P≤0,05

На наступному етапі були проведені дослідження по вивченню ефективності препарату ELITE ZOO ДОГ при лікуванні собак за змішаних цестодозів. Дослідами доведено, що

терапевтична ефективність розчину ELITE ZOO ДОГ при змішаних цестодозах складала 80-87,5% (таблиця 2).

Таблиця 2

Ефективність розчину ELITE ZOO ДОГ при лікуванні за змішаних цестодозів собак (M±m, n= 30)

Захворювання	Кількість інвазованих собак		Інтенсефективність, %	Кількість яєць гельмінтів в 1 г фекалій	
	до лікування	після лікування		до лікування	після лікування
Дипілідіоз	16	2	87,5±	153,4±7,7*	29,2±1,5*
Теніоз	5	1	80,0±	126,2±6,3*	13,8±0,7*

Примітка: * P≤0,05

Інвазованих гельмінтами котів відбирали за результатами копроовоскопічних досліджень і розподіляли на групи в залежності від ступеню їх інвазованості та виду гельмінтів. В дослід було взято 20 тварин спонтанно вражених токсокарами та дипілідіями. Ефективність розраховували на основі

результатів копроовоскопічних досліджень кількість яєць гельмінтів в 1 г біоматеріалу до та після використання препарату ELITE ZOO KET. Отримані результати наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Ефективність розчину ELITE ZOO KET при лікуванні котів за змішаної інвазії нематод та цестод (M±m, n= 20)

Захворювання	Кількість інвазованих котів		Інтенсефективність, %	Кількість яєць гельмінтів в 1 г фекалій		Екстенсефективність, %
	до лікування	після лікування		до лікування	після лікування	
Токсокароз	15	0	100	76,7±3,8*	0	100
Дипілідіоз	5	0	100	53,1±2,7*	0	100

Примітка: * P≤0,05

За результатами досліджень виявлена 100% ефективність розчину ELITE ZOO KET при лікуванні котів інвазованих токсокарами та дипілідіями.

Обговорення отриманих результатів. Проведені дослідження показали наступне. Застосування препаратів ELITE ZOO ДОГ та ELITE ZOO KET в формі крапель на шкіру під час лікування дрібних домашніх тварин (собак та котів) за асоційованих нематодозів та цестодозів довело їх ефективність в межах 80 – 100 %, тому дані препарати можна вважати досить ефективними при асоційованих інвазіях токсокарозу, дипілідіозу, теніозів в рекомендованих виробником дозах: собакам масою тіла 1-5 кг – 0,5 мл препарату; масою тіла 5-10 кг – 1 мл препарату; масою тіла 10-20 кг – 2 мл препарату; масою тіла 20-30 кг – 3 мл препарату; масою тіла 30-40 кг –

4 мл препарату; масою тіла 40-60 кг – 6 мл препарату. Котам у дозах: масою тіла 1-5 кг – 0,5 мл препарату; масою тіла 5-10 кг – 1 мл препарату.

Висновки. При використанні препарату ELITE ZOO ДОГ в рекомендованій концентрації ефективність при змішаних цестодозах собак складає 80–87,5 % а при застосуванні ELITE ZOO KET ефективність при лікуванні котів, інвазованих токсокарами та дипілідіями складає 100 %.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть скеровані на визначення іншого видового складу гельмінтів собак та котів, а також використання розроблених препаратів ELITE ZOO ДОГ та ELITE ZOO KET з метою дегельмінтизації дрібних тварин.

References:

1. Bodnya E.I. (2006). Toksokaroz – parazitarnoye zabolovaniye zhivotnykh i cheloveka [Toxocariasis - a parasitic disease of animals and humans]. Zhurnal suchasnoho likarya. Mystetstvo likuvannya [Journal of the modern doctor. The art of healing], 6(32), 57–59 [in Ukrainian].
2. Dakhno I.S., Dakhno Y.I. (2010). Ekolohichna hel'mintolohiya. Navchal'nyy posibnyk Ecological helminthology. Tutorial. [Ecological helminthology. Tutorial]. Sumy: Kozats'kyy val [Sumy: Cossack shaft,], 77–82 [in Ukrainian].
3. Dubina I.N. (2006). Gel'mintozysobak: monografiya [Helminthiasis of dogs: a monograph]. Journal of the Vitebsk, 200. Journal of the Vitebsk
4. Esaulova N.V. (2000). Gel'mintozy sobak i koshek, opasnyye dlya cheloveka i ikh diagnostika. [Helminthiasis of dogs and cats, dangerous to humans and their diagnosis] veterinariya [Veterinary], 6, 22–28.
5. Lysenko A.Ya., Vladimirova N.G., Kondrashina A.K. (2002). Klinicheskaya parazitologiya. [Clinical parasitology] Journal of the Geneva, 65–66.
6. Pavlenko S.V. (2004) Hel'mintozy sobak mis'kykh populyatsiy: poshyrennya, terapevtychna ta imunolohichna otsinka kompleksnoyi terapiyi: avtoref. dys. ... kand. vet. nauk: spets. 16. 00. 11. «Parazytolohiya, hel'mintolohiya» [Helminthiasis of dogs of urban

- populations: prevalence, therapeutic and immunological assessment of complex therapy: author's ref. dis. cand. vet. Science: special. 16. 00. 11. "Parasitology, helminthology" Kharkiv, 20 [in Ukrainian].
7. Soroka N.M., Dakhno I.S. (2010). Hel'mintofauna sobak tsentral'noyi chastyny Ukrayiny [Helminthfauna of dogs of the central part of Ukraine]. *Naukovyy visnyk NUBiP Ukrayiny* [Scientific Bulletin of NULES of Ukraine], 151 (2), 176–178 [in Ukrainian].
 8. Bittirov A.M., Mantaeva S.S., Shihalieva M.A., Sarbasheva M.M., Bidzhiev A.Z., Golubev A.A. and Akieva O.M. (2012). Jepizootologicheskaja ocenka gel'mintov sobak i dikih psovyh v Kabardino-Balkarii (Epizootological evaluation of dogs and wild canis helminthes in Kabardino-Balkarian Republic). *Agrarnaja Nauk.*, 9: 31-32 [In Russian].
 9. Gadzhiev I.G., Ataev A.M., Gazimagomedov M.G. (2010). Fauna of helminthes of domestic and wild Canidae in the plane zone of Dagestan. *Russ. J. Parasitol.* 2010; 4:12–15., DOI: [10.14202/vetworld.2016.1248-1258](https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.1248-1258) [in England].
 10. Kolesnikov V.I., Popov O.V. (2012) Fauna of helminths of dogs in region the caucasus mineral waters. *Nauchno Proizvodstvennyj Zhurnal Ovcy, Kozy, Sherstjanoe Delo.* 2012;4:49–52. DOI: [10.14202/vetworld.2016.1248-1258](https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.1248-1258) [in England].
 11. Lun Z.R., Gasser R.B., Lai D.H., Li A.X., Zhu X.Q., Yu X.B., Fang Y.Y. (2005) Clonorchiasis: a key foodborne zoonosis in China. *Lancet Infect Dis.* 2005 Jan; 5(1): 31-41. doi: 10.1016/S1473-3099(04)01252-6. PMID: 15620559 [in England].
 12. Nikolaeva N., Nikolaeva L., Gigileva N. (2005) Opistorhoz (Jepidemiologija, Klinika, Diagnostika, Lechenie), [Opistorchosis (Epidemiology, clinic, diagnostics and treatment)] *Vrach.* 2005;7:17–20 [In Russian].
 13. Cherkassky B. L. (2006). Ponyatiye «risk» vepidemiologii [The concept of "risk" in epidemiology]. *Epidemiologiya i infekts. bolezni.* [Epidemiology and infectious diseases il], 4–10 [in Russian].
 14. Abere T., Bogale B. and Melaku A. (2013). Gastrointestinal helminth parasites of pet and stray dogs as a potential risk for human health in Bahir Dar town, North-Western Ethiopia. *Vet. World*, 6: 388-392. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2013.388-392> [in England]
 15. Neves D., Lobo L., Simoes P.B. and Cardoso L. (2014). Frequency of intestinal parasites in pet dogs from an urban area (Greater Oporto, northern Portugal). *Vet. Parasitol.*, 200: 295-298. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.11.005> PMID:24433853 [in England].
 16. Paliy A., Sumakova N., Petrov R., Shkromada O., Ulko L., & Palii, A. (2019). Contamination of urbanized territories with eggs of helminths of animals. *Biosystems Diversity*, 27(2), 118–124. doi:10.15421/01191 [in England].
 17. Subbotin A.M. (2012). Gel'minty kak osnovnoy component parazitarnoy sistemy zhivotnykh [Helminths as the main component of the parasitic system of animals] *Uchenyye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya «Vitebskaya gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny» nauchno-prakticheskij zhurnal.* [Scientific notes of the educational institution "Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine" scientific and practical journal], 48(1) 203–206. [in Belarus].
 18. Galatyuk O.Y., Peredera O.O., Lavrinenko I.V., Zhernosik I.A. (2018). Infektsiyni khvoroby sobak. [Infectious diseases of dogs]. *Navchal'nyy posibnyk dly avuziv II–IV rivniv akredyatsiyi* [Navchalnyy booklet for universities II – IV accreditation rivniv], *Zhytomyr*, 276 [in Ukrainian].
 19. Overgaaun P.A., van Zutphen L., Hoek D., Yaya F.O., Roelfsema J., Pinelli E., van Knapen F., Kortbeek L.M. (2009). Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. *Vet Parasitol.* 2009 Jul 7;163(1-2):115-22. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.03.044. Epub 2009 Apr 5. PMID: 19398275 [in England].
 20. Massei G., Fooks A.R., Horton D.L., Callaby R., Sharma K., Dhakal I.P., Dahal U. (2017). Free-Roaming Dogs in Nepal: Demographics, Health and Public Knowledge, Attitudes and Practices. *Zoonoses Public Health.* Feb;64(1):29-40. doi: 10.1111/zph.12280. Epub 2016 Jun 23. PMID: 27334892 [in England].
 21. Suleymanova G.F. (2000). Zarazhenost' plotoyadny k hrazlichnymi vidami parazitov. [Infection of carnivores with various types of parasites] *Metody povysheniya produktivnykh i zashchitnykh funktsiy organizma zhivotnykh v RB.* — Ufa [Methods for increasing the productive and protective functions of animals in the Republic of Belarus. - Ufa], 213–214 [in Russian].

A.V. Berezovsky, Dr, professor, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

B.S. Morozov, PhD student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

The effectiveness of "ELITE ZOO DOG" and "ELITE ZOO KET" on the helminth fauna of small pets

This article provides data on the use of ELITE ZOO DOG and ELITE ZOO KET for the treatment of pathogens of helminthiasis in the veterinary clinic "Vetservice" in the city of Sumy. According to the research results, it was found that the effectiveness of the drug against intestinal helminthiasis on average reaches 80%. After application of the drug, helminthiasis were recorded as monoinvasion. The vast majority of pathogens of helminthiasis belonged to the Teniosis class. The purpose of our work: was to determine the effectiveness of new experimental drugs ELITE ZOO DOG and ELITE ZOO KET, to determine the activity of helminths after the use of this drug in the veterinary clinic "Vetservice" in Sumy. The research was conducted in the veterinary clinic "Vetservice" in Sumy and at the Department of Epizootology and Parasitology of Sumy National Agrarian University. Dogs infested with nematodes were selected based on the results of coproscopic studies performed by the method of Kotelnikov-Khrenov. Thus, in a clinical trial of ELITE ZOO DOG and ELITE ZOO KET, their effectiveness in the treatment of nematodes and cestodes of small animals (dogs and cats) was proven. The effectiveness of drugs reaches from 80 to 100% and therefore these drugs can be considered quite effective in certain types of helminthiasis. The drug ELITE ZOO DOG (solution for external use, spot application) - a clear oily liquid from light yellow to dark yellow with a specific odor of the constituent components. 1 ml of the drug contains active substances: fipronil - 100 mg; moxidectin - 25 mg; praziquantel - 40 mg. ELITE ZOO KET (solution for external use, spot application) - a clear oily liquid from light yellow to dark yellow with a specific odor of the components. 1 ml of the drug contains active substances: fipronil - 100 mg; moxidectin - 10 mg; praziquantel - 40 mg. Fipronil - 5-amino-1-[2,6-dichloro-4-(trifluoromethyl) phenyl]-4-[(trifluoromethyl) sulfinyl]-1H-pyrazole-3-carbonitrile phenylpyrazole. The mechanism of action is depolarization of neuromuscular ganglia, impaired glucose transport and

microtubular function in cestodes, leading to paralysis and death of parasites. It is proved that the drugs should be applied externally, applied to dry, intact skin of the animal with an ampoule-dropper in places inaccessible to lick (on the withers and along the spine), in doses: dogs weighing 1-5 kg - 0.5 ml of the drug ; body weight 5-10 kg - 1 ml of the drug; body weight 10-20 kg - 2 ml of the drug; body weight 20-30 kg - 3 ml of the drug; body weight 30-40 kg - 4 ml of the drug; body weight 40-60 kg - 6 ml of the drug. Cats in doses: body weight 1-5 kg- 0.5 ml of the drug; body weight 5-10 kg - 1 ml of the drug.

Key words: *helminths, carnivore, nematodes, cestodes, intensity invasion, extensivity invasion, toxocarosis, toksaskarosis, ankilostomosis, teniosis, dypilidiosis*

Дата надходження до редакції: 12.11.2020 р.

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ СОБАК ЗА ДИРОФІЛЯРІОЗУ

Кисилиця Владислава Василівна

студентка

Національний університет біоресурсів і природокористування України (м. Київ, Україна)

ORCID: 0000-0001-7754-3706

vladislavakisilitsa@gmail.com

Кладницька Лариса Володимирівна

доктор ветеринарних наук, доцент,

Національний університет біоресурсів і природокористування України (м. Київ, Україна)

ORCID: 0000-0002-9360-0587

kladlarisa@ukr.net

Сорока Наталія Михайлівна

доктор ветеринарних наук, професор,

Національний університет біоресурсів і природокористування України (м. Київ, Україна)

ORCID: 0000-0003-4659-6666,

5278823@ukr.net

Величко Сергій Володимирович

кандидат біологічних наук

головний лікар клініки ветеринарної медицини (м. Київ, Україна)

ORCID: 0000-0002-2579-2134,

wswdكتور@gmail.com

Донцова Ольга Ігорівна

лікар клініки ветеринарної медицини (м. Київ, Україна)

ORCID: 0000-0002-0040-2662

odon@bigmir.net

Величко Владислав Сергійович

студент

Національний університет біоресурсів і природокористування України (м. Київ, Україна)

ORCID: 0000-0002-5227-9168

tvink77777777@gmail.com

*Мета роботи – порівняльна характеристика методів дослідження собак за дирофіляріозу. Дослідження проводили на собаках різної статі, порід і вікових груп, власники яких звернулися у клініку ветеринарної медицини. Кров у собак відбирали вранці або ввечері та досліджували на наявність мікродирофілярії за методами Кнотта, роздавленої краплі, Ястреба В. Б. та фарбування на кислу фосфатазу. Для виявлення збудника *Dirofilaria immitis* застосовували експрес-тест. Проводили морфологічні та біохімічні дослідження крові, електрокардіографію і хірургічне видалення псевдопухлини.*

За результатами досліджень визначено ефективність лабораторних методів за дирофіляріозу собак: на циркулюючий антиген – 100 %, Кнотта – 88,8 % ($p < 0,05$), роздавленої краплі – 72,2 % ($p < 0,05$), Ястреба В. Б. – 68,5 % ($p < 0,001$) та фарбування на кислу фосфатазу – 55,5 % ($p < 0,001$).

У крові собак реєстрували підвищення кількості еозинофілів – $16,3 \pm 2,7$ %; ($p < 0,01$) та зниження кількості сегментоядерних нейтрофілів – $55,0 \pm 3,5$ %; ($p < 0,05$), що свідчить про алергічну реакцію їх організму на наявність гельмінтів. У сироватці крові визначено підвищення активності лужної фосфатази – $185,7 \pm 5,4$ Од/л; ($p < 0,05$) та гамаглутамілтрансферази – $6,7 \pm 0,4$ Од/л; ($p < 0,05$), що вказує на порушення функцій печінки.

За електрокардіографії виявлено порушення ритму і провідності серця, які характеризуються синусовою тахікардією (54 %), мигальною аритмією передсердь (4 %), екстрасистолією (10 %), фібриляцією шлуночків (2 %) та блокадою правої ніжки пучка Гіса (5 %).

*Проведено обстеження псевдопухлини, локалізованої в ділянці сім'яника пса та хірургічне видалення з піхвової порожнини сім'яника статевозрілого гельмінта *Dirofilaria repens*.*

Ключові слова: дирофіляріоз, мікродирофілярії, *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens*, методи дослідження, собаки

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.3.7>

Актуальність. Дирофіляріоз – гельмінтозна хвороба м'ясоїдних тварин, зокрема собак, а також людини, збудни-

ками якої є круглі черви (Genchi, С., Kramer, L. 2017). Найчастіше у собак реєструються два збудники *Dirofilaria immitis* і *Dirofilaria repens*, проте їх відомо більше 26 видів (Simon, F.,

Siles, M., Lucas, R., Morchon, J., Gonzalez-Miguel, I., Mellado, E., Carreton, Montoya-Alonso, J. A., 2012). Проміжними хазяями збудників є самки комарів родів *Anopheles*, *Aedes*, *Culex*. Хвороба має значне поширення, особливо в країнах з тропічним та субтропічним кліматом (Panarese, R., Maria, R. I., Latrofa S., Zatlal A., Ignjatović Čupina, A., Montarsi, F., Pombi, M., Mendoza-Roldan, J. A., Beugnet, F., Otranto, D., 2020). Основне джерело поширення інвазії – хворі м'ясоїдні тварини. Масове їх ураження гельмінтами спостерігається у період льоту кровосисних комах (весна і перша половина літа) (Simon, F., Siles, M., Lucas, R., Morchon, J., Gonzalez-Miguel, I., Mellado, E., Carreton, Montoya-Alonso, J. A., 2012).

Для успішної діагностики хвороби та лікування тварин важливо чітко розуміти життєвий цикл гельмінтів (McCall, J.W., Kramer, L., Genchi, C., Guerrero, J., Dzimiński, M. T., Mansour, A., McCall, S. D., Carson B. (2014), McCall, J.W., Varlout, M., Hodgkins, E., Mansour A., DiCosty, U., McCall, S., Carmichael, J., Carson, B., Carter, J. 2017). Так збудник *Dirofilaria immitis* має порівняно довгий цикл розвитку, близько 7–9 місяців і для нього потрібен резервуар або осередок інвазії, переносник, який здатний передавати цю інвазію та сприйнятливий хазяїн. Самка комара, як переносник збудника *Dirofilaria immitis*, інвазується в той момент, коли живиться кров'ю тварини або людини, що є носієм мікродирофілярій. У самки комара, у мальпігієвих каналцях, мікродирофілярії перетворюються на личинок та проходять три стадії личинки (L₁, L₂; L₃). Личинки третьої стадії підіймаються до хоботка самки комара і передаються собаці або людині через укуси комари (McCall, J.W., Varlout, M., Hodgkins, E., Mansour A., DiCosty, U., McCall, S., Carmichael, J., Carson, B., Carter, J., 2017). Личинки, що потрапляють у кров собаки або людини двічі линяють і перетворюються на мікродирофілярій. Остання їх линька відбувається на 50–70 добу. Вони мігрують по тілу тварини або людини та досягають легеневої артерії вже на 67 добу. Статева зрілість гельмінтів настає приблизно на 120 добу і вже за 6–9 місяців після зараження у крові собак з'являються мікродирофілярії (American Heartworm Society. Canine guidelines. 2020).

За даними American Heartworm Society статевозрілі дирофілярії можуть жити в організмі собак до семи років, у котів – до трьох років (American Heartworm Society. Canine guidelines. 2020). Після зараження організм тварини по різному реагує на наявність паразитів. Статевозрілі *Dirofilaria immitis* локалізуються у правому передсерді, правому шлуночку, легеневої артерії. Вони небезпечні тим, що призводять до порушення роботи серця, утруднюють рух та змінюють тиск крові, а також спричиняють гемоліз еритроцитів.

Клінічні ознаки у собак, як правило, ґрунтуються на інтенсивності інвазії. Чим вища інтенсивність інвазії, тим важчий загальний стан тварини (American Heartworm Society. Canine guidelines. 2020). Собаки кашляють і легко втомлюються після помірних фізичних навантажень, особливо тоді, коли дирофілярії заподіюють лише легке пошкодження легеневої артерії. По мірі пошкодження серця рух крові у собак порушується і спричинює серцеву недостатність та раптову загибель.

Статевозрілі *Dirofilaria repens* локалізуються під шкірою в ділянці очей, в матці, у вигляді псевдопухлин статевих органів собак (Genchi, C., Kramer, L. 2017). Мікродирофілярії становлять небезпеку для здоров'я тварини, оскільки викликають зміни у внутрішніх органах, а саме, у печінці, нирках,

легенях (Mikola, N., Oborina, V., Jokelainen, P. 2020).

Зі змінами клімату та глобального потепління у світі і в Україні зокрема, збільшилась тривалість сезонної активності самок комарів і, тому все частіше, дирофіляріоз реєструється у собак і людини (Jiang, S., Tsikolia, M., Benner, U., Bloomquist J. 2017).

Сучасні дані спеціальної літератури засвідчують, що для діагностики дирофіляріозу в собак найбільш часто використовуються системи експрес-тестів. Крім експрес-тестів, нині відомо чимало методик для визначення дирофілярій та мікродирофілярій в організмі собак. Проте не кожна методика забезпечує виявлення гельмінтів в організмі собаки. Деякі з цих методик, застосовані після лікування тварини, дають хибні результати, оскільки реагують на циркулюючі імунні комплекси, що залишаються у крові упродовж шести місяців, навіть, після зникнення паразитів. Крім того, окремі методики передбачають використання токсичних і небезпечних реактивів (American Heartworm Society. Canine guidelines. 2020).

У практиці лабораторій ветеринарної медицини давно набув популярності метод Кнотта, який полягає у центрифугуванні крові з 2 % розчином формаліну (1:10) 5 хв за 1500 об/хв. Осад фарбують метиленовим синім і досліджують під мікроскопом [Knott, J. 1939].

Фахівці лабораторій ветеринарної медицини використовують і ряд інших методик, які також знайшли своє місце у дослідженнях за виявлення мікрофілярій. За методом Кулікова беруть 20 мл венозної крові, змішують з 2 мл 3,8 % водного розчину лимоннокислого натрію (цитрату натрію) і відстоюють 20–30 хв. При цьому в пробірці утворюється три шари: нижній – еритроцити, середній – лейкоцити і мікрофілярії, верхній – плазма крові. Відбирають піпеткою середній шар, краплями наносять на предметне скло, накривають покривним і досліджують під мікроскопом за малого і середнього збільшення.

Архіпова Д. Р. розробила кількісний метод зажиттєвої діагностики дирофіляріозу собак, який ґрунтується на підрахунку мікрофілярій у лічильній камері Фукс-Розенталя. Лейкоцитарний меланжер до мітки I заповнюють кров'ю і до мітки II розчином, що складається з крижаної оцтової кислоти, розчину фуксину і дистильованої води в співвідношенні 3:4:93. Для рівномірного змішування меланжер з кров'ю і розчином кладуть на вібратор на 2–3 хв. До чистої і сухої камери Фукс-Розенталя притирають покривне скло, до появи кілець Ньютона. Розчин у меланжері струшують і краплю розчину (не першу) наносять на середню частину пластинки камери та під мікроскопом (x100) підраховують мікрофілярій у всіх квадратах. Отримане число множать на 6,23 (для 20 мм³ розчину потрібно 6,23 мм³ обсягу камери). Для визначення кількості мікрофілярій в 1 мл крові, отримане число множать на 50 (Архіпова, Д. Р. Архипов, И. А. 2004).

За методом Руже-Мюленса до крові додають 95 мл 5 % розчину формаліну, 5 мл оцтової кислоти і 2 мл концентрованого спиртового розчину генціанвіолету. Суміш центрифугують, надосадову рідину вилучають, а осад знову центрифугують з водою і досліджують під мікроскопом. Слід відмітити, що дослідниками запропонована більш спрощена методика, коли краплю крові поміщають у пробірку з розчином і проводять мікроскопію на наступну добу (Moorhead, A.R., Evans, C.C., Kaplan, R.M. 2017).

За методом Шюффера беруть 10 крапель крові і поміщають у 10 мл фізіологічного розчину, до якого попередньо

додають кілька крапель розчину сапоніну. Суміш центрифугують (для гемолізу еритроцитів), а живих і рухливих мікрофілярій виявляють в осаді під мікроскопом (The Basics of Heartworm Disease Testing. (2020).

За методом Ястреба В. Б. у пробірку вносять 1 мл стабілізованої антикоагулянтної крові, додають 9 мл дистильованої води і відстоюють 7–10 хв, після чого центрифугують 5 хв за 2000 об/хв. Осад, 0,5 мл, переносять порціями на предметне скло і досліджують під мікроскопом. Виявляють рухливих мікрофілярій (Ястреб, В. Б. 2004).

Існує також метод аналізу мазка, фарбованого за методом Романовського-Гімза, проте його менше застосовують за діагностики дирофіляріозу.

Метод непрямой імунофлюоресценції (МНІФ, IFA) використовують для виявлення антитіл до мікрофілярій. Крім того, він має специфічну повноцінність за діагностики дирофіляріозу. За імуноферментного аналізу (ІФА, ELISA) можна виявляти антитіла до дирофілярій або сам антиген. Відмічено, що методи МНІФ і ІФА отримали значне поширення у практиці завдяки точності, чутливості, специфічності та швидкості діагностики. Проте після успішного лікування тварини за дирофіляріозу методи ІФА (1 рік) і МНІФ (6 місяців) дають позитивний результат за повторного дослідження (Nelson, C.T., McCall, J.W., Jones S., Moorhead, A. 2020).

Пряма мікроскопія краплі свіжої крові за малого збільшення мікроскопа, є найбільш легким, зручним і швидким методом діагностики дирофіляріозу. Рухливі мікрофілярії добре помітні за їх пересуванням між еритроцитами. Цей метод дає надійні результати тільки за високої інтенсивності інвазії (The Basics of Heartworm Disease Testing. 2020).

Для дослідження сироватки крові в пробірку беруть кілька мл венозної крові. Остання згортається і мікрофілярії мігрують у сироватку. Для цього сироватку із згустком відстоюють у пробірці кілька годин. Потім пастерівською піпеткою беруть кілька крапель сироватки з дна пробірки або з місця на межі сироватки і згустку та поміщають на предметне скло, накривають покривним скельцем і досліджують за малого збільшення мікроскопа. Виявляють рухливих мікрофілярій (Nelson, C.T., McCall, J.W., Jones S., Moorhead, A. 2020).

За методу фарбування на кислу фосфатазу (набір для цитохімічного фарбування препаратів червоного кісткового мозку на кислу фосфатазу «ДіахімЦитоСтейн-КФ») у пробірку з 10 мл дистильованої води додають кілька крапель сироватки крові, перемішують, центрифугують 5 хв за 1000–1500 об/хв. Після чого надосадову рідину вилучають, а осад розміщують на предметному склі, висушують, фіксують в парах формаліну 30 с, фарбують, дотримуючись інструкції до набору для фарбування (Nelson, C.T., McCall, J.W., Jones S., Moorhead, A. 2020).

Імунохроматографічний експрес-тест призначений для одноетапного якісного виявлення дирофілярій (CHW Ag) у крові, сироватці, плазмі. Тести виявляють протеїн (антиген), який секретується, дорослими самками *Dirofilaria immitis*. Цей тест є одним з найбільш чутливих методів діагностики. Для цього потрібно звільнити касету з пакета і покласти горизонтально, внести 3 краплі досліджуваного зразка у віконце тест-системи. Облік результатів проводити за 5–10 хв (Nelson, C.T., McCall, J.W., Jones S., Moorhead, A. 2020, FDA. 2020).

Для отримання додаткових даних щодо стану здоров'я тварини за дирофіляріозу проводять електрокардіогра-

фію, ультразвукову діагностику, рентгенографію. За ехографії виявляють дирофілярій у камерах серця, зазвичай у лівому передсерді, легеневій артерії; визначають об'єм камер серця, товщину міжшлуночкової перегородки та міокарда за фаз серцевих скорочень. За високої інтенсивності інвазії, коли гельмінти локалізуються в легеневих артеріях, правому шлуночку і правому передсерді, спостерігають гіпертрофію або розширення правого шлуночка, перикардіальний випіт, парадоксальну рухливість міжшлуночкової перегородки, сплюснення і потовщення перегородки, недостатність тристулкового клапана, підвищення тиску в легеневих артеріях (Ashley, B., Saunders, D. Wesselowski, S., Cusack, K. 2020).

За дослідження біострумів серця визначають електричну вісь серця, зміни в роботі камер серця, провідної системи. Відмічено, що за дирофіляріозу у собак електрокардіографія виявляє синусову аритмію (тахікардію), ознаки розширення правого шлуночка і правого передсердя, порушення провідності (American Heartworm Society. Canine guidelines. 2020).

Для вилучення гельмінтів, що локалізуються під шкірою і формують псевдопухлини, застосовують хірургічні методи.

Треба зазначити, що не кожна з запропонованих методик може забезпечувати виявлення мікродирофілярій або дирофілярій в організмі собак, особливо після проведеного їх лікування (American Heartworm Society. Canine guidelines. 2020).

Морфологічні та біохімічні дослідження крові не дозволяють поставити точний діагноз на дирофіляріоз, але допомагають визначити патологічні зміни в органах і тканинах, які можуть бути пов'язані з інвазією. Найбільш часто за дирофіляріозу відзначають нормоцитарну, нормохромну або гіпохромну анемію (гематокрит <20–30 %), гемолітичну анемію, нейтрофілію, еозинофілію (85 % випадків), базофілію (60 % випадків), моноцитоз, тромбоцитопенію. У важких випадках, особливо, якщо присутня серцева недостатність, підвищується активність ферментів АлАТ і АсАТ, іноді відзначається гіпербілірубінемія. Азотемія може бути не ниркового походження, якщо присутні дегідратація або порок серця, або може бути вторинна за гломерулонефриту, який ускладнює клінічну картину (Oi, M., Yoshikawa, S., Ichikawa, Y., Nakagaki K., Matsumoto, J., Nogami, S. 2014).

Рентгенографія грудної порожнини за оцінкою патологічних змін у легенях дозволяє побічно визначити ступінь інвазії. У собак, хворих на дирофіляріоз, можна виявити потовщення легеневої артерії, її звивистість та гіпертрофію правого шлуночка, ущільнення тканини легені. Для кращої демонстрації змін у судинах можна провести ангиографію. Слід відмітити, що рентгенографія показує поширеність запального процесу в легенях і виявляє хворих тварин з високим ризиком розвитку легеневої тромбоемболії (Atsumi, E., Matsumoto, H., Taira, N., Yohena, T., Kawasaki H., Kawabata, T., Yoshimi, N., 2019).

Також вагомим фактором своєчасного виявлення *Dirofilaria immitis* і *Dirofilaria repens* в організмі собак є те, що хворі тварини є резервуаром цих гельмінтів, які небезпечні для людини.

Отже, визначення оптимального алгоритму лабораторного і діагностичного дослідження собак за дирофіляріозу набуває все більшої актуальності в зв'язку з поширенням його на території України.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили у міжкафедральній лабораторії факультету ветеринарної медицини НУБіП України та у клініці ветеринарної медицини міста Києва упродовж 2020 року. Для досліджень відібрали 53 собаки різних порід, власники яких звернулись за допомогою в клініку. Дослідження проводили з дотримання вимог Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» відповідно до «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), декларації «Про гуманне ставлення до тварин» (Гельсінкі, 2000) і Національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Київ, 2001).

Проводили загальний клінічний огляд собак, відбирали кров з додаткової підшкірної вени передпліччя вранці або ввечері. Кров досліджували лабораторно імуноферментним методом (система експрес-тесту) на наявність антигену дорослих гельмінтів та за методами Кнотта, роздавленої краплі, центрифугування з дистильованою водою, фарбування на кислу фосфатазу на наявність мікродирофілярій.

За дослідження методом Кнотта до 1 мл крові собак додавали 10 мл 2%-ного розчину формаліну, центрифугували протягом 5 хвилин за 1500 об/хв. Після цього надосадову рідину вилучали, а осад фарбували метиленовим синім і досліджували під мікроскопом (Knott, J. 1939).

За дослідження методом роздавленої краплі, пробірки з кров'ю струшували, відбирали 3 краплі крові, які нанесли на предметне скло, зверху накривали покривним скельцем і одразу досліджували під малим збільшенням мікроскопу.

За методом Ястреба В.Б. 1 мл стабілізованої антикоагулянтном крові (цитрат натрію, гепарин, етилендиметилтетраоцтова кислота) вносили в пробірку, додавали 9 мл дистильованої води і відстоювали 7-10 хвилин, після чого центрифугували протягом 5 хвилин за 2000 об/хв. Осад у кількості 0,5 мл розміщали порціями на предметному склі та проводили мікроскопію (Ястреб, В. Б. 2004).



Рис. 1. Позитивний результат експрес-тесту на наявність у крові собаки антигену *Dirofilaria immitis*

За використання методу Кнотта виявляли мікродирофілярій у 88,8 % ($p < 0,05$) випадків порівняно з методом дослідження на циркулюючий антиген за експрес-тестом. На нашу думку, такі показники обумовлені тим, що бувають випадки паразитування тільки статевозрілих гельмінтів, а мікродирофілярій відсутні внаслідок проведеного попереднього лікування собак.

За дослідження методом роздавленої краплі мікродирофілярій були виявлені у 72,2 % ($p < 0,01$) собак. Методом

За дослідження методом фарбування на кислу фосфатазу в пробірку з 10 мл дистильованої води додавали кілька крапель сироватки і центрифугували 5 хв. за 1000-1500 об/хв, надосадову рідину вилучали, ресуспендований осад розміщали на предметному склі, висушували, фіксували в парах формаліну 30 с, фарбували, дотримуючись інструкції до набору для фарбування (Nelson, C.T., McCall, J.W., Jones S., Moorhead, A. 2020).

За дослідження експрес-тестом на дослідження наявності антигену *Dirofilaria immitis* в крові собак наносили краплю сироватки крові досліджуваної тварини у спеціальне віконце тест-системи, очікували 5-15 хвилин і враховували результат за наявністю або відсутністю смужки у відповідній зоні тестової системи (American Heartworm Society. Canine guidelines. 2020).

Усіх собак, у яких був позитивний результат за експрес-тесту на антиген в крові, досліджували іншими, вище зазначеними методами, з метою виявлення їх ефективності. Методом електрокардіографії визначали функціональний стан серця (Nelson, C.T., McCall, J.W., Jones S., Moorhead, A. 2020). Хірургічним методом досліджували псевдопухлини та вилучали з них статевозрілі дирофілярії (Napoli, E., Bono, V., Gabriella Gaglio, Salvatore Giannetto, Antonina Zanghi, Domenico Otranto, Emanuele Brianti. 2019). Морфологічні та біохімічні показники крові визначали за допомогою загально відомих методик (Влізло, В. В., Федорук, Р. С., Ратич, І. Б. та інші. 2012).

Одержані цифрові дані опрацьовували статистично з визначенням середньоарифметичної величини (M), її похибки (m). Достовірність різниці середніх значень встановлювали за критерієм Стьюдента. Зміни показників вважали достовірними за $p < 0,05$ (у тому числі, $p < 0,01$ і $p < 0,001$).

Результати власних досліджень. Як показали результати досліджень у крові собак за дослідження крові з використанням експрес-тесту позитивні результати на наявність антигену *Dirofilaria immitis* отримали у 53 собак, що становило 100 % (рис. 1).

Ястреба В. Б. виявляли мікродирофілярії у 68,5 % ($p < 0,001$) випадків, а за фарбування на кислу фосфатазу – у 55,5 % ($p < 0,001$).

За результатами морфологічного дослідження крові встановили зменшення вмісту гемоглобіну до $132,50 \pm 15,23$ г/л ($p < 0,01$) та тенденцію до зменшення кількості еритроцитів порівняно з контролем (табл. 1).

Таблиця 1

Морфологічні показники крові собак за дирофіляріозу, $M \pm m$, n=17

Показники	Група собак	
	контрольна	дослідна
Еритроцити, Т/л	6,27±0,44	5,82±0,95
Гемоглобін, г/л	149,50±10,13	132,50±15,23*
Лейкоцити, Г/л	9,23±0,275	9,7±0,19

Примітка. Достовірна різниця порівняно з контролем * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

За дослідження лейкограми собак за дирофіляріозу відмічали достовірне підвищення кількості еозинофілів – 16,3±2,7 %; ($p < 0,01$), зниження кількості сегментоядерних нейтрофілів – 55,0±3,5 %; ($p < 0,05$) порівняно з контролем (табл. 2).

Таблиця 2

Лейкограма собак за дирофіляріозу, %, $M \pm m$, n=17

Показники	Група собак	
	контрольна	дослідна
Нейтрофіли паличкоядерні	3,0±0,9	1,0±0,6
сегментоядерні	71,7±3,8	55,0±3,5*
Еозинофіли	2,0±0,6	16,3±2,7**
Моноцити	3,0±0,9	3,0±0,9
Лімфоцити	21,3±2,1	25,0±1,16
Базофіли	0	0

Примітка. Достовірна різниця порівняно з контролем * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

За біохімічних досліджень у сироватці крові встановлено достовірне підвищення активності лужної фосфатази 185,7±5,4 Од/л; ($p < 0,05$) та гамаглутамілтрансферази 6,7±0,4 Од/л; ($p < 0,05$) порівняно з контролем (табл. 3).

Таблиця 3

Біохімічні показники сироватки крові собак за дирофіляріозу, $M \pm m$, n=17

Показники	Група собак	
	контрольна	дослідна
АсАТ, Од/л	45,04±8,65	25,6±5,47
АлАТ, Од/л	25,03±4,39	31,80±5,52
Лужна фосфатаза, Од/л	136,3±10,3	185,7±5,4*
Гамаглутамілтрансфераза, Од/л	2,3±1,0	6,7±0,4*
Амілаза, Од/л	949,7±245,5	1143,1±296,8
Креатинін, мкмоль/л	78,2±15,0	78,5±14,36
Сечовина, ммоль/л	5,42±0,92	7,85±1,04
Білок загальний, г/л	58,22±2,70	65,82±2,34
Альбумін, г/л	3,9±1,1	3,6±0,9
Глюкоза, ммоль/л	4,33±0,75	6,20±0,25
Білірубін загальний, мкмоль/л	3,8±1,7	4,3±1,2
Білірубін прямий, мкмоль/л	1,1±0,3	1,7±0,9
Р, ммоль/л	1,4±0,5	1,9±1,1
Са, ммоль/л	2,4±0,5	2,01±0,7

Примітка. Достовірна різниця порівняно з контролем * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

На рис. 2 і 3 представлено кардіограми дослідних собак за ураження їх гельмінтами *Dirofilaria immitis*. За результатами електрокардіографії у собаки Кари частота серцевих скорочень є нерегулярною від 160 до 280 уд./хв. Слід відмітити, що електрична вісь серця не відхилена; ритм нерегулярний, відмічається фібриляція передсердь. Екстрасистולי монорморфні, поодинокі, шлуночкові (з лівого шлуночка), за типом блокади правої ніжки пучка Гіса; реєструється 25 екстрасистол за 5 хв.

За результатами електрокардіографічних досліджень частота серцевих скорочень собаки Оскара становила 120–140 уд./хв. Електрична вісь серця не відхилена. Серцевий

ритм нерегулярний; дихальна синусова аритмія; екстрасистолія. Монорморфні екстрасистולי правого шлуночка за типом блокади лівої ніжки пучка Гіса; Екстрасистולי поодинокі та куплети, епізоди тригіменії, квадригіменії, вислизаючі; неповна компенсаторна пауза після кожної екстрасистолі; реєструється 103 екстрасистолі за 6 хв; значне підвищення кількості екстрасистол відмічається за занепокоєння тварини. Виявляються ознаки гіпертрофії лівого передсердя. У той же час вище зазначені зміни в роботі серця собак є супутніми за дирофіляріозу і не дають можливість точно встановити діагноз.

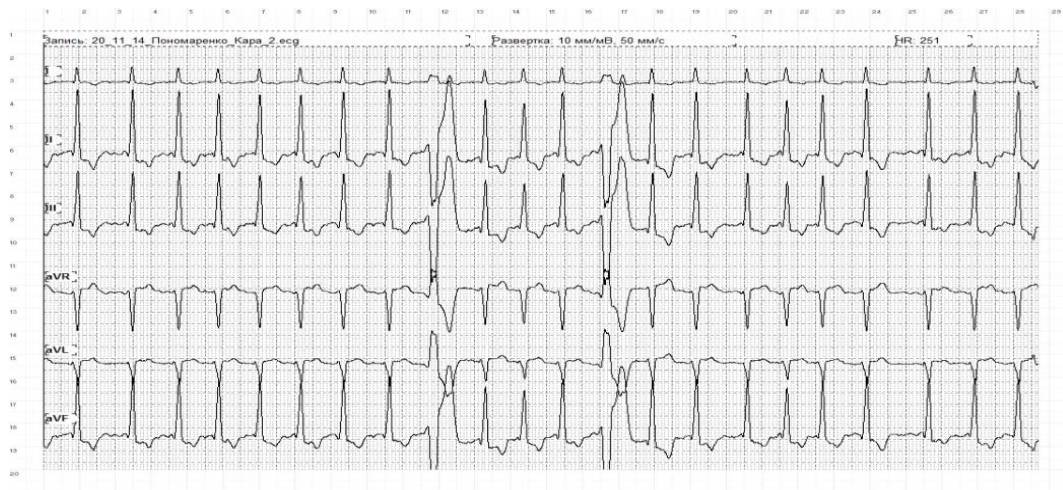


Рис. 2. Електрокардіограма собаки Кари за дирофіляріозу

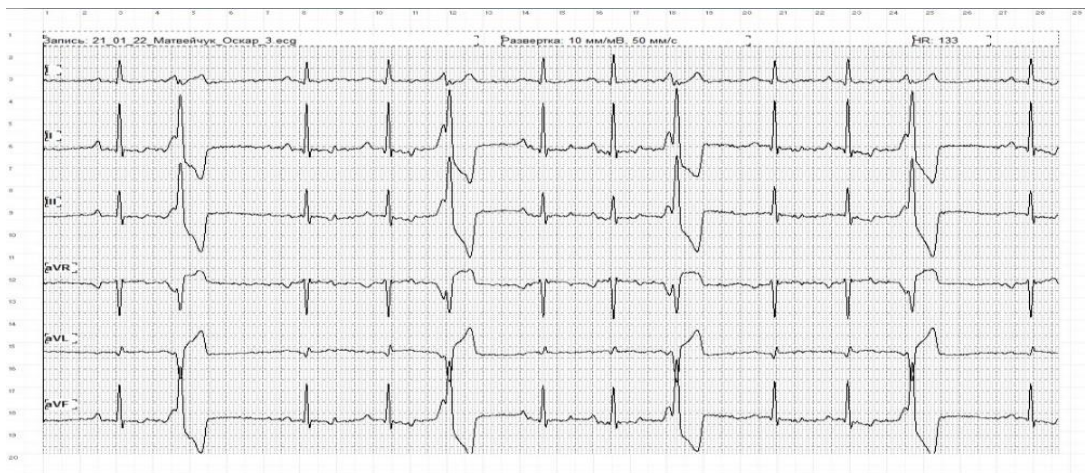


Рис. 3. Електрокардіограма собаки Оскара за дирофіляріозу

Методом електрокардіографії у дослідних собак встановлено порушення ритму і провідності серця, що проявлялося синусовою тахікардією у 54 %, миготливою аритмією передсердь – у 4 %, екстрасистолією – у 10 %, фібриляцією шлуночків – у 2 % та блокадою правої ніжки пучка Гіса – у 5

%.

За використання хірургічного втручання дослідили псевдопухлину, яка була локалізована в ділянці сім'яника пса, та видалили піхвої порожнини сім'яника гельмінта *Dirofilaria repens* (рис. 4, 5).



Рис. 4. Собака за хірургічного втручання за видалення псевдопухлини сім'яника



Рис. 5. Видалення псевдопухлини та гельмінта *Dirofilaria repens*

Дорослі особини гельмінта *Dirofilaria repens*, як правило, локалізуються підшкірно, хоча їх також можна виявити в черевній порожнині та в сполучних м'язових фасціях, де вони досягають статевої зрілості. Отже, виявлення *Dirofilaria repens* в організмі собак, свідчить про те, що вони є резервуарами для цього виду гельмінтів і тим самим створюють небезпеку для людини.

Обговорення. Нині відомо ряд методик, які традиційно використовуються у діагностичних дослідженнях собак за дирофіляріозу. Не всі методики дослідження є ефективними для встановлення діагнозу. За дослідження собак на дирофіляріоз нами використані методи лабораторної діагностики, зокрема метод Кнотта, роздавленої краплі крові, Ястреба В. Б., фарбування на кислу фосфатазу та експрес-тест. За результатами досліджень найбільш точним було використання експрес-тесту, його ефективність становила 100 %. Це узгоджується з даними інших дослідників (American Heartworm Society. Canine guidelines. 2020). За інших методів лабораторної діагностики результати були різні. Так за методу Кнотта ефективність становила 88,8 %, роздавленої краплі – 72,2 %, Ястреба В. Б. – 68,5 %, на кислу фосфатазу – 55,5 %. Зазначені методи дозволяють виявляти мікрофілярії у крові собак та діагностувати у них дирофіляріоз. Проте, за даними іноземних авторів, ці методики не отримали широкого використання у практиці лікарів ветеринарної медицини (Nelson, С.Т., McCall, J.W., Jones S., Moorhead, A. 2020). На нашу думку, метод Кнотта є найефективнішим, оскільки експрес-тести реагують лише на статевозрілих гельмінтів *Dirofilaria immitis* та можуть давати позитивні результати після лікування собак упродовж 6 місяців через їх циркулюючий антиген у крові (Savadelis, M.D., Day, K.M., Bradner, J.L., Wolstenholme, A. J., Dzimianski, M. T., Moorhead A. ,R. 2018).

Додаткові методи діагностики дозволяють виявити супутні патологічні зміни в окремих органах собак за дирофіляріозу. Морфологічне дослідження крові собак показало підвищення кількості еозинофілів, які є маркерами паразитарних хвороб і здатні знищувати токсини чужорідного походження. Біохімічні показники сироватки крові собак, зокрема достовірне підвищення активності лужної фосфатази та гамаглутамілтрансферази засвідчили захворювання печінки, яке може бути інтеркурентним за дирофіляріозу (Panarese, R., Maria, R. I., Latrofa S., Zattel A., Ignjatović Ćupina, A., Montarsi, F.,

Pombi, M., Mendoza-Roldan, J. A., Beugnet, F., Otranto, D. 2020).

За електрокардіографії відмічається зниження функціональної активності серцевого м'яза, що збігається з результатами досліджень інших авторів (Ashley, B., Saunders, D. Wesselowski, S., Cusack, K. 2020).

За хірургічного втручання досліджено псевдопухлину, яка локалізувалася на сім'яному канатику та вилучено статевозрілого гельмінта *Dirofilaria repens* з піхвової порожнини сім'яника. За даними літератури, сім'яники можуть бути місцем локалізації гельмінтів *Dirofilaria repens* (Napoli, E., Bono, V., Gabriella Gaglio, Salvatore Giannetto, Antonina Zanghi, Domenico Otranto, Emanuele Brianti. 2019).

Отримані результати досліджень свідчать, що постановка діагнозу на дирофіляріоз, лише за клінічними ознаками неможлива, оскільки вони не завжди є характерними. Проте зміни у функціонуванні серцево-судинної системи, наявність псевдопухлин, зміни у морфологічних і біохімічних показниках крові можуть свідчити про ураження собак дирофіляріями та мікродирофіляріями. Тому для встановлення остаточного діагнозу собакам слід проводити комплекс діагностичних методів досліджень на дирофіляріоз.

Висновки.

У роботі наведено вирішення важливої науково-практичної проблеми, а саме проведено комплексне лабораторне дослідження крові собак на дирофіляріоз методом дослідження на циркулюючий антиген, Кнотта, роздавленої краплі, чутливості на кислу фосфатазу. Визначено морфологічні, біохімічні показники крові собак, проведено електрокардіографічні дослідження за дирофіляріозу. Хірургічним методом досліджено псевдопухлину, з якої вилучено *Dirofilaria repens*.

1. Визначено ефективність застосування лабораторних методів досліджень собак за дирофіляріозу. Ефективність методу на циркулюючий антиген становила 100 %, Кнотта – 88,8 % ($p < 0,05$), роздавленої краплі – 72,2 % ($p < 0,01$), Ястреба В. Б. – 68,5 % ($p < 0,001$), фарбування на кислу фосфатазу – 55,5 % ($p < 0,001$).

2. У крові собак за дирофіляріозу реєстрували збільшення кількості еозинофілів $16,3 \pm 2,7$ %; ($p < 0,01$) та зниження кількості сегментоядерних нейтрофілів $55,0 \pm 3,5$ %; ($p < 0,05$), що засвідчує алергічну реакцію в їх ор-

ганізмі, яка характерна за гельмінтозів. У сироватці крові відмічали підвищення активності лужної фосфатази $185,7 \pm 5,4$ Од/л; ($p < 0,05$) та гамаглутамілтрансферази $6,7 \pm 0,4$ Од/л; ($p < 0,05$), що характеризує порушення функціонування печінки.

3. Методом електрокардіографії виявлено порушення

ритму і провідності серця у собак за дирофіліarioзу, яке проявлялося синусовою тахікардією – 54 %, мигальною аритмією передсердь – 4 %, екстрасистолією (10 %), фібриляцією шлуночків (2 %) та блокадою правої ніжки пучка Гіса (5 %).

4. За хірургічного втручання видалено псевдопухлину, яка локалізувалася в ділянці сім'яника, та вилучено з піхвової порожнини сім'яника гельмінта *Dirofilaria repens*.

References

1. American Heartworm Society. Canine guidelines. (2020). Available at: https://d3ft8sckhngim2.cloudfront.net/images/pdf/2020_AHS_Canine_Guidelines_Summary_11_12.pdf?1605556516
2. Genchi, C., Kramer, L. (2017). Subcutaneous dirofilariosis (*Dirofilaria repens*): an infection spreading throughout the old world. *Parasit Vectors.*, 10(2):517-521. DOI: https://d3ft8sckhngim2.cloudfront.net/images/pdf/AHS_Canine_Guidelines_11_13_20.pdf?1605556516
3. Simon, F., Siles, M., Lucas, R., Morchon, J., Gonzalez-Miguel, I. Mellado, E. Carreton, Montoya-Alonso, J. A. (2012). Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev.*, 25:507-544.
4. Panarese, R., Maria, R. I., Latrofa S., Zatlal A., Ignjatović Čupina, A., Montarsi, F., Pombi, M., Mendoza-Roldan, J. A., Beugnet, F., Otranto, D. (2020). Hyperendemic *Dirofilaria immitis* infection in a sheltered dog population: an expanding threat in the Mediterranean region. *International Journal for Parasitology.*, 50(8):555-559. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.04.002>
5. Knott, J. (1939). A method for making microfilarial surveys on day blood. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 33:191-196.
6. Mikola, N., Oborina, V., Jokelainen, P. (2020). Knowledge about emerging zoonotic vector-borne parasites *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in Finland: questionnaire survey to medical doctors and veterinarians. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 20:27-32. DOI: <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2502>
7. Moorhead, A.R., Evans, C.C., Kaplan, R.M. 2017. A diagnostic algorithm for evaluating cases of potential macrocyclic lactone-resistant heartworm. *Parasit Vectors.*, 10 (2): 479.
8. The Basics of Heartworm Disease Testing. (2020). DOI: <https://tvmld.tamu.edu/2020/05/21/the-basics-of-heartworm-disease-testing/>.
9. Atsumi, E., Matsumoto, H., Taira, N., Yohena, T., Kawasaki H., Kawabata, T., Yoshimi, N. 2019. Thirteen cases of pulmonary dirofilariosis in a single institution in Okinawa Island. *Virchows Archiv.* 475: 335-340., DOI: <https://doi.org/10.1007/s00428-019-02614-9>
10. Oi, M., Yoshikawa, S., Ichikawa, Y., Nakagaki K., Matsumoto, J., Nogami, S. (2014) Prevalence of *Dirofilaria immitis* among shelter dogs in Tokyo, Japan, after a decade: comparison of 1999-2001 and 2009-2011. *Parasite.* 21:10., DOI: <https://doi.org/10.1051/parasite/2014008>
11. Ashley, B., Saunders, D. Wesselowski, S., Cusack, K. (2020). Transesophageal Echocardiography-Guided *Dirofilaria immitis* Extraction from the Right Atrium in a Dog. *CASE.* 4(4):299-302., DOI: <https://doi.org/10.1016/j.case.2020.05.005>
12. Napoli, E., Bono, V., Gabriella Gaglio, Salvatore Giannetto, Antonina Zanghi, Domenico Otranto, Emanuele Brianti. (2019). Unusual localization of *Dirofilaria repens* (Spirurida: Onchocercidae) infection in the testicle of a dog *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.*, 66 :101326. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.06.007>
13. Nelson, C.T., McCall, J.W., Jones S., Moorhead, A. (2020). Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis and Management of Heartworm Infections in Dogs. DOI: https://d3ft8sckhngim2.cloudfront.net/images/pdf/2020_AHS_Canine_Guidelines.pdf?1580934824
14. FDA. (2020). Keep the Worms Out of Your Pet's Heart! The Facts about Heartworm Disease. Available from: DOI: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/animal-health-literacy/keep-worms-out-your-pets-heart-facts-about-heartworm-disease>
15. Jiang, S., Tsikolia, M., Benner, U., Bloomquist J. (2017) Mosquitocidal activity and mode of action of the isoxazoline fluralaner. *Int J Environ Res Public Health.*, 14:154. Doi: 10.3390/ijerph14020154.
16. McCall, J.W., Kramer, L., Genchi, C., Guerrero, J., Dzimiński, M. T., Mansour, A., McCall, S. D., Carson B. (2014). Effects of doxycycline on heartworm embryogenesis, transmission, circulating microfilaria, and adult worms in microfilaremic dogs. *Vet Parasitol.*, 206(1-2):5-13.
17. McCall, J.W., Varloud, M., Hodgkins, E., Mansour A., DiCosty, U., McCall, S., Carmichael, J., Carson, B., Carter, J. (2017). Shifting the paradigm in *Dirofilaria immitis* prevention: blocking transmission from mosquitoes to dogs using repellents/insecticides and macrocyclic lactone prevention as part of a multimodal approach. *Parasit Vectors.*, 10(2):525.
18. Savadelis, M.D., Day, K.M., Bradner, J.L., Wolstenholme, A. J., Dzimiński, M. T., Moorhead A., R. (2018). Efficacy and side effects of doxycycline versus minocycline in the three dose melarsomine canine adulticidal heartworm treatment protocol. *Parasit Vectors.*, 11:671.
19. Arkhypova, D. R., Arkhypov, Y. A., (2004). Kolychestvennyi metod dyahnostyky dyrofyliaryoza sobak. [Quantitative method for diagnosing heartworm disease in dogs]. *Trudy Vseros. yn-ta helmyntolohyy ym. K.Y. Skriabyna.* [Abstracts. Russian Institute of Helminthology named by K.Y. Skriabyn], 40, 18–22. (in Russian).
20. Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., Ratysh, I. B. ta inshi. (2012). Laboratorni metody doslidzhen u biologii, tvarynyntstvi ta veterynarii medytsyni. [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine]. Lviv «Spolom». [Lviv "Spolom"]. 764. (in Ukrainian).
21. Yastreb, V. B. (2004). Nekotorye aspekty epyzootolohyy dyrofyliaryoza sobak v Moskovskom rehyone. [Some aspects of

the epizootology of heartworm disease in dogs in the Moscow region]. *Teoriya y praktyka borby s parazytarnymy bolezniamy*. [Theory and practice of control of parasitic diseases. Abstracts. scien. conf. Moscow]. 5. 440-442. (in Russian).

Vladislava Kysylytsia, student, NULES of Ukraine, Kyiv

Larysa Kladnytska, Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Kyiv

Natalia Soroka, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, NULES of Ukraine, Kyiv

Serhiy Velychko, PhD in Biological Sciences, Chief Physician of the Veterinary Medicine Clinic, Kyiv,

Olga Dontsova, Doctor of Veterinary Medicine Clinic, Kyiv

Vladyslav Velychko, student, NULES of Ukraine, Kyiv

DIAGNOSTIC METHODS OF HEARTWORM DISEASE IN DOGS AND THEIR COMPARATIVE CHARACTERISTICS

The purpose of the work is to make a comparative description of methods of researching dogs for heartworm disease. The study was performed on dogs of different sexes, breeds and age groups whose owners went to the veterinary hospital. Conducted a general clinical examination, collected blood for testing in the morning or evening. Blood for the presence of larvae was examined by the method of Knot, crushed drop of blood, Hawk BV, staining for acid phosphatase. To identify parasitic adults, *Dirofilaria immitis* was examined for circulating antigen by rapid test systems. Conducted morphological and biochemical blood tests, electrocardiography, surgical removal of pseudotumors.

The efficiency of laboratory methods of research of dogs on heartworm disease was determined: research on circulating antigen – 100 %, Knott's method - 88.8 % ($p < 0.05$), crushed drop method - 72.2 % ($p < 0.05$), method Yastreba V. B. - 68.5 % ($p < 0.001$), and the method of staining for acid phosphatase - 55.5 % ($p < 0.001$) of dogs.

The study of blood morphology proved an increase in the number of eosinophils 16.3 ± 2.7 ($p < 0.01$), a decrease in segmental neutrophils 55.0 ± 3.5 ($p < 0.05$), which indicates allergy of animals due to the presence of antigen.

In dogs with heartworm disease, an increase in alkaline phosphatase activity was found - 185.7 ± 5.4 IU/l ($p < 0.05$), Gamma-Glutamyltransferase 6.7 ± 0.4 ($p < 0.05$), which indicates liver dysfunction.

Electrocardiography revealed arrhythmia and conduction of the heart, which manifested itself as follows: sinus tachycardia 54 %, atrial fibrillation 4 %, extrasystole 10 %, ventricular fibrillation 2 %, right bundle branch block 5 %.

The pseudotumor, which located in the area of the dog's testis, was examined and surgically removed *Dirofilaria repens* from the vaginal cavity of the testis.

Key words: heartworm disease, microdirophyllaria, *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens*, research methods, dogs.

Дата надходження до редакції: 10.11.2020 р.