

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, професор, 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, професор, 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 2 (57), 2022

ЗМІСТ

Березовський А. В., Ярмошенко Ю. Г. Боротьба з філометроїдозом ставових риб.....	3
Zhike Liu, Fotina T.I., Petrov R.V., Fotin A.I., Jinyou Ma. Construction and characterization of stee deletion mutant of Salmonella Pullorum.....	9
Kasianenko O.I., Mingcheng Liu. The molecular mechanism of pyroptosis and its related diseases.....	16
Курбацька О. В., Оробченко О. Л. Токсикологічна оцінка кормів із різними рівнями мікроелементів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів <i>Photobacterium phosphoreum</i>	26
Самойлюк В. В., Білий Д. Д., Масліков С. М., Вакулик В. В. Особливості перебігу, діагностики та лікування за уролітіазу у собак.....	38
Сідашова С. О., Роман Л. Г., Улізько С. І., Попова І. М., Ясько В. М. Модель еколого-токсикологічного скринінгу кормової бази демонстраційної пасіки.....	45
Чекан О. М. Акушерсько-гінекологічна диспансеризація корів за мікотоксикозів.....	53
Чечет О. М., Коваленко В. Л., Горбатюк О. І., Гайдей О. С., Кравцова О. Л., Андріяшук В. О., Мусієць І. В., Ординська Д. О. Визначення антагоністичної активності пробіотичного препарату «Біозапін».....	61



Видавничий дім
«Гельветика»
2022

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, PИHC

Матеріали журналу знаходяться у
вільному доступі на сайті
<https://snaubulletin.com.ua/index.php/vm>

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 № 3 від 26.09.2022 р.)

Видавництво і друкарня –
Видавничий дім «Гельветика»
65101, Україна, м. Одеса,
вул. Інглєзі, 6/1
Телефони: +38 (095) 934-48-28,
+38 (097) 723-06-08
E-mail: mailbox@helvetica.ua
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи
ДК № 7623 від 22.06.2022 р.

Тираж 100 пр.
Зам. № 0622/242

© Сумський національний
аграрний університет, 2022

БОРОТЬБА З ФІЛОМЕТРОЇДОЗОМ СТАВОВИХ РИБ

Березовський Андрій Володимирович

доктор ветеринарних наук, професор

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

ORCID: 0000-0002-5825-9504

bav13@meta.ua

Ярмошенко Юрій Григорович

аспірант

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

ORCID: 0000-0003-2108-2431

jarmowenko123@gmail.com

Інтенсифікація рибництва пов'язана з боротьбою та профілактикою хвороб ставової риби заразної та незаразної етіології. Особливе місце в етіології хвороб ставових риб займають хвороби паразитарної етіології, що спричиняють великі матеріальні збитки для господарств. Гельмінти впливають на популяцію риб, спричинюючи їх затримку у рості та розвитку, порушення відтворення, зниження вгодованості та товарних якостей, а також при великій інтенсивності інвазії викликають загибель. Неостанню чергу в забезпеченні розвитку рибництва займає і діяльність служби ветеринарної медицини, в завдання якої входить забезпечення якісною та безпечною продукцією аквакультури споживачів. У роботі викладені результати проведеного аналізу біологічного циклу розвитку збудника філометроїдозу ставових риб *Philometra luisiana*. Наведена інформація з наукових джерел щодо розповсюдження захворювання, клінічних ознак, патолого-анатомічних змін, розроблених засобів лікування та профілактики. В рибницькому господарстві Чернігівської області при проведенні планового вилову коропа для його реалізації в торгівельній мережі, на зовнішніх покриттях коропа були виявлені личинки нематод які мали вишнево-червоний колір, довжиною від 70 до 90 мм, що були віднесені до виду *Philometroides lusiana*. В подальшому були розраховані екстенсивність та інтенсивність інвазії. Екстенсивність інвазії по середній пробі коропа склала 72,72 %, а середня інтенсивність інвазії склала 2,45.

Виходячи з встановлення діагнозу на філометроїдоз в господарстві було проведено лікування риби від філометроїдозу з використанням препарату Риболік. Лікувальна добова доза лікувально-кормової суміші для водойми становила 1,5% від розрахункової маси риби. Терапевтичну дозу поділяли на 5-порцій, які вносили у місця годування з інтервалом 1-2 години, згідно інструкції до препарату.

Запропоновані ветеринарні та організаційно-господарські заходи боротьби в рибницькому господарстві: у неблагополучних джерелах встановили грати, що обмежують захід хворої риби, і облаштували піщано-гравійні фільтри для фільтрації води, які затримують проникнення інвазованих проміжних хазяїнів –циклопів. В результаті проведеного лікування отримані дані, що свідчать про його ефективність, а саме зниження середнього показника екстенсивності інвазії з 72,72 % до 9,09 % та зниження середнього показника інтенсивності інвазії з 2,45 до 0,09. Даний препарат показав високу ефективність в виробничих умовах та може бути рекомендований як ефективний засіб при лікуванні риби від філометроїдозу.

Ключові слова: ставова риба, інвазійні хвороби, філометроїдоз, лікування, Риболік, профілактика.

DOI <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.2.1>

Вступ.

Аквакультура є найбільш швидкозростаючим сектором виробництва харчових продуктів у світі, із середньорічним темпом зростання 5,3 % протягом 2001–2018 рр. Світове виробництво аквакультури досягло 82,1 мільйона тон у 2018 році, з яких внутрішня аквакультура виробила 51,3 мільйона тон (62 %), тоді як прибережна та морська аквакультура дала 30,8 мільйона тон (38 %) (FAO, 2022). Через сприятливі екологічні та кліматичні умови аквакультура інтенсивно розвивається в різних регіонах, але вона також масово розповсюджена в регіонах з помірним кліматом, в тому числі і в Україні (Кернасюк Ю. В., 2021).

На сьогоднішній день в світі існують фактори що перешкоджають постачанню риби та продукції аквакультури від виробників до споживачів. Спалах COVID-19 мав

великий вплив на ланцюги поставок морепродуктів та аквакультури. Заходи захисту від поширення COVID-19 безпосередньо вплинули на кожен етап вилову, маркетингу та експорту риби, що може підірвати економічну життєздатність даного сектору економіки. У всьому світі сектор аквакультури опинився під загрозою через COVID-19, що призвело до різних наслідків, включаючи ринки морепродуктів. Криза COVID-19 має ряд несприятливих наслідків для ринкових ланцюжків продукції аквакультури. Зрештою, блокування через пандемію з перебоями в транспорті на внутрішньому та міжнародному транспорті та обмеженнями на подорожі призвели до скорочення можливостей маркетингу продукції аквакультури (Plagányi É. et al., 2020).

Великий негативний вплив на розвиток аквакультури та торгівлю продуктами рибництва має військова агре-

сія та активні бойові дії Російської Федерації на території України. Ведення війни унеможливує проведення заходів щодо господарської діяльності для вирощування та лову риби на тимчасово окупованих територіях та в зонах бойових дій. Вибухи, потрапляння хімікатів, паливно-мастильних матеріалів та інших отруйних речовин у воду погіршує екологічну ситуацію, приносить матеріальні збитки, і також негативно впливає на нерест риби, про що заявляє Українська природоохоронна група (4). Продукція аквакультури є однією зі складових національної безпеки та слугує для підвищення обороноздатності нашої країни. Тому актуальним постає питання розвитку внутрішньої аквакультури (Шарило Ю.Є. та ін. 2016).

Вирощування ставової риби є одним з давніх занять українців і має історичні корені. Продукція рибицтва завжди користується серед споживачів стабільним попитом, та представляє цінне джерело білків, жирів, вітамінів, макро та мікроелементів (Яценко І.В. та ін., 2017).

В рибицьких господарствах, де здійснюють інтенсивне розведення та вирощування коропів, реєструють захворювання філометроїдоз (Стибель В.В. та ін., 2016). Філометроїдоз – це гельмінтозна хвороба коропів, сазанів та їх гібридів, що викликається нематодою *Philometroides lusiana* родини *Philimetroidae* (Vismanis, 1966). За даними ряду дослідників філометроїдоз коропів зареєстрований в ставкових господарствах України (Петров Р.В., 2011.; Петров Р.В., 2014; Катюха С.М. та ін., 2016), а також в рибицьких господарствах суміжних країн Білорусі (Волкова А.М. та ін., 2019), Російської Федерації (Борисова М.Н. та ін, 2009).

Дослідження перебігу філометроїдозу у коропів проводилося дослідниками по різним направленням. Питаннями вивчення гематологічних показників, а також Т- і В- клітинного імунітету коропа за філометроїдозу займалися вчені з Подільського державного аграрно-технічного університету (Косташ В. та ін., 2020). Вони в своїй роботі визначили, що перебіг філометроїдозу викликає вірогідне зниження кількості Т-активних лімфоцитів у крові риб на 15,76 %, а також Т-загальних лімфоцитів на 12,84 %; Т-хелперів на 17,70 %, Т-супресорів на 35,31 % порівняно з неураженою рибкою. Показники В-лімфоцитів при філометроїдозі у ураженій рибі достовірно знижувалися в середньому на 10,55 %.

Особливостям ветеринарно-санітарної оцінки при філометроїдозі коропів присвячена робота дослідника з Сумського національного аграрного університету, в якій він зазначає, що інвазування коропів збудником *Philometroides lusiana* супроводжується контамінацією тканин риби збудниками токсикоінфекцій *E. coli* та *Proteus vulgaris*, що створює додаткові потенційні небезпеки для споживачів ураженої риби (Петров Р.В., 2014).

Статевозрілі гельмінти *Philometroides lusiana* локалізуються в м'язовій тканині риби, а личинки локалізуються у внутрішніх органах: печінці, нирках, плавальному міхурі, гонадах. За будовою збудник відноситься до нематод, круглих червів, має рожево-червоний колір, передній край збудника має конусоподібну форму, на якому є чотири невеликих горбика, між ними наяв-

ний ротовий отвір. За ротовим отвором розташований стравохід і кишечник. Кутикула збудника має сосочки білого кольору. Хвостовий кінець має чотири невеликих сосочки. Самки *Philometroides lusiana* мають довжину 8-12,5 см, ширину 0,8-1 мм, самці мають довжину 2,9-4,5 мм та ширину 0,035-0,046 мм. Самці мають дві спікули однакового розміру, а самка має матку мішкоподібної форми, що заповнена круглими, дрібними (0,032-0,042 мм) яйцями. Самка паразита відноситься до живородящих. Личинки паразита мають подовжену, шилоподібну форму розміром 0,4-0,5 мм

За циклом розвитку збудники філометроїдозу відносяться до біогельмінтів. Дефінітивним господарем виступають коропа, сазани, карасі, проміжними господарями виступають циклопи *Cyclops strenuus*. Цикл розвитку розпочинається весною при досягненні температури води понад 16-18 °С, статевозрілі самки виставляють у воду задню частину свого тіла і під дією різниці осмотичного тиску тіло самки лопається, в результаті чого виділяються у воду до 250 тис. личинок. Сама самка при цьому гине. Личинки паразита зберігають свою життєздатність до 10 діб, вони прикріплюються до водоростей, рослинності та інших предметів. В подальшому личинки паразита заковтують циклопи *Cyclops strenuus*, в організмі яких відбувається їх подальший розвиток, де двічі відбувається линька і через 7-8 діб вони стають інвазійними. Риба (коропа, карасі) заражається при поїданні інвазованих циклопів. З кишечника риби личинки проникають в порожнину тіла, мігрують у внутрішні органи (печінка, нирки, гонади), де линяють в третій раз. Потім вони потрапляють в плавальний міхур, линяють четвертий раз і через 35–40 діб досягають статевої зрілості. Після запліднення самці гинуть, а самки мігрують в м'язи. Тривалість життя самців 13-14 міс. самок – 14-16 міс. У лускових кишеньках паразити перебувають в період з кінця серпня до травня наступного року. За цей час паразити досягають статевозрілої стадії (Стибель В.В. та ін., 2016).

Філометроїдоз реєструють при вирощуванні риби в ставкових господарствах, також випадки цього захворювання відмічають в природних водоймищах. Зараження мальків починається з 7-8-добового віку. Найбільш часто заражаються мальки у віці 2-3-тижні, а у двох- і трирічних особин зараженість може досягати 40-50 гельмінтів на екземпляр риби. Клінічні ознаки хвороби проявляються починаючи з травня місяця до кінця літа.

Личинки *Philometroides lusiana* при міграції пошкоджують кровеносні судини, тканини нирок, печінки, плавального міхура. Іноді вони спричиняють розрив плавального міхура у мальків, який призводить до порушення координації рухів і їх загибелі.

Набута резистентність при філометроїдозі виражена слабо. При філометроїдозі у риби наявний віковий імунітет.

Прояв симптомів хвороби залежить від віку. Гострий перебіг хвороби спостерігається у мальків 2-3-тижневого віку, що супроводжується відставанням в рості і розвитку, малорухливості. Уражена риба тримається біля поверхні води, у неї порушується рухова активність. Наявність

більше 10 – 15 личинок на одного малька в порожнині тіла призводить до його загибелі.

Хронічний перебіг відмічається у двох та трьохрічок. Захворювання супроводжується виснаженням, анемією зябер, припухлістю лускових кишеньок, на тілі риби з'являються горбики і почервонілі ділянки. Завдяки цьому, у риби знижується товарна цінність і її направляють на вибракування. Хворі на філометроїдоз коропа відстають у рості від неуражених у середньому на 30 % ваги (Яценко І.В. та ін., 2017).

При філометроїдозі відмічають характерні патолого-анатомічні зміни: в порожнині тіла наявний кров'янистий ексудат, печінка має блідий, глинистого кольору; нирки збільшені за розміром, кровонаповнені; збільшений жовчний міхур, а також потовщені стінки плавального міхура. Личинки при міграції, спричиняють механічні пошкодження зовнішніх покривів, внутрішніх органів та тканин. При цьому відмічається контамінація тканин вторинною мікрофлорою, що може нести потенційну небезпеку для споживачів (Петров Р.В., 2011). Личинки гельмінтів, що мігрують залишають після себе ходи в нирках, кишечнику та селезінці.

Діагноз на філометроїдоз встановлюють комплексно. При цьому враховують дані епізоотологічного обстеження, клінічні ознаки та результати паразитологічних досліджень. Для підтвердження діагнозу важливим є виявлення личинок збудника в плавальному міхурі та паренхіматозних органах. У дорослих риб личинки виявляють під лусочками в ділянці голови, та в інших ділянках тіла, личинки також можуть локалізуватися під шкірою або в м'язах та в стінках плавального міхура, для цього внутрішні органи риби досліджують компресорним методом.

Для профілактики та боротьби з філометроїдозом використовують комплекс лікувальних і профілактичних заходів: він складається з роздільного вирощування риби різних вікових груп, при цьому потрібно не допускати контакту хворих та здорових риб; здійснюють контроль за джерелами води в ставках, так як в них можуть бути інвазовані циклопи, що сприятиме розповсюдженню інвазії; отримання молоді риби заводським методом, або отриманих з благополучних водойм, що виключає контакт з хворою рибою; осушування ставків після вилуплення риби, не спускні ділянки обробляють негашеним або хлорним вапном (15). Альтернативним методом знезараження дна ставів після їх спуску без застосування хімічних речовин присвячена праця колективу науковців з Сумського національного аграрного університету (Nazarenko S.M. et al., 2020).

Заборонено відпускати назад у водойму риб, які вилуплені восени і які не досягли відповідних кондицій, такі риби швидше за все є носіями паразитів і сприяють подальшому зараженню всієї риби.

Для боротьби з філометроїдозом запропоновано і використовується ряд лікувальних заходів спрямованих в більшості випадків на знищення статевозрілих особин збудників філометроїдозу або впливаючи на цикл розвитку паразита перериваючи його, для цього використовується знищення проміжних господарів – циклопів.

У рибництві також використовують біологічні методи, та фармакологічні засоби для оздоровлення неблагополучних ставків.

Для боротьби з паразитами згідно з «Інструкцією по боротьбі з філометроїдозом риб в ставкових господарствах» (15) рекомендовано використовувати засіб хлорофос, який повинен вноситися в воду триразово з інтервалом в 10 діб при концентрації його вставку 0,325 г/м³, забезпечуючи відсутність проточності води на період обробки. Так як період масового вилуплення личинок зазвичай співпадає з нерестом, тому плідників обробляють до нересту. Дія хлорофосної сполуки направлена на знищення циклопів. Застосування цих сполук несе велику небезпеку для довкілля та екологічної безпеки (Wu C. et al., 2014).

Для лікування використовують препарати з групи імідотіазолів (тетрамідол, левамідол). Застосовують їх влітку, додаючи до комбікорму перед грануляцією 2,5-3 г/кг, і згодують протягом трьох днів поспіль. Застосовують також спеціальні ванни з левамідолом (1 мг/л води), в яких витримують рибу протягом 1 дня. Згубно діє на паразитів трихлорфон (0,5 мг/кг корму). Його згодують кожен день протягом 10 днів (Стибель В.В. та ін., 2016).

2. Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводились на базі кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету та в рибницькому господарстві Чернігівської області.

Діагноз в ставкової риби філометроїдоз встановлювали комплексно на підставі епізоотологічних, клінічних, патолого-анатомічних даних та результатів лабораторних досліджень в 2021-2022 році. Для проведення паразитологічного дослідження риби використовували метод повного паразитологічного розтину, даний метод надає можливість здійснити кількісний та якісний облік усіх паразитів, котрими уражена досліджувана риба (Микитюк П.В. та ін., 2009).

В своєму досліді використали препарат вітчизняного виробництва Риболік, який в своєму складі в 1 г містить: празіквантелу – 35 мг; фенбендазолу – 70 мг; левамідолу – 20 мг. Риболік відноситься до групи протипаразитарних препаратів широкого спектру дії. Кожний компонент препарату має окрему дію: празіквантел є похідною сполукою хіноліну, що забезпечує підвищення проникності клітинних мембран для іонів кальцію у паразитів при цестодах та трематодозах, що в свою чергу сприяє генералізованому скороченню м'язів, паралічу гельмінтів та їх загибелі; фенбендазол пригнічує ферментну систему паразитів, чим сприяє порушенню енергетичного обміну та загибелі гельмінтів; левамідол пригнічує ацетилхолінестеразу, що впливає на нервово-м'язову систему гельмінтів, що спонукає до скорочення м'язів гельмінтів і викликає параліч, також даний компонент препарату володіє імуностимулюючими властивостями (Березовський А.В. та ін., 2005, Березовський А.В. та ін., 2013).

3. Результати власних досліджень.

Влітку 2021 року в рибницькому господарстві Чернігівської області був проведений плановий вилов коропа

для його реалізації в торгівельній мережі. Після цього був проведений відбір проб для дослідження якості та безпечності риби. При дослідженні, на зовнішніх покриттях коропа були виявлені личинки нематод які мали вишнево-червоний колір, довжиною від 70 до 90 мм. Нашими дослідженнями встановлена їхня приналежність – *Philometroides lusiana*. В подальшому були розраховані екстенсивність та інтенсивність інвазії (табл. 1).

Екстенсивність інвазії по середній пробі склала 72,72 %, а середня інтенсивність інвазії склала 2,45. Виходячи з встановлення діагнозу в господарстві на філометроїдоз було проведено лікування риби від філометроїдозу за допомогою препарату Риболік. Для цього готували лікувально-кормову суміш, де до 1 кг препарату Риболік додавали 99 кг комбікорму та ретельно перемішували. Лікувальна добова доза лікувально-кормової суміші для водойми становила 1,5% від розрахункової маси риби. Терапевтичну дозу поділяли на 5-порцій, які вносили у місця годування з інтервалом 1-2 години. Крім лікувальних заходів в господарстві для боротьби з філометроїдозом провели наступні господарсько-організаційні заходи: у неблагополучних джерелах встановили ґрати, що обмежують захід хворої риби, і облаштували піщано-гравійні фільтри для фільтрації води, які затримують проникнення інвазованих проміжних хазяїнів –циклопів.

В подальшому на наступний рік після вилову риби господарству рекомендовано спустити воду, провести дезінфекцію негашеним вапном ділянок, де це неможливо зробити.

При виліві товарної риби на наступний рік, був проведений відбір проб і отримані наступні результати, що представлені в таблиці 2.

В результаті проведеного лікування отримані дані, що свідчать про його ефективність, а саме зниження середнього показника екстенсивності інвазії з 72,72 % до 9,09 % та зниження середнього показника інтенсивності інвазії з 2,45 до 0,09.

Препарат Риболік показав високу ефективність в виробничих умовах та може бути рекомендований як ефективний засіб при лікуванні риби від філометроїдозу.

4. Обговорення. Боротьба з хворобами паразитарної етіології досі залишається актуальною проблемою сучасного рибництва. В рибницьких господарствах доволі часто з недостатньо комплексно проводять оздоровчі заходів, з тривалим використанням препаратів, які мають низьку лікувальну ефективність, що призводить до появи резистентності в збудників хвороб риб. Тому існує необхідність періодичного поновлення їх асортименту за рахунок нових хіміотерапевтичних засобів (Олійник О.Б., 2016).

Таблиця 1

Екстенсивність та інтенсивність інвазії *Philometroides lusiana* в зразках коропа в 2021 р.

№ зразку	Вага риби, кг	Кількість виявлених личинок	Екстенсивність інвазії	Інтенсивність інвазії
1	0,720	5	72,72 %	2,45
2	0,630	3		
3	0,740	4		
4	0,580	-		
5	0,710	-		
6	0,630	2		
7	0,680	3		
8	0,690	-		
9	0,735	5		
10	0,580	6		
11	0,705	1		

Таблиця 2

Екстенсивність та інтенсивність інвазії *Philometroides lusiana* в зразках коропа в 2022 р. після проведеного лікування

№ зразку	Вага риби, кг	Кількість виявлених личинок	Екстенсивність інвазії	Інтенсивність інвазії
1	1,050	-	9,09 %	0,09
2	1,035	-		
3	1,150	-		
4	0,980	1		
5	1,200	-		
6	1,100	-		
7	0,930	-		
8	0,950	-		
9	0,990	-		
10	1,040	-		
11	1,030	-		

В результаті досліджень встановлена висока ефективність препарату Риболік при боротьбі з філометроїдозом що забезпечили зниження середнього показника екстенсивності інвазії з 72,72 % до 9,09 % та зниження середнього показника інтенсивності інвазії з 2,45 до 0,09. Про ефективне використання препарату Риболік при інвазійних захворюваннях ставової риби зазначають дослідники (Катюха С.М. та ін., 2019), що експериментально довели високу терапевтичну ефективність лікарсько-кормової суміші із даним препаратом щодо моно- та змішаних гельмінтозів коропа, спричинених збудниками ботріоцефальозу, кавіозу, каріофільозу до 100 % та філометроїдозу – 96,5 %. Крім того, останнім часом з'являються наукові повідомлення про його високу ефективність щодо збудників диплостомозу яка досягає 100 % (Козятинський Є.В., 2010; Катюха С.М. та ін., 2017).

5. Висновки.

1. В результаті досліджень при вилові коропів в рибогосподарстві Чернігівської області виявлена риба з наявністю личинок нематод вишнево-червоний колір, довжиною від 70 до 90 мм. уражена філометроїдозом. Встановлена їхня приналежність – *Phylometroides lusiana*. Середня екстенсивність інвазії по склала 72,72 %, а середня інтенсивність інвазії 2,45.

2. Застосування препарату «Риболік» та проведення профілактичних заходів сприяли зниженню середнього показника екстенсивності інвазії з 72,72 % до 9,09 % та зниженню середнього показника інтенсивності інвазії з 2,45 до 0,09.

В перспективі планується розробити новий комплексний препарат для боротьби з ектопаразитами ставової риби.

Бібліографічні посилання:

1. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA) 2022 [Electronic resource]. Mode of access: <https://www.fao.org/publications/sofia/2022/en/> (in English)
2. Kernasiuk Yu. V. Stan rozvytku rybnystva y akvakultury [The state of development of fish farming and aquaculture] [Electronic resource]. Mode of access: <http://agro-business.com.ua/agro/ekonomichni-hektar/item/20708-stan-rozvytku-rybnystva-i-akvakultury.html> (in Ukrainian)
3. Plagányi É, Deng RA, Tonks M, Murphy N, Pascoe S, Edgar S, et al. (2021). Indirect impacts of COVID-19 on a tropical lobster fishery's harvest strategy and supply chain. *Frontiers in Marine Science*. 8:686065. doi: 10.3389/fmars.2021.686065. (in English)
4. Ukrainska pryrodookhoronna hrupa. Viina v Ukraini pokhytne rybolovnyi promysel krainy (2022). [Ukrainian nature protection group. The war in Ukraine will shake the country's fishing industry] [Electronic resource]. Mode of access: <https://uncg.org.ua/vijna-v-ukraini-pokhytne-rybolovnyi-promysel-krainy/> (in Ukrainian)
5. Sharylo Yu.E., Vdovenko N.M., Gerasymchuk V.V. Akvakultura v Ukraini: realii, nadii ta spodivannia (2021). [Aquaculture in Ukraine: realities, hopes and expectations] [Electronic resource]. Mode of access: https://darg.gov.ua/_stattja_akvakuljtura_v_0_0_0_3252_1.html (in Ukrainian)
6. Yatsenko, I.V., Bohatko, N.M., Bulhakova, N.V., Fotina, T.I., Biben, I.A., Binkevych, V.Ia., Trush, A.M., Petrov, R.V. (2017). Hihiiena i ekspertyza kharchovykh hidrobiontiv ta produktiv yikh pererobky. Chastyna 1. Hihiiena i ekspertyza rybopromyslovoi produktsii: [Hygiene and examination of food hydrobionts and their processing products. Part 1. Hygiene and examination of fishery products]. *Pidruchnyk. Kharkiv: «Dysa Plus» 680 s.* (in Ukrainian)
7. Stybel, V. V., Berezovskyi, A. V., Dovhii, Yu. Yu. (2016). Invaziini khvoroby ryb. [Invasive fish diseases.] *Navchalnyi posibnyk. Zhytomyr: Polissia. 142 s.* (in Ukrainian)
8. Petrov, R. V. (2011) Sanitarna otsinka ryby pry filometroidozy [Sanitary assessment of fish with phylometroidosis] *Visnyk Sumskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu. Ser. «Veterynarna medytsyna». Vyp. 2 (29). S. 143–146.* (in Ukrainian)
9. Petrov, R. V. (2014) Kachestvo i bezopasnost presnovodnoy rybyi, porazhYonnoy filometroidozom [Quality and safety of freshwater fish affected by phylometroidosis]. *Uchyonyie zapiski UO «Vitebskaya ordena «Znak Pochyota» gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsyny» : nauchno-prakticheskiy zhurnal. Vitebsk. T. 50, vyip. 2, ch. 1. S. 106–109.* (in Russian)
10. Katiukha, S. M., Vozniuk, I. O. (2016) Poshyrennia invaziynykh khvorob ryb u vodoimakh Rivnenskoï oblasti. [Spread of invasive fish diseases in reservoirs of the Rivne region] *Veterynarna biotekhnolohiia. Vyp. 28. S. 94-101.* (in Ukrainian)
11. Volkova, A.M., Bespalova, N.S. (2019) Rasprostranenie, klinicheskoe proyavlenie i lechenie filometroidoza. [Distribution, clinical presentation and treatment of phylometroidosis] *Nauchnoe obozrenie. Pedagogicheskie nauki. # 2-4. S. C. 11-13.* Mode of access: <https://science-pedagogy.ru/ru/article/view?id=2023>. (in Russian)
12. Borisova, M.N. Skachkov, D.N. (2009) Filometroidoz karpov: epizootologiya, diagnostika, metody lecheniya i profilaktiki [Phylometroidosis of carps: epizootology, diagnosis, methods of treatment and prevention]. *Ryibnoe hozyaystvo. #1. S. 89- 91.* (in Russian)
13. Kostash, V., Kostash, V., Prylipko T., & Koval, T. (2020). Hematolohichni pokaznyky t- i v- klytynnoho imunitetu koropa za filometroidozu [Hematological indicators of T- and B-cell immunity of carp for phylometroidosis.]. *Podilskyi visnyk: silske hospodarstvo, tekhnika, ekonomika, 1(33), 172–178.* Mode of access: <http://pb.pdatu.edu.ua/article/view/239617> DOI: <https://doi.org/10.37406/2706-9052-2020-2-19> (in Ukrainian)
14. Petrov, R. V. (2014) Veterynarno-sanitarna otsinka koropiv pry filometroidozy [Veterinary-sanitary evaluation of carp with phylometroidosis]. *Vseukrainska naukovo-praktychna internet-konferentsiia na bazi fakultetu veterynarnoi medytsyny Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii «Problemy veterynarnoi parazytolohii ta yakist i bezpeka produktiv tvarynnystva» (m. Poltava, 18–19 liutoho 2014 r.): tezy dopovidei. Poltava, 2014. S. 125–128.* (in Ukrainian)
15. Instruktisiia po borotbi z filometroidozom ryb v stavkovykh hospodarstvakh [Instructions for combating phylometroidosis of fish in pond farms] [Electronic resource]. Mode of access: <https://jak.bono.odessa.ua/articles/instrukcija-po-borotbi-z-filometroidozom-rib-v.php> (in Ukrainian)

16. Nazarenko, S.M., Paliy, A.P., Berezovskiy, A.V., Fotin, A.I., Fotin, O.V., Petrov, R.V., Kasianenko, O.I., Lazorenko, L.N., Negreba, J.V., Paliy, A.P., Rebenko, H.I. (2020). Improving the sanitary condition of pond bed by forage grass cultivation. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(2), 368-374. DOI: 10.15421/2020_111 (in English)
17. Wu, C., Luo, Y., Gui, T., Huang, Y. (2014). Concentrations and potential health hazards of organochlorine pesticides in shallow groundwater of Taihu Lake region, China. *Sci. Total Environ.*; 470–471:1047–1055. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.10.056. (in English)
18. Mykytiuk, P. V., Dzhmil, V. I., Bukalova, N.V. (2009) *Praktykum z biolohii, patolohii ta vetsanekspertyzy prysnovodnoi rybyiu* [Workshop on biology, pathology and veterinary expertise of freshwater fish]. Bila Tserkva. 160 s. (in Ukrainian)
19. Berezovskiy, A.V., Zbozhynska, O.V., Volovyk, H.P. *Nastanova po zastosuvanniu preparatu Rybolik vyrobnika TzOV NVF «Brovafarma»* [Instructions for the use of the drug Rybolik of the manufacturer “Brovafarma” Ltd.]. *Zatverdzheno Holovnym derzhavnym inspektorom veterynarnoi medytsyny Ukrainy № 15–14/6 vid 06.09. 2005 r. – 2 s.* (in Ukrainian)
20. Berezovskiy, A.V., Petrov, R.V., Loboiko, Yu.V., Zbozhynska, O.V. (2013). *Osnovy vyhotovlennia ta zastosuvannia likarsko-kormovykh sumishei (LKS) dlia ozdorovlennia prysnovodnykh ryb vid khvorob bakterialnoi ta invaziinoi etiologii* [Basics of production and use of medicated feed mixtures (MCF) for the recovery of freshwater fish from diseases of bacterial and invasive etiology]: *Metodychni rekomendatsii*. Kyiv, 2013. 36 s. (in Ukrainian)
21. Oliinyk, O.B. (2016) *Analiz likuvalno-profilaktychnykh zasobiv, yaki vykorystovuiutsia pry invaziynykh khvorobakh ryb* [Analysis of therapeutic and preventive means used for invasive fish diseases]. *Materialy naukovo-praktychnoho seminaru, provedenoho 9 chervnia 2016 roku pid chas vystavky «FishExpo-2016»*: «Naukovo-tekhnichne zabezpechennia udoskonalennia shliakhiv ta metodiv vedennia rybnoho hospodarstva v suchasnykh umovakh». K.: Derzhavne ahentstvo rybnoho hospodarstva Ukrainy. S. 42–47. (in Ukrainian)
22. Katiukha, S.M., Vozniuk, I.O., Orel, A.M. (2019) *Suchasni protyparazytarni zasoby dlia stavovoho rybnystva (ohliadova stattia)* [Modern antiparasitic agents for pond fish farming (review article)]. *Veterynarna biotekhnolohiia*. № 34. S. 66-75. (in Ukrainian)
23. Koziatynskiy, Ye.V. (2010). *Efektivnist Ryboliku pry dyplostomozi koropovykh ryb*. [The effectiveness of Rybolik in diplostomosis of carp fish]. *Naukovi visnyk Natsionalnoho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy*. Kyiv. Vyp. 151: Serii «*Veterynarna medytsyna, yakist i bezpeka produktsii tvarynnystva*», Ch.2. S. 109–112. (in Ukrainian)
24. Katiukha, S.M., Vozniuk, I.O. (2017) *Antyhelmintna efektyvnist preparatu «Rybolik» za trematodoznotsesodoznykh invazii koropa* [Anthelmintic effectiveness of the drug “Rybolik” against trematodous and cestodous infestations of carp.]. *Biuletyn «Veterynarna biotekhnolohiia»*. Vyp. № 29. Kyiv, 2017. S. 95–100. (in Ukrainian)

Berezovskiy A.V., Dr. Vet. Sciences, Professor, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Yarmoshenko Y.G., Postgraduate Student, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Combat with philometroidose of pond fish

*the intensification of fish farming is related to the fight against and prevention of pond fish diseases of infectious and non-infectious etiology. A special place in the etiology of fish diseases is occupied by diseases of parasitic etiology, which cause great material losses for farms. Helminths affect the fish population, causing a delay in their growth and development, reproductive disorders, a decrease in fattening and marketable qualities, and in case of a high intensity of infestation, they cause death. Last but not least in ensuring the development of fish farming is the activity of the veterinary medicine service, whose task is to provide consumers with high-quality and safe aquaculture products. The paper presents the results of the analysis of the biological cycle of the development of the causative agent of philometroidosis in standing fish *Philometra luisiana*. Information from scientific sources on the spread of the disease, clinical signs, pathological-anatomical changes, developed means of treatment and prevention is presented. In the fishery of the Chernihiv region, during the planned catch of carp for its sale in the trade network, nematode larvae were found on the outer covers of the carp, which were cherry-red in color and 70 to 90 mm long. Our research established their affiliation – *Philometroides lusiana*. In the future, the extensiveness and intensity of the invasion were calculated. The extent of invasion in the average sample was 72.72%, and the average intensity of invasion was 2.45.*

Based on the diagnosis of phyllometroidosis in the farm, fish were treated for phyllometroidosis with the drug Rybolik. The therapeutic daily dose of the medicinal and feed mixture for the reservoir was 1.5% of the estimated weight of the fish. The therapeutic dose was divided into 5 portions, which were applied to the feeding places with an interval of 1-2 hours.

Proposed veterinary and organizational and economic measures for combating fish farming: gratings were installed in unhealthy sources that limit the entry of sick fish, and sand and gravel filters were installed for filtering water, which delay the penetration of infested intermediate hosts – cyclops. As a result of the treatment, data indicating its effectiveness were obtained, namely a decrease in the average indicator of the extensiveness of invasion from 72.72% to 9.09% and a decrease in the average indicator of intensity of invasion from 2.45 to 0.09. This drug has shown high efficiency in production conditions and can be recommended as an effective tool in the treatment of fish from phyllometroidosis.

Key words: pond fish, invasive diseases, phyllometroidosis, treatment, fish medicine, prevention.

CONSTRUCTION AND CHARACTERIZATION OF STEE DELETION MUTANT OF SALMONELLA PULLORUM

Zhike Liu

Postgraduate
 Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine
 ORCID: 0000-0003-2892-4005
 zkeliu@163.com

Fotina Tatiana Ivanivna

Doctor Of Veterinary Sciences, Professor
 Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine
 ORCID: 0000-0001-5079-2390
 tif_ua@meta.ua

Petrov Roman Viktorovich

Doctor Of Veterinary Sciences, Professor
 Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine
 ORCID: 0000-0001-6252-7965
 romanpetrov1978@gmail.com

Fotin Anatoly Ivanovich

Candidate Of Veterinary Sciences, Associate Professor
 Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine
 ORCID: 0000-0001-5703-6467
 fotin53@ukr.net

Jinyou Ma

Doctor Of Veterinary Sciences, Professor
 Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, China
 ORCID: 0000-0002-8132-0377
 marsjy@163.com

Salmonella Pullorum (S. Pullorum) is one of the host-restricted serotypes causing systemic infection in poultry. After S. Pullorum infection, chicks and turkeys usually have acute systemic infection. The main clinical symptoms are white dysentery and dyspnea, and the mortality can be as high as 100%. In adult chickens, local and chronic infections are the most common without obvious clinical symptoms, and can be transmitted vertically to offspring through ovary. Although the use of antibiotics reduces the death of sick chickens, it can not completely eliminate the pathogenic microorganisms in hosts, and is prone to public health problems such as drug resistance and drug residues. No study has ever reported the role of steE in HD-11 cells infected by S. Pullorum. The growth and biochemical characteristics of S. Pullorum Δ steE were similar to that of S. Pullorum. Furthermore, we also observed the effects of steE on cell proliferation and apoptosis in S. Pullorum-infected HD-11 cells. In order to define the pathogenicity of steE gene of S. Pullorum, the steE deletion strain of S. Pullorum and its complemented strain were successfully constructed, and then its characterization were analyzed. S. Pullorum was preserved by the microbiology laboratory of the college of animal science and veterinary medicine, Henan Institute of Science and Technology. The pKD4, pKD46 and pCP20 or pBR322 plasmids were used for the λ -Red recombination system or complementary strain. The biological characteristics of S. Pullorum Δ steE were consistent with those of its parent strain S. Pullorum and complementary strain S. Pullorum Δ steE (pBR322-steE). Construction and confirmation of the Δ steE strain. To identify the roles of steE in S. Pullorum, the steE deletion mutant of S. Pullorum was correctly constructed. The virulence test showed S. Pullorum Δ steE decreased the proliferation and apoptosis of HD-11 cells compared to that of S. Pullorum and S. Pullorum Δ steE (pBR322-steE). Taken together, our data demonstrate that the deletion of steE in S. Pullorum had no effect the growth and biochemical characteristics, but its proliferation ability decreased significantly in HD-11 cells, which decreased cell apoptosis, indicating that steE was closely related to virulence of S. Pullorum. Altogether, our research suggest that the steE gene was required for S. Pullorum virulence, which laid a foundation for further related research in S. Pullorum vaccine strains.

Key words: *Salmonella Pullorum, steE, biological characteristics, HD-11 cells, apoptosis, virulence.*

DOI <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.2.2>

Introduction. Chicken pullorum disease is an important bacterial infectious disease caused by *Salmonella enterica* serovar Pullorum (*S. Pullorum*) (Ding et al., 2021). It is an

important cause of disease commonly existing in modern intensive chicken farms. After *S. Pullorum* infection, chicks and turkeys usually have acute systemic infection. The main

clinical symptoms are white dysentery and dyspnea, and the mortality can be as high as 100%. In adult chickens, local and chronic infections are the most common without obvious clinical symptoms, and can be transmitted vertically to offspring through ovary (Fei et al., 2020; Matos et al.). Therefore, the prevalence of *S. Pullorum* has brought serious economic losses to the poultry industry.

At present, there are few reports on the pathogenic mechanism of *S. Pullorum*. The current effective measures to prevent and control *S. Pullorum* are biosafety control and purification measures, mainly to eliminate the diseased chickens, continuously monitor the healthy chickens and cut off the route of transmission (Ter et al., 2022; Islam et al., 2020). However, the full implementation of these measures is difficult and costly in many developing countries (Vaid et al., 2021). Although the use of antibiotics reduces the death of sick chickens, it can not completely eliminate the pathogenic microorganisms in hosts, and is prone to public health problems such as drug resistance and drug residues. Therefore, it is very necessary to explore prevention and control measures including new vaccines. As a new virulence phenotype, *steE* is encoded by Gifsy-1 through the regulation of type III secretion system 1 and 2 (T3SS1 and T3SS2) (Brodsky et al., 2020). *steE* plays an important role in the evolution of *Salmonella* host specificity. In a mouse infection model, *steE* increased the virulence of *Salmonella* and the expression of anti-inflammatory cytokines (Johnson et al., 2018). However, the role of *steE* in *Salmonella* pathogenesis needs to be further studied.

So far, most studies on *steE* have mainly relied on *S. Typhimurium* infection models, whereas little work has been performed in chicken infection models (Panagi et al., 2020). No study has ever reported the role of *steE* in HD-11 cells infected by *S. Pullorum*. In this study, we successfully constructed the *steE* deletion strain of *S. Pullorum* by λ -Red recombination system. The growth and biochemical characteristics of *S. Pullorum* Δ *steE* were similar to that of *S. Pullorum*. Furthermore, we also observed the effects of *steE* on cell proliferation and apoptosis in *S. Pullorum*-infected HD-11 cells.

Materials and methods. *Strains and plasmids.* *S. Pullorum* was preserved by the microbiology laboratory of the college of animal science and veterinary medicine, Henan Institute of Science and Technology. The pKD4, pKD46 and pCP20 or pBR322 plasmids were used for the λ -Red recombination system or complementary strain. *S. Pullorum* was cultured in Luria-Bertani (LB) broth. The LB broth was supplemented with ampicillin (Amp; 100

μ g/mL) or kanamycin (Kan; 50 μ g/mL) as required. The pBBR1MCS2-Tac-mCherry plasmid carrying the mCherry gene was transformed into the wild type (WT) or *S. Pullorum* Δ *steE* (Δ *steE*) strain to provide the red fluorescence in *S. Pullorum*, respectively.

Cells culture and primers. HD-11 cells were cultured in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Solarbio, Beijing, China) supplemented with 10% fetal bovine serum, 100 μ g/mL penicillin, and 100 μ g/mL streptomycin. The sequence of the kanamycin resistance cassette (KanR) was amplified from pKD4 plasmid, including 46-bp homology extensions at the 5' and 3' ends of the *steE* gene. According to the published sequence of *S. Pullorum* (GenBank: LK931482.1), the primers were designed to amplify the gene from the *S. Pullorum* using PCR method (Table 1). The above primers were synthesized in the study by Sangon Biotech Co., Ltd (Shanghai, China).

Small letter: KanR cassette amplification; *A 1089/683/2169 bp fragment was obtained by PCR method from WT, Δ *steE* and Δ *steE*::kan strains, respectively; 1Underlined nucleotides denote the XhoI restriction site; 2Underlined nucleotides denote the BamH I restriction site.

Generation of the *steE*-deficient *S. Pullorum* and its complementation. The *steE* deletion mutant of *S. Pullorum* was constructed by λ -Red recombination system as previously described (Ho et al., 2021). Briefly, the kanamycin resistance cassette (KanR) was amplified from pKD4 plasmid using the primers P1/P2. The PCR products were purified and transferred into *S. Pullorum* containing pKD46 plasmid by electroporation. The *steE* gene was replaced to construct the *S. Pullorum* Δ *steE*::kan strain, and then the Δ *steE* strain was obtained through FLP recombinase expressed by pCP20 plasmid. The Δ *steE* strain was confirmed by PCR method using the primers CX1/CX2 or N1/N2. The *steE* gene fragment was amplified by PCR method using primers *steE*-F/*steE*-R, and then cloned into pBR322 plasmid to construct the pBR322-*steE* plasmid. The pBR322-*steE* recombinant plasmid was then transformed into the Δ *steE* strain to construct the *S. Pullorum* Δ *steE* (pBR322-*steE*). The Δ *steE* (pBR322-*steE*) strain was confirmed by PCR method using primers CX1/CX2 or N1/N2.

Identification of growth curve and biochemical characteristics of the Δ *steE* strain. The WT, Δ *steE* and Δ *steE* (pBR322-*steE*) strains were inoculated into LB broth at 37 °C with shaking at 180 r/min for 15 h and subcultured 1:100 into LB broth as previously described (Yin et al., 2016). At a starting time point (0 h), the optical density was measured to achieve an approximate concentration (OD600 = 0.01). The

Table 1

The primers used in this study

Primer	Sequences (5'-3') F /R	Size (bp)
P1	CGGGTGGCGATTTTAACGCCAGTGCGACGTTAGTCGTGGATTACCAgtgtaggctggagctgcttc	1567
P2	AACATTACGCCTCCGATCAAATGCCCGGCAGTTTGAAAATACGGTcatatgaatatcctccttag	
CX1/ CX2	ATTCAGGGAACCACCACCAT/ACGCCAATCGCAAACCACT	1089/683/2169*
N1/N2	ACGGTGAATGCTGGAGGTC/CGTGCCGTTCTGTTGAAGTT	224
<i>steE</i>	CCTCGAG ¹ ATGATGGAGAGATTCATAGTG/CGGGATCC ² AGACCATTGGTAATCCACCTGTAACG	507

OD600 nm value of the bacterial cultures was measured at 2 h interval for 14 h by the Biodrop spectrophotometer (BioDrop, Cambridge, England). Biochemical characteristics of the WT, $\Delta steE$ and $\Delta steE$ (pBR322-*steE*) strains were performed, following the manufacturer's protocol, including glucose, lysine decarboxylase, sucrose, mannose, mannitol, sorbitol, lactose, maltose, malonate, ornithine decarboxylase, urease, arabinose and hydrogen sulfide.

Analysis of HD-11 cells apoptosis. HD-11 cells were seeded on 6-well plates at a density of 1×10^5 cells/well and cultured for 18-20 h and reached 80%-90% confluence as previously described (Wang et al., 2016). Briefly, the overnight cultured of mCherry-WT and mCherry- $\Delta steE$ strains in LB broth with kanamycin (50 mg/mL) were washed with PBS for 3 times to adjust the concentration of bacteria. HD-11 cells were infected with the indicated *S. Pullorum* at a multiplicity of infection (MOI) of 10:1. The cells were incubated for 3 h at 37 °C and then were fixed in 4% paraformaldehyde, and were stained with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) staining. Staining was assessed by laser scanning confocal microscopy.

HD-11 cells infection assay. HD-11 cells were seeded on 6-well plates at a density of 1×10^5 cells/well and cultured for 18-20 h and reached 80%-90% confluence as previously described (Xian et al., 2020). Briefly, the cells were infected with WT, $\Delta steE$ and $\Delta steE$ (pBR322-*steE*) strains at a MOI of 10:1, the plates were then incubated at 37 °C for 1 h. To kill extracellular *Salmonella*, the cells were washed three times with PBS and incubated for 1 h with 100 µg/mL gentamicin of fresh medium, and then incubated with the 10 µg/mL gentamicin of fresh medium for the indicated durations. The bacteria number was counted at 6, 9, 12 and 24 h post infection. Intracellular growth was expressed as the fold-change in the bacterial number at different time points relative to the bacteria number at 2 h post infection.

Statistical analysis. All data were expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM) unless otherwise specified. All statistical analysis was performed using GraphPad Prism 8 software. The significance of the difference was determined between two samples using one-way analysis of variance as * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$.

Results. Construction and confirmation of the $\Delta steE$ strain. To identify the roles of *steE* in *S. Pullorum*, the *steE* deletion mutant of *S. Pullorum* was correctly constructed. A schematic diagram depicting the deletion strategy for $\Delta steE$ strain generation using λ -Red recombination technology is shown in Fig. 1. The upstream and downstream homologous arms of the *steE* gene and Kan gene with fragment size of 1567 bp were obtained from pKD46 plasmid by PCR method using primers P1/P2 (Fig. 2A). The $\Delta steE::kan$ strain has a length of 2169 bp by PCR method using primers CX1/CX2 (Fig. 2B). The $\Delta steE$ strain was verified by PCR using primers CX1/CX2 or N1/N2 to generate a 1089 bp or 224 bp fragment (Fig. 2C). These results indicated that the $\Delta steE$ strain was successfully constructed.

Confirmation of the $\Delta steE$ (pBR322-*steE*) strain

The $\Delta steE$ (pBR322-*steE*) strain was verified by PCR method using primers CX1/CX2 or N1/N2. As shown in Fig. 3, the WT and $\Delta steE$ strains has a length of 1089 bp

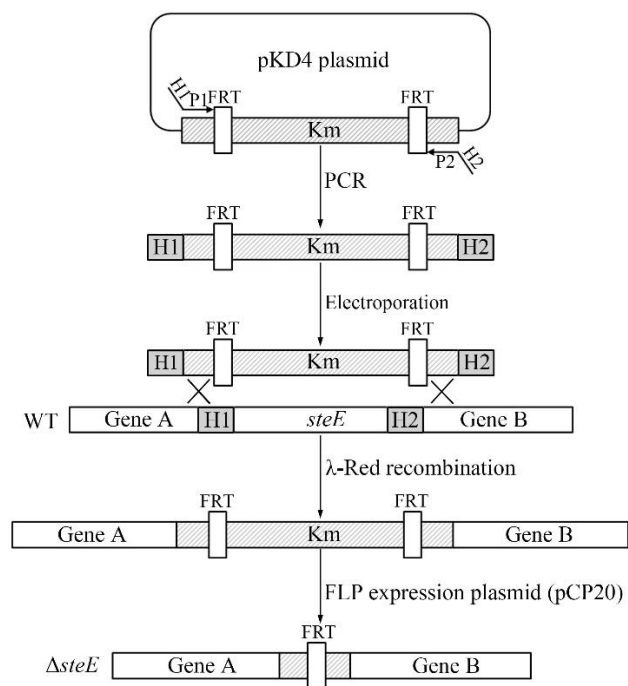


Fig. 1. Schematic diagrams for the construction of the $\Delta steE$ strain

or 683 bp by PCR method using primers CX1/CX2, respectively. In addition, the WT and $\Delta steE$ (pBR322-*steE*) strains has a length of 224 bp by PCR method using N1/N2 primers. These results indicated that the $\Delta steE$ (pBR322-*steE*) strain were successfully constructed.

The growth curve and biochemical characteristics of the $\Delta steE$ strain. The growth curve analysis revealed no significant differences among the WT, $\Delta steE$ and $\Delta steE+steE$ strains cultured in LB broth at different time points at 37 °C (Fig. 4). Similar to the WT and $\Delta steE$ strains, the $\Delta steE$ strain was able to ferment mannitol, glucose, arabinose, ornithine, mannose, decarboxylase and lysine decarboxylase activity, but could not utilize sucrose, hydrogen sulfide, maltose, sorbitol, lactose, malonate and urease. It shows that the deletion of *steE* gene in *S. Pullorum* does not affect the biochemical characteristics of the WT strain.

SteE promoted apoptosis of HD-11 cells. To evaluate the effect of *steE* on the apoptosis of HD-11 cells induced by mCherry-*S. Pullorum* infection, DAPI staining was observed by laser scanning confocal microscopy. The result showed a large number of early apoptotic HD-11 cells were observed in WT strain infected group compared to that of the cells infected with the $\Delta steE$ strain (Fig. 5). In addition, the cell apoptosis was not significant difference in HD-11 cells infected the $\Delta steE$ strain than that of blank control group.

Deletion of *steE* decreased proliferation of *S. Pullorum* in HD-11 cells. To evaluate the influence of *steE* on the *S. Pullorum* infection in the HD-11 cells, we compared the proliferation of the WT, $\Delta steE$ and $\Delta steE+steE$ strains in HD-11 cells. As shown in Fig. 6, the proliferation fold of WT strain was higher than that of $\Delta steE$ strain in HD-11 cells. Significant difference was detected at 6 h and 24 h

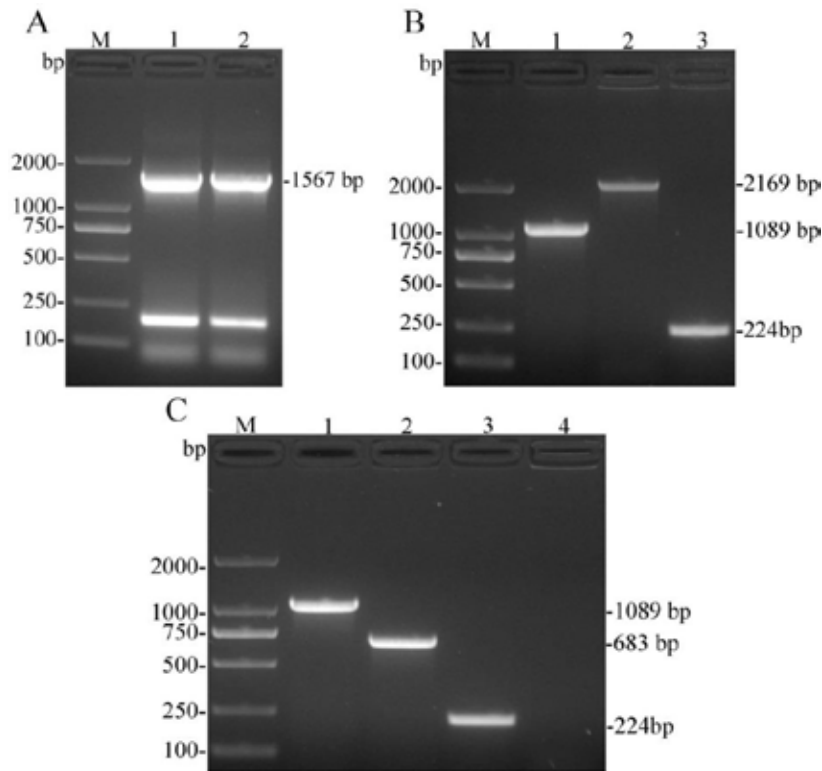


Fig. 2. Identification of the $\Delta steE$ strain by PCR method. M: DL 2000 DNA marker. A. PCR identification of pKD4 plasmid with primers P1/P2; 1, 2: PCR products from pKD4 plasmid. B. PCR identification of the $\Delta steE::kan$ strain with primers CX1/CX2 or N1/N2; 1: WT; 2, 3: $\Delta steE::kan$. C. PCR identification of the $\Delta steE$ strain with primers CX1/CX2 or N1/N2; 1: WT; 2, 3: $\Delta steE$; 4: Negative control

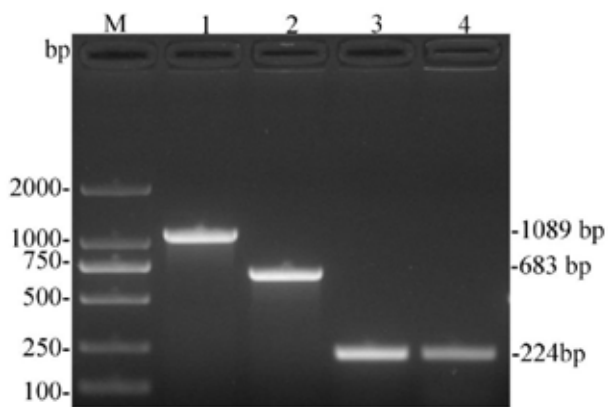


Fig. 3. PCR identification of the $\Delta steE$ (pBR322-*steE*) strain. M: DL 2000 DNA marker; 1,3: WT; 2, 4: $\Delta steE$ (pBR322-*steE*)

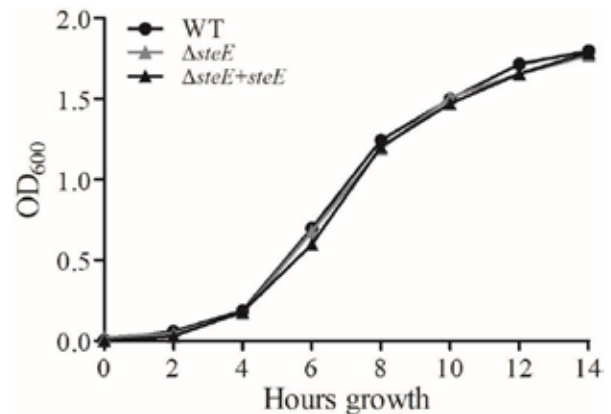


Fig. 4. Growth curves of the WT, $\Delta steE$ and $\Delta steE+steE$ strains in LB broth. The OD₆₀₀ values of *Salmonella* cultures were determined in 2 h intervals by spectrophotometry

in HD-11 cells. These results indicated that the *steE* deletion of *S. Pullorum* has reduced bacterial colonization in HD-11 cells.

Discussion. *Salmonella* is an important intracellular pathogen. After *S. Pullorum* infection, *Salmonella* can form *Salmonella*-containing vacuole (SCV) in the host cell, and proliferate and diffuse in the SCV (Li et al., 2018; Yu et al., 2016). This characteristic is very important for the patho-

genesis of *S. Pullorum*. *Salmonella* pathogenesis are two T3SSs encoded in *Salmonella* pathogenicity islands 1 and 2 (SPI-1 and SPI-2) that are responsible for the secretion and translocation of a set of bacterial proteins termed effectors into host cells with the intention of altering host cell physiology for bacterial entry and survival.

The maintenance of SCV function is inseparable from the participation of a series of *Salmonella* virulence factors,

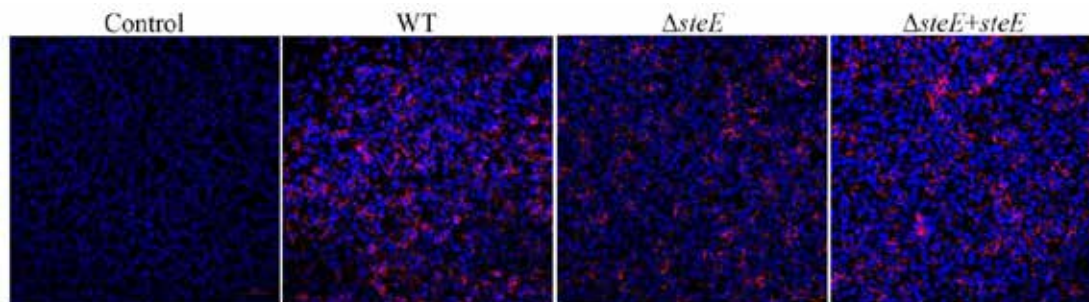


Fig. 5. Effector protein *steE* promotes the apoptosis of HD-11 cells infected by *S. Pullorum*. The morphological changes of HD-11 cells during apoptosis were observed by confocal laser scanning microscopy (20 ×). HD-11 cells were infected with mCheery-WT or mCheery- Δ *steE* strain at a MOI of 10:1 showed red fluorescence at 3 hpi

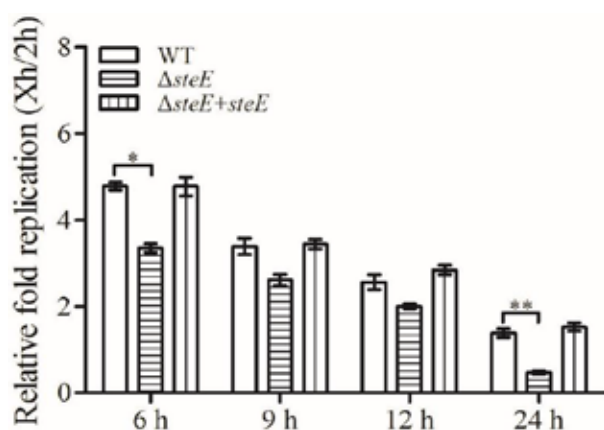


Fig. 6. *steE* inhibits proliferation of *S. Pullorum* in HD-11 cells. Intracellular bacterial growth at indicated times is shown as the fold change compared to the primary intracellular bacteria (2 h)

in which the T3SS2 encoded by SPI-2 and its secreted effector protein (Kodama et al., 2015). As a potential virulence protein of T3SS2, *steE* was found to regulate macrophage activation and host immune response. Some studies have found that *Salmonella* can be colonized in the intestine and spleen, and directly take macrophages as target cells (Geng et al., 2019; Lin et al., 2017). After *S. Pullorum* infection, the bacterium can not only avoid the killing of intracellular active substances, but also proliferate and spread in macrophages (Gulati et al., 2019). *steE* is necessary for the replication and virulence of *Salmonella* in macrophages (Stapels et al., 2018). Therefore, we speculated that the pathogenic mechanism of *S. Pullorum* infection in chickens may be the same as that in HD-11 cells.

In this study, *steE* was selected as the research gene based on λ -Red recombination system to construct the *S. Pullorum* Δ *steE* strain. The results showed that the growth and biochemical characteristics of *S. Pullorum* and *S. Pullorum* *steE* strains are similar, which is consistent with the research results of Pham et al (2020), indicating that *steE* is not necessary for the growth and metabolism of *S. Pullorum*. The results showed that *steE* would reduce the colonization ability and virulence of *S. Pullorum* in HD-11 cells. *S. Pullorum* induced apoptosis of HD-11 cells is a special virulence mechanism, which could promote the spread of bacteria between cells. Recent studies have shown that the deletion of *S. Pullorum* SPI-2 significantly reduced the pathogenicity of chicks, which is consistent with *steE* belonging to SPI-2 effector protein (Niemann et al., 2011; Lawley et al., 2006; Gibbs et al., 2019). In addition, Pham et al reported that *steE* can drive macrophages to polarize to M2 type and increased the ability of *Salmonella* infection-permissive state (Pham et al., 2020). Therefore, we suspected that *steE* may be related to the virulence of *Salmonella*. The results of *S. Pullorum* infecting HD-11 cells also showed that *steE* enhanced the intracellular viability of *S. Pullorum* and promoted the apoptosis of HD-11 cells.

Conclusion. In conclusion, we demonstrated that the deletion of *steE* in *S. Pullorum* had no effect the growth and biochemical characteristics, but its proliferation ability decreased significantly in HD-11 cells, which decreased cell apoptosis, indicating that *steE* was closely related to virulence of *S. Pullorum*. Altogether, our research suggest that the *steE* gene was required for *S. Pullorum* virulence, which laid a foundation for further related research in *S. Pullorum* vaccine strains.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

References:

1. Brodsky, I. E., (2020). JAK-ing into M1/M2 polarization *SteE*s *Salmonella*-containing macrophages away from immune attack to promote bacterial persistence. *Cell Host Microbe*, 27:3-5. doi: 10.1016/j.chom.2019.12.007
2. Ding, J., Zhou, H., Luo, L., Xiao, L., Yang, K., Yang L., et al. (2021). Heritable gut microbiome associated with *Salmonella enterica* serovar *Pullorum* infection in chickens. *mSystems*, 6:e01192-20. doi: 10.1128/mSystems.01192-20
3. Fei, X., Li, Q., Olsen, J.E., Jiao, X. (2020). A bioinformatic approach to identify core genome difference between *Salmonella Pullorum* and *Salmonella Enteritidis*. *Infect Genet Evol*, 85:104446. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104446
4. Geng, S., Wang, Y., Xue, Y., Wang, H., Cai, Y., Zhang, J., et al. (2019). The *SseL* protein inhibits the intracellular NF- κ B pathway to enhance the virulence of *Salmonella Pullorum* in a chicken model. *Microb Pathog*, 129:1-6. doi: 10.1016/j.micpath.2019.01.035

5. Gulati, A., Shukla, R., Mukhopadhaya, A. (2019). Salmonella effector SteA suppresses proinflammatory responses of the host by interfering with I κ B degradation. *Front Immunol*, 10:2822. doi: 10.3389/fimmu.2019.02822.
6. Gibbs, K. D., Washington, E. J., Jaslow, S. L., Bourgeois, J. S., Foster, M. W., Guo, R., et al. (2019). The Salmonella secreted effector SarA/SteE mimics cytokine receptor signaling to activate STAT3. *Cell Host Microbe*, 27:129-139.e4. doi: 10.1016/j.chom.2019.11.012
7. Ho, K., Harshey, R. M. (2021). Goodbye PAM: Phage λ 's Red recombination system cripples PAMs and helps dodge CRISPR attacks. *Cell Host Microbe*, 29:1469-1471. doi: 10.1016/j.chom.2021.09.011
8. Islam, M. S., Hu, Y., Mizan, M. F. R., Yan, T., Nime, I., Zhou, Y., et al. (2020). Characterization of Salmonella phage LPST153 that effectively targets most prevalent Salmonella serovars. *Microorganisms*, 8:1089-1107. doi: 10.3390/microorganisms8071089
9. Johnson, R., Mylona, E., and Frankel, G. (2018). Typhoidal Salmonella: distinctive virulence factors and pathogenesis. *Cell Microbiol*, 20:e12939. doi: 10.1111/cmi.12939
10. Kodama, T., Hiyoshi, H., Okada, R., Matsuda, S., Gotoh, K., Iida, T. (2015). Regulation of vibrio parahaemolyticus T3SS2 gene expression and function of T3SS2 effectors that modulate actin cytoskeleton. *Cell Microbiol*, 17:183-190. doi: 10.1111/cmi.12408
11. Lawley, T. D., Chan, K., Thompson, L. J., Kim, C. C., Govoni, G. R., Monack, D. M. (2006). Genome-wide screen for Salmonella genes required for long-term systemic infection of the mouse. *PLoS Pathog*, 2:e11. doi: 10.1371/journal.ppat.0020011
12. Lin, Z., Tang, P., Jiao, Y., Kang, X., Li, Q., Xu, X., et al. (2017). Immunogenicity and protective efficacy of a Salmonella Enteritidis sptP mutant as a live attenuated vaccine candidate. *BMC Vet Res*, 13:194-203. doi: 10.1186/s12917-017-1115-3
13. Li Q, Wang X, Xia J, Yuan Y, Yin C, Xu L, et al. (2018). Salmonella-containing vacuole development in avian cells and characteristic of cigR in Salmonella enterica serovar pullorum replication within macrophages. *Vet Microbiol*, 223:65-71. doi: 10.1016/j.vetmic.2018.07.013
14. Matos, M., Sommer, F., Liebhart, D., Bilic, I., Hess, M., Hess, C. (2020). An outbreak of Pullorum disease in a young layer parent flock in Austria presented with central nervous system signs. *Avian Dis*, 65:159-164. doi: 10.1637/aviandiseases-D-20-00091
15. Niemann, G. S., Brown, R. N., Gustin, J. K., Stufkens, A., Shaikh-Kidwai, A. S., Li, J., et al. (2011). Discovery of novel secreted virulence factors from Salmonella enterica serovar Typhimurium by proteomic analysis of culture supernatants. *Infect Immun*, 79:33-43. doi: 10.1128/IAI.00771-10
16. Panagi, I., Jennings, E., Zeng, J., Günster, R. A., Stones, C. D., Mak, H., et al. (2020). Salmonella effector SteE converts the mammalian Serine/Threonine kinase GSK3 into a tyrosine kinase to direct macrophage polarization. *Cell Host Microbe*, 27: 41-53. doi: 10.1016/j.chom.2019.11.002
17. Pham, T. H. M., Brewer, S. M., Thurston, T., Massis, L. M., Honeycutt, J., Lugo, K., et al. (2020). Salmonella-driven polarization of granuloma macrophages antagonizes TNF-mediated pathogen restriction during persistent infection. *Cell Host Microbe*, 27:54-67. doi: 10.1016/j.chom.2019.11.011
18. Stapels, D. A. C., Hill, P. W. S., Westermann, A. J., Fisher, R. A., Thurston, T. L., Saliba, A. E., et al. (2018). Salmonella persists undermine host immune defenses during antibiotic treatment. *Science*, 362:1156-1160. doi: 10.1126/science.aat7148
19. Ter, Veen, C., Feberwee, A., Augustijn, M., de Wit, S. (2022). High specificity of the Salmonella Pullorum/Gallinarum rapid plate agglutination test despite vaccinations against Salmonella Enteritidis and Salmonella Typhimurium. *Avian Pathol*. 51:19-25. doi: 10.1080/03079457.2021.1990854
20. Vaid, R. K., Thakur, Z., Anand, T., Kumar, S., Tripathi, B. N. (2021). Comparative genome analysis of Salmonella enterica serovar Gallinarum biovars Pullorum and Gallinarum decodes strain specific genes. *PLoS One*, 16:e0255612. doi: 10.1371/journal.pone.0255612
21. Wang, X. D., Li, C. Y., Jiang, M. M., Li, D., Wen, P., Song, X., et al. (2016). Induction of apoptosis in human leukemia cells through an intrinsic pathway by cathachunine, a unique alkaloid isolated from Catharanthus roseus. *Phytomedicine*, 23:641-653. doi: 10.1016/j.phymed.2016.03.003
22. Xian, H., Yuan, Y., Yin, C., Wang, Z., Ji, R., Chu, C., et al. (2020). The SPI-19 encoded T6SS is required for Salmonella Pullorum survival within avian macrophages and initial colonization in chicken dependent on inhibition of host immune response. *Vet Microbiol*, 250:108867. doi: 10.1016/j.vetmic.2020.108867
23. Yin, J., Xia, J., Tao, M., Xu, L., Li, Q., Geng, S., et al. (2016). Construction and characterization of a cigR deletion mutant of Salmonella enterica serovar Pullorum. *Avian Pathol*, 45:569-575. doi: 10.1080/03079457.2016.1187708
24. Yu, X. J., Liu, M., Holden, D. W. (2016). Salmonella effectors SseF and SseG interact with mammalian protein ACBD3 (GCP60) to anchor Salmonella-containing vacuoles at the golgi network. *mBio*, 7:e00474-16. doi: 10.1128/mBio.00474-16

Жук Лі, аспірант, Сумський національний аграрний університет, Суми, Україна

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

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

Фотін А. І., кандидат ветеринарних наук, доцент, Сумський національний аграрний університет, Суми, Україна

Ждинью Ма, доктор ветеринарних наук, професор, Хенанський інститут науки і технологій, Сінсян, Китай

Конструкція та характеристика *steE*-делеційного мутанта *Salmonella Pullorum*

Сальмонельоз курей – це бактеріальне інфекційне захворювання, що спричинене сероваром *Salmonella enterica Pullorum* (*S. Pullorum*). Це захворювання, широко реєструється в сучасних птахівничих господарствах. Основними клінічними симптомами хвороби є пронос білого кольору та задишка, смертність може досягати 100 %. Поточні заходи для запобігання та боротьби з захворюванням – це контроль біобезпеки та заходів профілактики, які направлені на своєчасне виявлення хворої птиці, постійного спостереження за здоровими курчатами та виявлення шляхів передачі інфекції. Незважаючи на те, що використання антибіотиків зменшує загибель хворої птиці, але це не може 100% знищити патогенні мікроорганізми в організмі птиці, крім того це викликає виникнення антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів, що є загрозою для людини. Тому важливим є необхідність вивчення та розробки заходів профілактики та контролю, включаючи нові вакцини. Як новий фенотип вірулентності, *steE* кодується *Gifsy-1* через регуляцію системи секреції III типу 1 і 2 (*T3SS1* і *T3SS2*). *SteE* відіграє важливу роль в еволюції специфічності господаря мікроорганізмів роду *Salmonella*. На лабораторній моделі при зараженні мишей *steE* підвищується вірулентність *Salmonella* та експресія протизапальних цитокінів. Однак роль *steE* в патогенезі *Salmonella* потребує подальшого вивчення. На сучасному рівні більшість досліджень *steE* в основному проводиться на моделі інфекції *S. Typhimurium*, тоді як на моделях *S. Pullorum* було проведено мало досліджень. Немає повідомлень про роль *steE* в клітинах HD-11, інфікованих *S. Pullorum*. В своїх дослідженнях ми успішно сконструювали делеційний штамп *steE* *S. Pullorum* за допомогою системи рекомбінації λ -Red. Ріст і біохімічні характеристики *S. Pullorum steE* були подібні до *S. Pullorum*. Крім того, ми також спостерігали вплив *steE* на проліферацію та апоптоз клітин HD-11, інфікованих *S. Pullorum*. Патогенез *Salmonella* – це два *T3SS*, закодовані в острівцях патогенності *Salmonella* 1 і 2 (*SPI-1* і *SPI-2*), які відповідають за секрецію та транслокацію набору бактеріальних білків, які називаються ефекторами, у клітини-господарі з наміром змінити фізіологію клітини-господаря для проникнення та виживання бактерій. Підтримка функції SCV невіддільна від участі ряду факторів вірулентності сальмонели, в яких *T3SS2*, кодований *SPI-2*, і його секретований ефекторний білок. Що *steE* регулює активацію макрофагів та імунну відповідь господаря. Дослідження показали, що сальмонела може колонізуватися в кишечнику і селезінці та безпосередньо приймати макрофаги як клітини-мішені. Після зараження *S. Pullorum* бактерія може не тільки уникнути знищення внутрішньоклітинних активних речовин, але й проліферувати та поширюватися в макрофагах. *SteE* необхідний для реплікації та вірулентності *Salmonella* в макрофагах. Таким чином, ми встановили, що патогенний механізм інфекції *S. Pullorum* у птиці може бути таким же, як і в клітинах HD-11. *SteE* було обрано як дослідницький ген на основі системи рекомбінації λ -Red для конструювання штаму *S. Pullorum steE*. Результати показали, що ростові та біохімічні характеристики штамів *S. Pullorum* і *S. Pullorum steE* схожі. Доведено, що *steE* зменшить здатність до колонізації та вірулентність *S. Pullorum* у клітинах HD-11. Індукований *S. Pullorum* апоптоз клітин HD-11 є особливим механізмом вірулентності, який може сприяти поширенню бактерій між клітинами. Дослідження показали, що делеція *S. Pullorum SPI-2* значно знижує патогенність курчат, що узгоджується з приналежністю *steE* до ефекторного білка *SPI-2*. Результати інфікування *S. Pullorum* клітин HD-11 також показали, що *steE* посилює внутрішньоклітинну життєздатність *S. Pullorum* і сприяє апоптозу клітин HD-11. У сукупності наші дані демонструють, що ген *steE* бере участь у вірулентності *S. Pullorum* і сприяє розробці ослабленої вакцини проти *S. Pullorum*.

Ключові слова: *Salmonella Pullorum*, *steE*, біологічні характеристики, клітини HD-11, апоптоз, вірулентність.

THE MOLECULAR MECHANISM OF PYROPTOSIS AND ITS RELATED DISEASES

Kasianenko Oksana Ivanivna

Doctor of Veterinary Sciences, Professor
 Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine
 ORCID ID 0000-0001-8453-1957
 oksana_kasjanenko@ukr.net

Mingcheng Liu

Postgraduate student
 Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine,
 Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, China
 ORCID: 0000-0003-4923-1427
 liumc80@163.com

Cells are the basic unit of life, and cell death plays an important role in the body's metabolism, the occurrence and development of diseases. Pyroptosis is a form of programmed cell death. Pyroptosis is significantly different from other cell death methods (such as apoptosis, necrosis, etc.) in morphological characteristics, occurrence mechanism, and mechanism of action. When a cell undergoes pyroptosis, the nucleus condenses to form a pyroptotic body, numerous pores appear in the cell membrane, the cell swells and ruptures, releasing its contents. Caspase family is a homologous and structurally similar proteolytic enzyme in cytoplasm, which selectively recognizes and cleaves peptide bonds behind downstream target aspartic acid residues. Caspase 1,4,5,11 can induce pyroptosis through different pathways. Besides caspases, gasdermin also plays an important role in pyroptosis. Gasdermins (GSDMs) are a family of functionally diverse proteins expressed in a variety of cell types and tissues. The Gasdermin family includes 6 members, of which gasdermin D is the executor of pyroptosis. Upon cleavage by activated caspases, gasdermin D can be divided into N and C segments. Among them, the N fragment can form pores in the cell membrane, leading to cell swelling, rupture, outflow of cytokines and other contents, triggering the body's immune response, and leading to pyroptosis. The occurrence of pyroptosis can be divided into the classical pathway and the non-classical pathway. The classical pathway mainly depends on caspase-1, while the non-canonical pathway depends on the activation of Caspase-4/5/11. In addition, there are uncommon Caspase-3/8-mediated pathway and Granzyme-mediated pathway. As a way of cell death, pyroptosis is inextricably linked to disease. Inflammasomes and cytokines produced in the process of pyroptosis can trigger an inflammatory response in the body, and an excessive inflammatory response can lead to diseases, such as infectious diseases, neurological diseases, and tumors. In infectious diseases, pyroptosis is closely related to the infection of a variety of bacteria, fungi and viruses, and PAMPs and LPS can be recognized by corresponding inflammasomes and caspases, respectively, and activate the downstream pyroptotic pathways. Pathogen infection is the main way to induce pyroptosis. In cardiovascular diseases, a high-fat environment can induce an increase in reactive oxygen species (ROS), trigger endothelial cell pyroptosis, and exacerbate the development of atherosclerosis (AS). In the nervous system, cell death is involved in the pathogenesis of the progression of degenerative diseases of the central nervous system, such as Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD), and stroke. In terms of tumors, pyroptosis can inhibit the occurrence and development of tumors, and at the same time, as a pro-inflammatory death, pyroptosis can form a microenvironment suitable for tumor cell growth, thereby promoting tumor growth.

Key words: molecular mechanism, pyroptosis, disease.

DOI <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.2.3>

Introduction. Cells are the basic unit of life, and the metabolism of the body is often accompanied by the occurrence of cell death. Cell death plays a key role in the development of the body, the maintenance of homeostasis and the occurrence and development of diseases. The modes of cell death are mainly divided into passive cell death and active cell death. Passive cell death is a self-protection mechanism produced by cells when they are stressed, injured or infected by pathogenic microorganisms. In this process, inflammation is produced, so it is also called inflammatory death. Typical passive cell death has cell apoptosis and cell necrosis (Dutta et al., 2012). Active cell death mainly refers to the cell self-regulation process produced by organisms in order to regulate the number of cells, promote morphogenesis,

and remove harmful or abnormal cells, mainly including apoptosis and autophagic death, both of which are cell behavior regulated by genes (Rogers et al., 2017; Tsuboyama et al., 2016).

Pyroptosis is a newly discovered way of cellular program death in recent years. It is the body's primary non-specific defense mechanism. It has an irreplaceable role in preventing external pathogen invasion and sensing endogenous danger signals (W. Xu and Huang, 2022). This article reviews the discovery and nomenclature, morphological and molecular features, molecular mechanisms and pyroptosis-related diseases of pyroptosis in recent years.

The discovery and naming of pyroptosis. Pyroptosis was initially proposed in 2001 by Cookson and Brennan to describe proinflammatory programmed necrosis that occurs

in *Salmonella*-infected macrophages in a caspase-1-dependent manner (Riedl and Shi, 2004). The term “pyroptosis” comes from the Greek roots pyro, which means “fire” or “fever,” and ptosis to denote a falling. The combination of the two words reflects the inflammatory nature of this method of cell death (Walle and Lamkanfi, 2016). However, how the activation of inflammatory caspase causes cell pyrolysis has not been answered. It was not until the publication of two independent research results in 2015 that this question was initially answered (Shi et al., 2014; Shi et al., 2015). They all found that gasdermin D (GSDMD) is a substrate of inflammatory caspase, which causes pyrolysis by forming small holes in the cell membrane after lysis (Shi et al., 2017). Therefore, pyroptosis is defined as gasdermin family-mediated programmed cell necrosis. Shao, et al found pyrolysis can also be caused by the activation of caspase-4/5/11 by Lipopolysaccharide (LPS) in the cytoplasm. The activated caspase-4/5/11 will eventually induce pyrolysis through the cleavage of gasdermin family proteins (J. Li et al., 2022). Therefore they defined pyroptosis as Gasdermin family-mediated programmed cell necrosis (Shi et al., 2015).

Morphological and molecular features of pyroptosis. **Morphological features of pyroptosis.** Pyroptosis is morphologically characterized by both cell necrosis and apoptosis. When cells undergo pyroptosis, the nucleus is condensed, chromatin DNA is randomly fragmented and degraded, the cells are swollen in a circular shape, and multiple vesicular protrusions are formed. Numerous pores appear on the surface, causing the cell membrane to lose its integrity (F. Wang et al., 2018). Blister-like protrusions are similar in size to apoptotic bodies and are called pyroptotic bodies. The formation of pores in the cell membrane is mainly a non-ion-selective channel formed by GSDMD (Sanino et al., 2018).

The cell membrane loses the ability to regulate the entry and exit of substances, the cell loses the balance of internal and external ions, osmotic swelling occurs and the membrane ruptures, releasing active substances such as cell contents, stimulating the body's immune response, recruiting more inflammatory cells, and expanding the inflammatory response (Jorgensen et al., 2017; Vanden Berghe et al., 2016).

Molecular features of pyroptosis Caspase family. Caspase family is a homologous and structurally similar proteolytic enzyme in cytoplasm, which selectively recognizes and cleaves peptide bonds behind downstream target aspartic acid residues. In normal cells, caspase protein usually exists in the inactive pro-caspase state, and only after hydrolysis of amino acid sequence into active caspase can play its role. So far, 15 caspases have been identified in mammals, 13 caspases in humans and 11 caspases in mice (Eckhart et al., 2008). According to the differences in structure and function, caspase can be divided into apoptotic and inflammatory types. Among them, Apoptosis caspase includes caspase-2/3/6/7/8/9/10, represented by caspase3, which is related to apoptosis. But it was found that caspase-3 also can induce pyroptosis by cleaving gasdermin E (GSDME) (Yupeng Wang et al., 2017). Moreover, caspase-8 which is related to apoptosis can also straightly cleave GSDMD to induce pyroptosis (Demarco et al., 2020).

Inflammatory caspases include caspase-1/4/5/11/12/13/14, which mediate inflammatory responses (Bergsbaken et al., 2009; Yazdi et al., 2010). Activation of inflammatory caspase-1 and caspase-4/5/11 ultimately leads to cell apoptosis.

Gasdermin family. Gasdermins (GSDMs) are a family of functionally diverse proteins expressed in a variety of cell types and tissues (Aglietti and Dueber, 2017; Kovacs and Miao, 2017). The earlier identified GSDMs in the gastrointestinal tract and dermis were named “gas-dermin” (Tamura et al., 2007). 6 GSDMs were found in humans and 10 GSDMz were found in mice. GSDMs consists of Gasdermin A (GSDMA), Gasdermin B (GSDMB), Gasdermin C (GSDMC), Gasdermin D (GSDMD), Gasdermin E (GSDME) and Pejvakin (PJVK).

GSDMA and GSDMB are mainly expressed in esophagus and intestinal cells, and are associated with hair loss, asthma and inflammatory diseases (Das et al., 2016; Saeki et al., 2009). Human GSDMC protein is expressed in epithelial cells of stomach, esophagus and spleen, and is inhibited in cancer cells such as gastric cancer, and its biological function is still under study (Ruan, 2019).

GSDMD and GSDME are widely expressed in different cell tissues. GSDMD is the executioner of pyroptosis due to its ability to form membrane pores (Feng et al., 2018). GSDMD can be specifically activated by inflammatory Caspase-1, 4, 5, 11, and cleaved into GSDMD-N (p30 fragment) and GSDMD-C (p20 fragment). GSDMD-C exists in the cytoplasm, and GSDMD-N has lipophilic and can binds specifically to phosphatidylinositol on the inside of the cell membrane and cardiolipin on the outside of the bacterial plasma membrane, oligomerizes in the membrane and forms a pore with a diameter of 10–16 nm (Zhao et al., 2018). The pore secretes a substrate of smaller diameter, eventually causing the membrane to rupture and releasing the entire cell contents (Evavold et al., 2018). When stimulated by chemotherapy drugs, tumor necrosis factor and virus infection, GSDME can be activated by caspase-3 of apoptotic signaling pathway to punch holes in cell membranes and transform the cells that should undergo apoptosis into pyroptosis (Y. Wang et al., 2018; X. Zhang and Zhang, 2018).

Usually GSDME is expressed at a high level in normal cells, while cancer cells undergo epigenetic modifications such as DNA methylation and histones, and most of them are in the state of GSDME inhibited expression or low-level expression (Yu and He, 2017). Pyroptosis of normal cells expressing GSDME may be one of the reasons for the toxic side effects of conventional chemotherapy drugs.

The mechanism of pyroptosis. The occurrence of pyroptosis can be divided into two ways: caspase-1-dependent and non-caspase-1-dependent (Ji et al., 2021). The way of cell death that depends on caspase-1 is called classical pathway pyrolysis, while the way of cell death that is not dependent on caspase-1 is caused by human caspase-4 and -5 or Caspase-11 induction in mice is called non-classical pathway pyrolysis. The morphological characteristics of pyrolysis in the classical pathway and the non-classical pathway are similar.

Both pathways cause the release of IL-1 β and IL-18, which are involved in inflammasome activation. IL-1 β induces tissue inflammation, vasodilation, and extravasation of immune cells, and also plays a role in adaptive immune responses (Slaats et al., 2016). IL-18 can promote the production of interferon- γ by Th1 cells, Natural killer (NK) cells and cytotoxic T cells, promote the development and maturation of Th2 cells, and enhance local inflammatory response (Wu et al., 2022).

Canonical pathway. Canonical pyroptosis is mediated by inflammasome assembly with GSDMD cleavage and IL-1 β and IL-18 release (Frank et al., 2019; Xia et al., 2019). Inflammasomes are multimolecular complexes that are activated when the host becomes resistant to microbial infection.

When pathogens invade host cells, specific pattern recognition receptors (pattern recognition receptors, PRRs) on the cell surface or inside recognize pathogen-related molecular patterns (PAMPs) structure and endogenous risk-associated molecular patterns (DAMPs) (Broz, 2015). Pattern recognition receptors bind to specific ligands, and then combine with other proteins to form inflammasomes. If the Nod-like Receptor Protein 3 (NLRP3) inflammasome is activated, its ligands can stimulate eukaryotic cells to generate reactive oxygen species (ROS) and damage lysosomes to release lysosomal proteases to mediate NLRP3 activation (Grootjans et al., 2017). Activated NLRP3 converts biologically inactive pro-caspase-1 into active caspase-1. The caustic executive protein GSDMD is cleaved by activated caspase-1 at the Asp275 site, forming a 31 kDa N-terminus (N-GSDMD) and a 22 kDa C-terminus (C-GSDMD) (Shi et al., 2015). N-GSDMD penetrates the cell membrane to form non-selective pores, resulting in cell swelling and pyroptosis (X. Chen et al., 2016; Sborgi et al., 2016). At the same time, caspase-1 also cleaves the precursors of IL-1 β and IL-18 into mature IL-1 β and IL-18, which are released through the pores formed by GSDMD, leading to pyroptosis (He et al., 2015; Kayagaki et al., 2015).

Non-canonical pathway. Non-classical pyroptosis is activated by the activation of Caspase-4/5/11 as the premise pathway, mainly through the direct binding of the inflammatory Caspase-4/5/11 protein precursor to the LPS in the cytoplasm to assemble and trigger cell pyroptosis (Jorgensen and Miao, 2015). When pathogenic microorganisms infect host cells, PRRs located in the cytoplasm are recognized and bound to corresponding ligands, assembled to form multi-protein complexes in the cytoplasm, and activate inflammatory Caspase-4/5/11 to further cleave GSDMD protein to the cell membrane Punch holes to promote the occurrence of pyroptosis (Ji et al., 2021). At the same time, the inflammasome acts on downstream molecules to promote the release of mature and ruptured cell membranes such as inflammatory cytokines (such as IL-1 β , IL-18, etc.), chemokines, and adhesion molecules to the outside of the cell, recruiting and activating more inflammatory cells. trigger an inflammatory response (Martinon and Tschopp, 2004).

In addition, Pannexin-1 is found to be another key protein in mediating pyroptosis in the non-classical pathway induced by caspase-11 (Yang et al., 2015). Upon stimula-

tion with LPS, activated caspase-11 can specifically cleave and modify Pannexin-1, elicited intracellular ATP release and thereby induce pyroptosis mediated by the ion channel P2X7 receptor (Yang et al., 2015).

Caspase-3/8-mediated pathway. Members of the gasdermin protein family are highly conserved in structure. With the exception of DFNB59, all gasdermins contain C-terminal and N-terminal domains, the N-terminal being the executor of pyroptosis (Ding et al., 2016). Caspase-3 has long been considered as an important marker of apoptosis. Recently, Wang et al. Found that caspase-3 can affect and activate gsdme and promote the occurrence of focal death. In tumor cell lines with high expression of gsdme, chemotherapeutic drugs can induce the activation of Caspase-3 and cleave gsdme. The generated gsdme-n can punch holes in the cell membrane and cause the scorch death of tumor cells (Hyman and Yuan, 2012). Sarhan et al. Reported that caspase-8 can cleave gsdmd and mediate cell death during the inhibition of TGF- β -activated kinase 1 (TAK1) by pathogenic *Yersinia* through effector YopJ (Chavarría-Smith and Vance, 2015; Orning et al., 2018). TNF-mediated apoptosis is converted to pyroptosis by PD-L1 in breast cancer cells. Under hypoxic conditions, the nuclear translocation of programmed death-ligand 1 (PD-L1) is promoted by p-Stat3, which together enhance GSDMC transcription. Under the stimulation of tumor necrosis factor- α (TNF- α), Caspase-8 specifically cleaved GSDMC to generate N-GSDMC, and formed pores in the cell membrane to induce pyroptosis (Hou et al., 2020).

Granzyme-mediated pathway. Recently, Shao, etc, found for the first time that gasdermin can perform the perforation function through serine protease grzma hydrolysis at non ASP sites, and proved the cell death induced by cytotoxic lymphocytes as focal death (Mehta et al., 2013). This discovery rewrites the conclusion that focal death can only be activated by caspase. The serine protease granzyme A in cytotoxic lymphocytes (such as CTLs, NK cells, etc.) can enter the target cells through perforin, and the target cells can be induced to scorch by hydrolyzing lys229 / lys244 sites of gasderminb (gsdmb) molecules (Zhiwei Zhou et al., 2020). GSDMB has tissue-specific expression and is highly expressed in digestive system epithelial cell-derived tumor cells. Induction of focal death by gsdmb will enhance anti-tumor immunity and will become a potential target for the treatment of these tumors (Mehta et al., 2013).

Pyroptosis and diseases. Inflammatory bodies formed during pyroptosis can stimulate tumor cell pyroptosis and decrease tumor cell growth. The accumulation of inflammatory bodies, on the other hand, can create a favorable milieu for tumor cell growth (Demkow, 2021). GSDMD activation causes the release of inflammatory cytokines such as IL-1 and IL-18, which activate immune cells, chemokines, cytokines, and adhesion molecules, so amplifying the inflammatory response (Liu et al., 2016). IL-1 β is an endogenous heat source that promotes fever, vasodilation, chemotactic migration of leukocytes, cytokine increase and hyperalgesia. Its unregulated discharge causes autoimmune disorders to develop (periodic syndrome, Mediterranean fever) (Feng et al., 2018). By boosting the production of IFN- γ , IL-18 causes

inflammation. It is a well-known antibacterial inflammatory cytokine that causes T cells and macrophages to become activated. At the same time, excessive pyroptosis activation can result in a significant number of cell death, tissue damage, organ failure, and even autoimmune inflammation, septic shock, or tumor, resulting in irreversible body harm (Jorgensen and Miao, 2015; Poli et al., 2015).

Pyroptosis and Infectious diseases. Pyroptosis is closely associated with multiple bacterial, fungal and viral infections. In the pyroptotic pathway, PAMPs and LPS can be recognized by the corresponding inflammasomes and caspases, respectively, and activate the downstream pyroptotic pathway. Therefore, pathogen infection is the main way to induce pyroptosis. Pyroptosis has been found in *Shigella*, anthrax, tuberculosis, *Brucella* infection and bacillary dysentery (Banerjee et al., 2017; Zheng et al., 2016). Pyroptosis functions as a host defense mechanism when a pathogen infects the body, activating the innate immune system to fight infections (Gong et al., 2020). When cells are infected by *Salmonella*, the activation of caspase-1 will lead to the production of inflammatory factors, cell membrane damage, and even cell rupture, which is beneficial to the removal of intracellular bacteria (Gong et al., 2020). When *Shigella* infects cells, it rapidly invades the intestinal mucosa quickly, cause inflammatory reaction, and eventually result in bacterial dysentery (Tien et al., 2006). In Lei et al.'s study in the pathogenesis of enterovirus 71, the enterovirus protease 3C was found to cleave gasdermin D (Lei et al., 2017). The cleavage site is distinct from the caspase-induced cleavage site and physiologically inactivates the N-terminal fragment, thereby disabling the downstream pyroptosis pathway.

Enterovirus 71 escapes the resistance mechanism of the host cellular immune system by directly disrupting key factors in the pyroptosis pathway, providing a new perspective for reassessing pathogen resistance to host pyroptosis.

Pyroptosis and Cardiovascular diseases. Atherosclerosis is a chronic progressive disease characterized by lipid accumulation and inflammatory cell infiltration (Benjamin et al., 2017). Many factors such as hyperlipidemia, hyperglycemia and smoking can promote the progression of As (Y. Zhang et al., 2018).

High fat environment can induce the increase of reactive oxygen species (ROS), trigger endothelial cell scorch death and downstream inflammatory waterfall, and aggravate the development of As. It can also promote the expression of AIM2, GSDMD-N and other genes in smooth muscle cells, increase the area of plaque and the number of dead cells in mice by inducing the scorch death of smooth muscle cells, and increase the instability of plaque (Pan et al., 2018).

Oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) has a strong as promoting effect. It can induce endothelial cell death through ERS/ASK1 axis or miR-125a-5p expression (Hang et al., 2020; Zeng et al., 2019). While ox-LDL induces macrophage focal death, it promotes the occurrence of cell focal death by limiting autophagy, and promotes the formation of necrotic nuclei and plaque instability (Zhenfeng Zhou et al., 2020).

High density lipoprotein (HDL) can play an anti as role, but when combined with chronic inflammatory diseases,

it can be oxidized and modified to promote oxidation and inflammation. Oxidized HDL can induce NLRP3 mediated cell scorch death in macrophages, thereby promoting the progression of as plaque (Ji et al., 2021).

Pyroptosis and Central nervous system disease. Studies have shown that cell death is involved in the pathogenesis of central nervous system degenerative diseases progress, such as Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD) and stroke (Zhiwei Zhou et al., 2020; Liu et al., 2016). The pathological features of AD are synaptic loss, neuronal death and extracellular neuroinflammatory plaques β -Amyloid- β , A β), which can interfere with the function of membrane and cause the outflow of K⁺ from neurons. Low K⁺ concentration can activate nlrp1 and cause cell pyroptosis (Tan et al., 2014).

Pyroptosis activated by the PD-causing protein α -synuclein is closely related to the development of PD-induced neuroinflammation (Hu et al., 2022). Normally, aggregated α -synuclein can be released from impaired neurons and recognized by Toll-like receptors on microglia to activate the NF- κ B pathway and the NLRP3 inflammasome, thereby inducing microglia Pyroptosis and neuroinflammation (S. Wang et al., 2019).

Inflammation activated by inflammasome and pyroptosis is closely related to stroke pathology (Barrington et al., 2017). Increased expression of NLRP3, NLRP1, caspase-1, IL-1 β and IL-18 was observed in brain samples from stroke patients (D Fann et al., 2013). Activation of the NLRP3/caspase-1/GSDMD pathway induces microglia and astrocyte pyroptosis in a mouse model of middle cerebral artery occlusion (MCAO) (P. Xu et al., 2019; Zhou et al., 2019). In addition, absent in melanoma 2 (AIM2) and NOD-like receptor containing 4 (NLRC4) inflammasomes in microglia and NLRP6 and NLRP2 inflammasomes in astrocytes have been shown to activate GSDMD-mediated pyroptosis and inflammation, leading to models of ischemic brain injury damaged neuronal cells (Kim et al., 2020; Q. Li et al., 2020).

The role of Pyroptosis in Tumors. Pyroptosis can affect the occurrence and progression of tumor, which regulates the proliferation, invasion and metastasis of tumor cells through some non-coding RNA and other molecules.

Studies have found that inflammatory bodies can also exist in tumor cells, and these bodies can promote and inhibit tumor growth (L. C. Chen et al., 2012; Dinarello, 2010). Because inflammatory corpuscles are the key molecules that guide caspase-1 in cell focal death, it may be an important node between tumor cells and pyroptosis. Different tumors involve different inflammatory bodies. For example, NLRP3 widely exists in tumor cells (H. Zhang et al., 2018), and related tumors include nasopharyngeal carcinoma, colorectal cancer, and lung adenocarcinoma (Ungerbäck et al., 2012; Yanli Wang et al., 2016). In addition, liver cancer is also associated with aim2 inflammatory bodies (Ma et al., 2016). Although it can be inferred that cell death is related to tumor, the relationship between them is relatively complex. Studies have shown that cell death can inhibit the occurrence and development of tumor, but on the other hand, cell death can promote inflammatory death and form a microenvironment suitable for the growth of tumor

cells, so as to promote the growth of tumor (Brostjan and Oehler, 2020).

Pyroptosis and lung cancer. Lung cancer is the most common cancer in the world and one of the leading causes of death (Hong et al., 2015; Sun et al., 2019). In non-small cell lung cancer (NSCLC), GSDMD was found to be elevated (Gao et al., 2018). Furthermore, a high level of GSDMD aided tumor spread and predicted a poor outcome in lung adenocarcinoma (LUAD) patients. Activation of the pyroptotic signaling pathway (NLRP3/caspase1) promoted apoptosis but not pyroptosis in GSDMD-deficient tumor cells. Furthermore, inhibiting tumor proliferation by inhibiting the epidermal growth factor receptor/ Protein Kinase B (EGFR/Akt) signaling pathway in nonsmall-cell lung cancer (NSCLC) was achieved by silencing GSDMD (Peng et al., 2019). Xi et al. reported in 2019 that GSDMD colocalized with GzmB near immunological synapses, and that a deficiency in GSDMD reduced CD8+ T cell cytolytic capabilities, suggesting that GSDMD is required for tumor cell immune response (Xi et al., 2019). GSDME is found in a variety of molecular subtypes of lung cancer. In A549, PC9, or NCI-H3122 cells, GSDME or caspase-3 reduction drastically decreased GSDME-dependent pyroptosis (Lu et al., 2018). Both paclitaxel and cisplatin were shown to trigger apoptosis in A549 cells by Zhang et al., however some of the dying cells had a morphology that was very similar to pyroptosis (C.-c. Zhang et al., 2019).

Pyroptosis and gastric cancer. Gastric cancer is a cancer that starts in the cells of the stomach and has a poor prognosis and a high mortality rate (Graham, 2015; Wei et al., 2020). GSDMA was found to be a tumor suppressor gene in gastric cancer (Saeki et al., 2009), but it was also found to be overexpressed in some gastric cancer cells, suggesting that it could operate as an oncogene. GSDMB was found to be strongly expressed in the majority of malignant tissue samples but not in the majority of normal gastric tissues, suggesting that it may be linked to invasion (Komiya et al., 2010). On the other hand, GSDMC was shown to be downregulated in gastric cancer, suggesting that it may act as a tumor suppressor. Wang et al. found that GSDMD can inhibit extracellular-signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2), Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and phosphatidylinositol-3-kinase/Protein Kinase B (PI3K/AKT) in gastric cancer (GC) cells, thereby reducing the expression of Cyclin A2 and Cyclin Dependent Kinase (CDK2). Therefore, the reduction of GSDMD expression in GC cells increases the expression of Cyclin/CDK complex as a substance that regulates cell cycle, promotes the transition from S phase to G2 phase, and accelerates GC cell proliferation (W. J. Wang et al., 2018). Chemotherapeutic medicines were discovered

to cause pyroptosis rather than apoptosis in gastric cancer cells with high GSDME expression. The stomach cancer cell lines that had been treated with 5-fluorouracil (5-FU) looked to go into pyroptosis (Y. Wang et al., 2018).

Pyroptosis and breast cancer. GSDMB overexpression was linked to tumor growth in breast malignancies, and overexpression predicted a poor response to HER-2 targeted treatment (Hergueta-Redondo et al., 2014). This suggests that GSDMB could be a new tumor prognostic marker. Furthermore, high GSDMC levels have been linked to a poor prognosis in breast cancer patients (Hou et al., 2020). Antibiotics such as doxorubicin, daunorubicin, actinomycin D, and epirubicin have been shown to increase the expression of nuclear PD-L1 and GSDMC and facilitate caspase-8 activation, resulting in pyroptotic death in breast cancer cells (Hou et al., 2020). Pizato et al. found that compared with untreated breast cancer cells, caspase-1 was activated, gasdermin D was cleaved, IL-1 β secretion was enhanced, and high mobility group protein B1 (HMGB1) was secreted in breast cancer cells treated with docosahexaenoic acid (DHA). It is proved that DHA can induce pyroptosis in breast cancer cells (Pizato et al., 2018). GSDME expression was shown to be low in various malignancies, and low levels of GSDME were also linked to poor breast cancer patient survival (Op de Beeck et al., 2012). The P2X7 signaling pathway has been linked to cancer (Burnstock and Verkhratsky, 2010; Fu et al., 2009). Ivermectin regulates the sensitivity of extracellular ATP and HMGB1 by mediating P2X4/P2X7-gated Pannexin-1 channel, and activates caspase-1 to induce apoptosis and pyroptosis (Draganov et al., 2015).

Conclusion. Pyroptosis has been clarified as an inflammatory and planned mode of cell death, but there are still some questions to be answered, such as what function other members of the gasdermin family play in pyroptosis.

Pyroptosis plays an important role in the maintenance of normal physiological function and morphology of tissues. At the same time, it is also involved in the occurrence of severe pathological damage and the development of clinical diseases, especially in tumor.

More and more researches focus on the phenomenon of pyroptosis in tumors, and the current research mainly focuses on the compounds or molecules activating inflammasomes such as NLRP1/3, NLRC4, and AIM2 and promoting cell pyroptosis. They have the potential to become new drugs for treating tumors. However, we do not fully understand the mechanism that these molecules affect tumor cell pyroptosis. Future research towards elucidating the mechanism of pyroptosis will help us improve our understanding of tumor cell pyroptosis and help develop anti-tumor drugs based on pyroptosis.

References:

1. Dutta, P., Courties, G., Wei, Y., Leuschner, F., Gorbатов, R., Robbins, C. S., Iwamoto, Y., Thompson, B., Carlson, A. L., & Heidt, T. (2012). Myocardial infarction accelerates atherosclerosis. *Nature*, 487(7407), 325-329. doi:10.1038/nature11260.
2. Rogers, C., Fernandes-Alnemri, T., Mayes, L., Alnemri, D., Cingolani, G., & Alnemri, E. S. J. N. c. (2017). Cleavage of DFNA5 by caspase-3 during apoptosis mediates progression to secondary necrotic/pyroptotic cell death. *Nature*, 8(1), 1-14. doi:10.1038/ncomms14128.
3. Tsuboyama, K., Koyama-Honda, I., Sakamaki, Y., Koike, M., Morishita, H., & Mizushima, N. (2016). The ATG conjugation systems are important for degradation of the inner autophagosomal membrane. *Science*, 354(6315), 1036-1041. doi:10.1126/science.aaf6136.

4. Xu, W., & Huang, Y. (2022). Regulation of Inflammatory Cell Death by Phosphorylation. *Frontiers in Immunology*, 13. doi:10.3389/fimmu.
5. Riedl, S. J., & Shi, Y. (2004). Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nature reviews Molecular cell biology*, 5(11), 897-907. doi:10.1038/nrm1496.
6. Walle, L. V., & Lamkanfi, M. (2016). Pyroptosis. *Current Biology*, 26(13), R568-R572. doi:10.1016/j.cub.2016.02.019.
7. Shi, J., Zhao, Y., Wang, Y., Gao, W., Ding, J., Li, P., Hu, L., & Shao, F. (2014). Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature*, 514(7521), 187-192. doi:10.1038/nature13683.
8. Shi, J., Zhao, Y., Wang, K., Shi, X., Wang, Y., Huang, H., Zhuang, Y., Cai, T., Wang, F., & Shao, F. (2015). Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 526(7575), 660-665. doi:10.1038/nature15514.
9. Shi, J., Gao, W., & Shao, F. (2017). Pyroptosis: gasdermin-mediated programmed necrotic cell death. *Trends in biochemical sciences*, 42(4), 245-254. doi:10.1016/j.tibs.2016.10.004.
10. Li, J., Ma, C., & Di, D. (2022). A narrative review of pyrolysis and its role in ulcerative colitis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 26(4), 1156-1163. doi:10.26355/eurrev_202202_28107.
11. Wang, F., Liu, W., Ning, J., Wang, J., Lang, Y., Jin, X., Zhu, K., Wang, X., Li, X., & Yang, F. (2018). Simvastatin suppresses proliferation and migration in non-small cell lung cancer via pyroptosis. *International journal of biological sciences*, 14(4), 406. doi:10.7150/ijbs.23542.
12. Sannino, F., Sansone, C., Galasso, C., Kildgaard, S., Tedesco, P., Fani, R., Marino, G., de Pascale, D., Ianora, A., & Parrilli, E. (2018). Pseudoalteromonas haloplanktis TAC125 produces 4-hydroxybenzoic acid that induces pyroptosis in human A459 lung adenocarcinoma cells. *Scientific reports*, 8(1), 1-10. doi:10.1038/s41598-018-19536-2.
13. Jorgensen, I., Rayamajhi, M., & Miao, E. A. (2017). Programmed cell death as a defence against infection. *Nature reviews immunology*, 17(3), 151-164. doi:10.1038/nri.2016.147.
14. Vanden Berghe, T., Hassannia, B., & Vandenabeele, P. (2016). An outline of necrosome triggers. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(11), 2137-2152. doi: 10.1007/s00018-016-2189-y.
15. Eckhart, L., Ballaun, C., Hermann, M., VandeBerg, J. L., Sipos, W., Uthman, A., Fischer, H., Tschachler, E., & evolution. (2008). Identification of novel mammalian caspases reveals an important role of gene loss in shaping the human caspase repertoire. *Molecular biology*, 25(5), 831-841. doi: 10.1093/molbev/msn012.
16. Wang, Y., Gao, W., Shi, X., Ding, J., Liu, W., He, H., Wang, K., & Shao, F. (2017). Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin. *Nature*, 547(7661), 99-103. doi:10.1038/nature22393.
17. Demarco, B., Grayczyk, J. P., Bjanec, E., Le Roy, D., Tonnus, W., Assenmacher, C.-A., Radaelli, E., Fettelet, T., Mack, V., & Linkermann, A. (2020). Caspase-8-dependent gasdermin D cleavage promotes antimicrobial defense but confers susceptibility to TNF-induced lethality. *Science advances*, 6(47), eabc3465. doi:10.1126/sciadv.abc346.
18. Bergsbaken, T., Fink, S. L., & Cookson, B. T. (2009). Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nature Reviews Microbiology*, 7(2), 99-109. doi:10.1038/nrmicro2070.
19. Yazdi, A. S., Guarda, G., D'Ombria, M. C., & Drexler, S. K. (2010). Inflammatory caspases in innate immunity and inflammation. *Journal of innate immunity*, 2(3), 228-237. doi:10.1159/000283688.
20. Aglietti, R. A., & Dueber, E. C. (2017). Recent insights into the molecular mechanisms underlying pyroptosis and gasdermin family functions. *Trends in immunology*, 38(4), 261-271. doi:10.1016/j.it.2017.01.003.
21. Kovacs, S. B., & Miao, E. A. (2017). Gasdermins: effectors of pyroptosis. *Trends in cell biology*, 27(9), 673-684. doi:10.1016/j.tcb.2017.05.005.
22. Tamura, M., Tanaka, S., Fujii, T., Aoki, A., Komiyama, H., Ezawa, K., Sumiyama, K., Sagai, T., & Shiroishi, T. (2007). Members of a novel gene family, Gsdm, are expressed exclusively in the epithelium of the skin and gastrointestinal tract in a highly tissue-specific manner. *Genomics*, 89(5), 618-629. doi:10.1016/j.ygeno.2007.01.003.
23. Das, S., Miller, M., Beppu, A. K., Mueller, J., McGeough, M. D., Vuong, C., Karta, M. R., Rosenthal, P., Chouiali, F., & Doherty, T. A. (2016). GSDMB induces an asthma phenotype characterized by increased airway responsiveness and remodeling without lung inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(46), 13132-13137. doi:10.1073/pnas.1610433113.
24. Saeki, N., Usui, T., Aoyagi, K., Kim, D. H., Sato, M., Mabuchi, T., Yanagihara, K., Ogawa, K., Sakamoto, H., & Yoshida, T. (2009). Distinctive expression and function of four GSDM family genes (GSDMA-D) in normal and malignant upper gastrointestinal epithelium. *Genes Chromosomes Cancer*, 48(3), 261-271. doi:10.1002/gcc.20636.
25. Ruan, J. (2019). Structural insight of gasdermin family driving pyroptotic cell death. *Structural Immunology*, 189-205. doi:10.1007/978-981-13-9367-9_9.
26. Feng, S., Fox, D., & Man, S. M. (2018). Mechanisms of gasdermin family members in inflammasome signaling and cell death. *Journal of molecular biology*, 430(18), 3068-3080. doi:10.1016/j.jmb.2018.07.002.
27. Zhao, Y., Shi, J., & Shao, F. (2018). Inflammatory caspases: activation and cleavage of gasdermin-D in vitro and during pyroptosis. In *Innate Immune Activation* (pp. 131-148): Springer.
28. Evavold, C. L., Ruan, J., Tan, Y., Xia, S., Wu, H., & Kagan, J. C. (2018). The pore-forming protein gasdermin D regulates interleukin-1 secretion from living macrophages. *Immunity*, 48(1), 35-44. e36. doi: 10.1016/j.immuni.2017.11.013.
29. Wang, Y., Yin, B., Li, D., Wang, G., Han, X., & Sun, X. (2018). GSDME mediates caspase-3-dependent pyroptosis in gastric cancer. *Biochemical biophysical research communications*, 495(1), 1418-1425. doi:10.1016/j.bbrc.2017.11.156.
30. Zhang, X., & Zhang, H. (2018). Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3-dependent cleavage of GSDME. *Sci China Life Sci*, 61(6), 739-740. doi:10.1007/s11427-017-9158-x.
31. Yu, X., & He, S. (2017). GSDME as an executioner of chemotherapy-induced cell death. *Sci China Life Sci*, 60(11), 1291-1294. doi:10.1007/s11427-017-9142-2.

32. Ji, N., Qi, Z., Wang, Y., Yang, X., Yan, Z., Li, M., Ge, Q., & Zhang, J. (2021). Pyroptosis: a new regulating mechanism in cardiovascular disease. *Journal of Inflammation Research*, 14, 2647. doi:10.2147/JIR.S308177.
33. Slaats, J., Ten Oever, J., van de Veerdonk, F. L., & Netea, M. G. (2016). IL-1 β /IL-6/CRP and IL-18/ferritin: distinct inflammatory programs in infections. *PLoS Pathogens*, 12(12), e1005973. doi:10.1371/journal.ppat.1005973.
34. Wu, Y., Zhang, J., Yu, S., Li, Y., Zhu, J., Zhang, K., & Zhang, R. (2022). Cell pyroptosis in health and inflammatory diseases. *Cell death discovery*, 8(1), 1-8. doi:10.1038/s41420-022-00998-3.
35. Frank, D., Vince, J. E., & Differentiation. (2019). Pyroptosis versus necroptosis: similarities, differences, and crosstalk. *Cell death*, 26(1), 99-114. doi:10.1038/s41418-018-0212-6.
36. Xia, X., Wang, X., Cheng, Z., Qin, W., Lei, L., Jiang, J., & Hu, J. (2019). The role of pyroptosis in cancer: pro-cancer or pro-“host”? *Cell death disease*, 10(9), 1-13. doi:10.1038/s41419-019-1883-8.
37. Broz, P. (2015). Immunology: Caspase target drives pyroptosis. *Nature*, 526(7575), 642-643. doi:10.1038/nature15632.
38. Grootjans, S., Vanden Berghe, T., & Vandenabeele, P. (2017). Initiation and execution mechanisms of necroptosis: an overview. *Cell Death Differentiation*, 24(7), 1184-1195. doi:10.1038/cdd.2017.65.
39. Chen, X., He, W.-t., Hu, L., Li, J., Fang, Y., Wang, X., Xu, X., Wang, Z., Huang, K., & Han, J. (2016). Pyroptosis is driven by non-selective gasdermin-D pore and its morphology is different from MLKL channel-mediated necroptosis. *Cell Research*, 26(9), 1007-1020. doi:10.1038/cr.2016.100.
40. Sborgi, L., Rühl, S., Mulvihill, E., Pipercevic, J., Heilig, R., Stahlberg, H., Farady, C. J., Müller, D. J., Broz, P., & Hiller, S. (2016). GSDMD membrane pore formation constitutes the mechanism of pyroptotic cell death. *The EMBO journal*, 35(16), 1766-1778. doi:10.15252/embj.201694696.
41. He, W.-t., Wan, H., Hu, L., Chen, P., Wang, X., Huang, Z., Yang, Z.-H., Zhong, C.-Q., & Han, J. (2015). Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 β secretion. *Cell Research*, 25(12), 1285-1298. doi:10.1038/cr.2015.139.
42. Kayagaki, N., Stowe, I. B., Lee, B. L., O'Rourke, K., Anderson, K., Warming, S., Cuellar, T., Haley, B., Roose-Girma, M., & Phung, Q. T. (2015). Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature*, 526(7575), 666-671. doi:10.1038/nature15541.
43. Jorgensen, I., & Miao, E. A. (2015). Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens. *Immunological reviews*, 265(1), 130-142. doi:10.1111/imr.12287.
44. Martinon, F., & Tschopp, J. (2004). Inflammatory caspases: linking an intracellular innate immune system to autoinflammatory diseases. *Cell*, 117(5), 561-574. doi:10.1016/j.cell.2004.05.004.
45. Yang, D., He, Y., Muñoz-Planillo, R., Liu, Q., & Núñez, G. (2015). Caspase-11 requires the pannexin-1 channel and the purinergic P2X7 pore to mediate pyroptosis and endotoxic shock. *Immunity*, 43(5), 923-932. doi:10.1016/j.immuni.2015.10.009.
46. Ding, J., Wang, K., Liu, W., She, Y., Sun, Q., Shi, J., Sun, H., Wang, D.-C., & Shao, F. (2016). Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family. *Nature*, 535(7610), 111-116. doi:10.1038/nature18590.
47. Hyman, B. T., & Yuan, J. (2012). Apoptotic and non-apoptotic roles of caspases in neuronal physiology and pathophysiology. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(6), 395-406. doi:10.1038/nrn3228.
48. Chavarría-Smith, J., & Vance, R. E. (2015). The NLRP 1 inflammasomes. *Immunological reviews*, 265(1), 22-34. doi:10.1111/imr.12283.
49. Orning, P., Weng, D., Starheim, K., Ratner, D., Best, Z., Lee, B., Brooks, A., Xia, S., Wu, H., & Kelliher, M. A. (2018). Pathogen blockade of TAK1 triggers caspase-8-dependent cleavage of gasdermin D and cell death. *Science*, 362(6418), 1064-1069. doi:10.1126/science.aau2818.
50. Hou, J., Zhao, R., Xia, W., Chang, C.-W., You, Y., Hsu, J.-M., Nie, L., Chen, Y., Wang, Y.-C., & Liu, C. (2020). PD-L1-mediated gasdermin C expression switches apoptosis to pyroptosis in cancer cells and facilitates tumour necrosis. *Nature cell biology*, 22(10), 1264-1275. doi:10.1038/s41556-020-0575-z.
51. Mehta, A., Prabhakar, M., Kumar, P., Deshmukh, R., & Sharma, P. (2013). Excitotoxicity: bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. *European journal of pharmacology*, 698(1-3), 6-18. doi:10.1016/j.ejphar.2012.10.032.
52. Zhou, Z., He, H., Wang, K., Shi, X., Wang, Y., Su, Y., Wang, Y., Li, D., Liu, W., & Zhang, Y. (2020). Granzyme A from cytotoxic lymphocytes cleaves GSDMB to trigger pyroptosis in target cells. *Science*, 368(6494), eaaz7548. doi:10.1126/science.aaz7548.
53. Demkow, U. (2021). Neutrophil extracellular traps (NETs) in cancer invasion, evasion and metastasis. *Cancers*, 13(17), 4495. doi:10.3390/cancers13174495.
54. Liu, X., Zhang, Z., Ruan, J., Pan, Y., Magupalli, V. G., Wu, H., & Lieberman, J. (2016). Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. *Nature*, 535(7610), 153-158. doi:10.1038/nature18629.
55. Poli, G., Brancorsini, S., Cochetti, G., Barillaro, F., Egidi, M. G., & Mearini, E. (2015). Expression of inflammasome-related genes in bladder cancer and their association with cytokeratin 20 messenger RNA. Paper presented at the Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations.
56. Banerjee, D., Chakraborty, B., & Chakraborty, B. (2017). Anthrax: Where margins are merging between emerging threats and bioterrorism. *Indian journal of dermatology*, 62(5), 456. doi:10.4103/ijd.IJD_378_17.
57. Zheng, Z., Wei, C., Guan, K., Yuan, Y., Zhang, Y., Ma, S., Cao, Y., Wang, F., Zhong, H., & He, X. (2016). Bacterial E3 ubiquitin ligase IpaH4. 5 of *Shigella flexneri* targets TBK1 to dampen the host antibacterial response. *The Journal of Immunology*, 196(3), 1199-1208. doi:10.4049/jimmunol.1501045.
58. Gong, W., Shi, Y., & Ren, J. (2020). Research progresses of molecular mechanism of pyroptosis and its related diseases. *Immunobiology*, 225(2), 151884. doi:10.1016/j.imbio.2019.11.019.

59. Tien, M.-T., Girardin, S. E., Regnault, B., Le Bourhis, L., Dillies, M.-A., Coppée, J.-Y., Bourdet-Sicard, R., Sansonetti, P. J., & Pédrón, T. (2006). Anti-inflammatory effect of *Lactobacillus casei* on *Shigella*-infected human intestinal epithelial cells. *The Journal of Immunology*, 176(2), 1228-1237. doi:10.4049/jimmunol.176.2.1228.
60. Lei, X., Zhang, Z., Xiao, X., Qi, J., He, B., & Wang, J. (2017). Enterovirus 71 inhibits pyroptosis through cleavage of gasdermin D. *Journal of virology*, 91(18), e01069-01017. doi:10.1128/JVI.01069-17.
61. Benjamin, E. J., Blaha, M. J., Chiuve, S. E., Cushman, M., Das, S. R., Deo, R., De Ferranti, S. D., Floyd, J., Fornage, M., & Gillespie, C. (2017). Heart disease and stroke statistics—2017 update: a report from the American Heart Association. *circulation*, 135(10), e146-e603. doi:10.1161/CIR.0000000000000485.
62. Zhang, Y., Liu, X., Bai, X., Lin, Y., Li, Z., Fu, J., Li, M., Zhao, T., Yang, H., & Xu, R. (2018). Melatonin prevents endothelial cell pyroptosis via regulation of long noncoding RNA MEG3/miR-223/NLRP3 axis. *Journal of pineal research*, 64(2), e12449. doi:10.1111/jpi.12449.
63. Pan, J., Han, L., Guo, J., Wang, X., Liu, D., Tian, J., Zhang, M., & An, F. (2018). AIM2 accelerates the atherosclerotic plaque progressions in ApoE^{-/-} mice. *Biochemical biophysical research communications*, 498(3), 487-494. doi:10.1016/j.bbrc.2018.03.005.
64. Hang, L., Peng, Y., Xiang, R., Li, X., & Li, Z. (2020). Ox-LDL causes endothelial cell injury through ASK1/NLRP3-mediated inflammasome activation via endoplasmic reticulum stress. *Drug Design, Development Therapy*, 14, 731. doi:10.2147/DDDT.S231916.
65. Zeng, Z., Jiaojiao, C., Peng, W., Yami, L., Tingting, Z., Jun, T., Shiyuan, W., Jinyan, X., Dangheng, W., & Zhisheng, J. (2019). OxLDL induces vascular endothelial cell pyroptosis through miR-125a-5p/TET2 pathway. *Journal of Cellular Physiology*, 234(5), 7475-7491. doi:10.1002/jcp.27509.
66. Zhou, Z., Zhu, X., Yin, R., Liu, T., Yang, S., Zhou, L., Pan, X., & Ma, A. (2020). K63 ubiquitin chains target NLRP3 inflammasome for autophagic degradation in ox-LDL-stimulated THP-1 macrophages. *Aging*, 12(2), 1747. doi:10.18632/aging.102710.
67. Tan, M., Tan, L., Jiang, T., Zhu, X., Wang, H., Jia, C., & Yu, J. (2014). Amyloid- β induces NLRP1-dependent neuronal pyroptosis in models of Alzheimer's disease. *Cell death disease*, 5(8), e1382-e1382. doi:10.1038/cddis.2014.348.
68. Hu, Y., Wang, B., Li, S., & Yang, S. (2022). Pyroptosis, and its role in central nervous system disease. *Journal of molecular biology*, 434(4), 167379. doi:10.1016/j.jmb.2021.167379.
69. Wang, S., Yuan, Y.-H., Chen, N.-H., & Wang, H.-B. (2019). The mechanisms of NLRP3 inflammasome/pyroptosis activation and their role in Parkinson's disease. *International immunopharmacology*, 67, 458-464. doi:10.1016/j.intimp.2018.12.019.
70. Barrington, J., Lemarchand, E., & Allan, S. M. (2017). A brain in flame; do inflammasomes and pyroptosis influence stroke pathology? *Brain Pathology*, 27(2), 205-212. doi:10.1111/bpa.12476.
71. D Fann, Y.-W., Lee, S., Manzanero, S., Tang, S.-C., Gelderblom, M., Chunduri, P., Bernreuther, C., Glatzel, M., Cheng, Y.-L., & Thundiyil, J. (2013). Intravenous immunoglobulin suppresses NLRP1 and NLRP3 inflammasome-mediated neuronal death in ischemic stroke. *Cell death disease*, 4(9), e790-e790. doi:10.1038/cddis.2013.326.
72. Xu, P., Zhang, X., Liu, Q., Xie, Y., Shi, X., Chen, J., Li, Y., Guo, H., Sun, R., & Hong, Y. (2019). Microglial TREM-1 receptor mediates neuroinflammatory injury via interaction with SYK in experimental ischemic stroke. *Cell death disease*, 10(8), 1-17. doi:10.1038/s41419-019-1777-9.
73. Zhou, Y., Gu, Y., & Liu, J. (2019). BRD4 suppression alleviates cerebral ischemia-induced brain injury by blocking glial activation via the inhibition of inflammatory response and pyroptosis. *Biochemical biophysical research communications*, 519(3), 481-488. doi:10.1016/j.bbrc.2019.07.097.
74. Kim, H., Seo, J. S., Lee, S.-Y., Ha, K.-T., Choi, B. T., Shin, Y.-I., Yun, Y. J., & Shin, H. K. (2020). AIM2 inflammasome contributes to brain injury and chronic post-stroke cognitive impairment in mice. *Brain, Behavior, Immunity*, 87, 765-776. doi:10.1016/j.bbi.2020.03.011.
75. Li, Q., Cao, Y., Dang, C., Han, B., Han, R., Ma, H., Hao, J., & Wang, L. (2020). Inhibition of double-strand DNA-sensing cGAS ameliorates brain injury after ischemic stroke. *EMBO molecular medicine*, 12(4), e11002. doi:10.15252/emmm.201911002.
76. Chen, L. C., Wang, L. J., Tsang, N. M., Ojcius, D. M., Chen, C. C., OuYang, C. N., Hsueh, C., Liang, Y., Chang, K. P., & Chen, C. C. (2012). Tumour inflammasome-derived IL-1 β recruits neutrophils and improves local recurrence-free survival in EBV-induced nasopharyngeal carcinoma. *EMBO molecular medicine*, 4(12), 1276-1293. doi:10.1002/emmm.201201569.
77. Dinarello, C. A. (2010). Why not treat human cancer with interleukin-1 blockade? *Cancer Metastasis Reviews*, 29(2), 317-329. doi:10.1007/s10555-010-9229-0.
78. Zhang, H., Li, L., & Liu, L. (2018). Fc γ RI (CD64) contributes to the severity of immune inflammation through regulating NF- κ B/NLRP3 inflammasome pathway. *Life sciences*, 207, 296-303. doi:10.1016/j.lfs.2018.06.015.
79. Ungerbäck, J., Belenki, D., Jawad ul-Hassan, A., Fredrikson, M., Fransén, K., Elander, N., Verma, D., & Söderkvist, P. (2012). Genetic variation and alterations of genes involved in NF κ B/TNFAIP3-and NLRP3-inflammasome signaling affect susceptibility and outcome of colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 33(11), 2126-2134. doi:10.1093/carcin/bgs256.
80. Wang, Y., Kong, H., Zeng, X., Liu, W., Wang, Z., Yan, X., Wang, H., & Xie, W. (2016). Activation of NLRP3 inflammasome enhances the proliferation and migration of A549 lung cancer cells. *Oncology reports*, 35(4), 2053-2064. doi:10.3892/or.2016.4569.
81. Ma, X., Guo, P., Qiu, Y., Mu, K., Zhu, L., Zhao, W., Li, T., & Han, L. (2016). Loss of AIM2 expression promotes hepatocarcinoma progression through activation of mTOR-S6K1 pathway. *Oncotarget*, 7(24), 36185. doi:10.18632/oncotarget.9154.

82. Brostjan, C., & Oehler, R. (2020). The role of neutrophil death in chronic inflammation and cancer. *Cell death discovery*, 6(1), 1-8. doi:10.1038/s41420-020-0255-6.
83. Hong, Q. Y., Wu, G.-M., Qian, G. S., Hu, C. P., Zhou, J. Y., Chen, L. A., Li, W. M., Li, S. Y., Wang, K., & Wang, Q. J. (2015). Prevention and management of lung cancer in China. *Cancer Metastasis Reviews*, 121(S17), 3080-3088. doi:10.1002/cncr.29584.
84. Sun, R., Wang, R., Chang, S., Li, K., Sun, R., Wang, M., & Li, Z. (2019). Long non-coding RNA in drug resistance of non-small cell lung cancer: a mini review. *Frontiers in Pharmacology*, 1457. doi:10.3389/fphar.2019.01457.
85. Gao, J., Qiu, X., Xi, G., Liu, H., Zhang, F., Lv, T., & Song, Y. (2018). Downregulation of GSDMD attenuates tumor proliferation via the intrinsic mitochondrial apoptotic pathway and inhibition of EGFR/Akt signaling and predicts a good prognosis in nonsmall cell lung cancer. *Oncology reports*, 40(4), 1971-1984. doi:10.3892/or.2018.6634.
86. Peng, J., Chen, X., Cheng, H., Xu, Z., Wang, H., Shi, Z., Liu, J., Ning, X., & Peng, H. (2019). Silencing of KCNK15AS1 inhibits lung cancer cell proliferation via upregulation of miR202 and miR370. *Oncology letters*, 18(6), 5968-5976. doi:10.3892/ol.2019.10944.
87. Xi, G., Gao, J., Wan, B., Zhan, P., Xu, W., Lv, T., & Song, Y. (2019). GSDMD is required for effector CD8+ T cell responses to lung cancer cells. *International immunopharmacology*, 74, 105713. doi:10.1016/j.intimp.2019.105713.
88. Lu, H., Zhang, S., Wu, J., Chen, M., Cai, M.-C., Fu, Y., Li, W., Wang, J., Zhao, X., & Yu, Z. (2018). Molecular targeted therapies elicit concurrent apoptotic and GSDME-dependent pyroptotic tumor cell death. *Clinical Cancer Research*, 24(23), 6066-6077. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-1478.
89. Zhang, C.-c., Li, C.-g., Wang, Y.-f., Xu, L.-h., He, X.-h., Zeng, Q.-z., Zeng, C.-y., Mai, F.-y., Hu, B., & Ouyang, D.-y. (2019). Chemotherapeutic paclitaxel and cisplatin differentially induce pyroptosis in A549 lung cancer cells via caspase-3/GSDME activation. *Apoptosis*, 24(3), 312-325. doi:10.1007/s10495-019-01515-1.
90. Graham, D. Y. (2015). Helicobacter pylori update: gastric cancer, reliable therapy, and possible benefits. *Gastroenterology*, 148(4), 719-731. e713. doi: 10.1053/j.gastro.2015.01.040.
91. Wei, L., Sun, J., Zhang, N., Zheng, Y., Wang, X., Lv, L., Liu, J., Xu, Y., Shen, Y., & Yang, M. (2020). Noncoding RNAs in gastric cancer: implications for drug resistance. *Molecular cancer*, 19(1), 1-17. doi:10.1186/s12943-020-01185-7.
92. Komiyama, H., Aoki, A., Tanaka, S., Maekawa, H., Kato, Y., Wada, R., Maekawa, T., Tamura, M., & Shiroishi, T. (2010). Alu-derived cis-element regulates tumorigenesis-dependent gastric expression of GASDERMIN B (GSDMB). *Genes genetic systems*, 85(1), 75-83. doi:10.1266/ggs.85.75.
93. Wang, W. J., Chen, D., Jiang, M. Z., Xu, B., Li, X. W., Chu, Y., Zhang, Y. J., Mao, R., Liang, J., & Fan, D. M. (2018). Downregulation of gasdermin D promotes gastric cancer proliferation by regulating cell cycle-related proteins. *Journal of digestive diseases*, 19(2), 74-83. doi:10.1111/1751-2980.12576.
94. Hergueta-Redondo, M., Sarrío, D., Molina-Crespo, Á., Megias, D., Mota, A., Rojo-Sebastian, A., García-Sanz, P., Morales, S., Abril, S., & Cano, A. (2014). Gasdermin-B promotes invasion and metastasis in breast cancer cells. *PloS one*, 9(3), e90099. doi:10.1371/journal.pone.0090099.
95. Pizato, N., Luzete, B. C., Kiffer, L. F. M. V., Corrêa, L. H., de Oliveira Santos, I., Assumpção, J. A. F., Ito, M. K., & Magalhães, K. G. (2018). Omega-3 docosahexaenoic acid induces pyroptosis cell death in triple-negative breast cancer cells. *Scientific reports*, 8(1), 1-12. doi:10.1038/s41598-018-20422-0.
96. Op de Beeck, K., Van Laer, L., & Van Camp, G. (2012). DFNA5, a gene involved in hearing loss and cancer: a review. *Annals of Otology, Rhinology Laryngology*, 121(3), 197-207. doi:10.1177/000348941212100310.
97. Burnstock, G., & Verkhratsky, A. (2010). Long-term (trophic) purinergic signalling: purinoceptors control cell proliferation, differentiation and death. *Cell death disease*, 1(1), e9-e9. doi:10.1038/cddis.2009.11.
98. Fu, W., McCormick, T., Qi, X., Luo, L., Zhou, L., Li, X., Wang, B.-C., Gibbons, H. E., Abdul-Karim, F. W., & Gorodeski, G. I. (2009). Activation of P2X 7-mediated apoptosis Inhibits DMBA/TPA-induced formation of skin papillomas and cancer in mice. *BMC cancer*, 9(1), 1-20. doi:10.1186/1471-2407-9-114.
99. Draganov, D., Gopalakrishna-Pillai, S., Chen, Y.-R., Zuckerman, N., Moeller, S., Wang, C., Ann, D., & Lee, P. P. (2015). Modulation of P2X4/P2X7/Pannexin-1 sensitivity to extracellular ATP via Ivermectin induces a non-apoptotic and inflammatory form of cancer cell death. *Scientific reports*, 5(1), 1-17. doi:10.1038/srep16222.
100. Mingcheng Liu, Kasianenko Oksana (2021). Extraction and reverse transcription of total RNA from mouse brain-derived endothelial cells.3 infected by *Streptococcus suis* 2. Proceedings of the 5th Annual Conference 28 October 2021 Tallinn, Estonia "Technology transfer: innovative solutions in medicine", 39–41.
101. Mingcheng Liu, Kasianenko Oksana (2022). Gasdermin and its role in pyroptosis. Proceedings of the III CISP conference «Science of post-industrial society: globalization and transformation processes». Grail of Science, № 17 (2022):207–209/

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

Мінченг Люй, аспірант, Сумський національний аграрний університет, Суми, Україна, Хенанський інститут науки і технологій, Хенань, Китай

Молекулярний механізм піроптозу та пов'язаних з ним захворювань

Основною структурною одиницею будови живих організмів є клітина, яка відіграє важливу роль у метаболічних процесах, виникненні та розвитку захворювань. Піроптоз – це захисний механізм вродженого імунітету, що унеможливорює розмноження внутрішньоклітинних патогенів. Піроптоз є формою запрограмованої некротичної загибелі клітини. За піроптозу, на відміну від інших процесів, а саме апоптозу та некрозу, в результаті активації каспази відбувається порушення цілісності плазматичної мембрани. Даний процес

має особливості і відрізняється механізмом виникнення та морфологічними характеристиками процесу. Коли клітина піддається піроптозу, ядро конденсується з утворенням піроптотичного тіла. У клітинній мембрані з'являються численні пори, клітина набухає і розривається, вивільняючи свій вміст. Каспаза є гомологічним і протеолітичним ферментом у цитоплазмі клітин, який вибірково розпізнає та розщеплює пептидні зв'язки. Каспаза може індукувати різні механізми розвитку піроптозу. Крім того, газдермін також відіграє важливу роль у процесі піроптозу. Газдерміни – це функціонально різноманітні білки, що експресуються в різних типах клітин і тканин. Газдерміни представлені 6 видами білків. Після розщеплення газдерміни можна розділити на фрагменти N і C. N-фрагмент може спричинює процес утворення пор в клітинній мембрані, що призводить до набряку клітини, розриву, відтоку цитокінів та іншого вмісту, запускаючи процес імунної відповіді організму та спричинюючи процес піроптозу. Процес виникнення піроптозу розрізняють на класичний шлях і некласичний. Класичний процес в основному залежить від каспази-1, тоді як некласичний – від активації каспази-4/5/11. Як спосіб загибелі клітин, піроптоз нерозривно пов'язаний із захворюваннями. Інфламасоми та цитокіни, що утворюються в процесі піроптозу, можуть викликати запальну реакцію в організмі, що може призвести до прояву інфекційних, неврологічних та онкологічних захворювань. За інфекційних захворювань піроптоз тісно пов'язаний з інфекційними процесами, етіологічним чинником яких є бактерії, мікроскопічні гриби та віруси. Патогени ідентифікуються специфічними білками (інфламасомами та каспазами) і, відповідно, і в клітинах організму активізуються піроптотичні процеси. Збудники інфекційних захворювань є основним етіологічним фактором індукції піроптозу. При серцево-судинних захворюваннях високий вміст жиру може викликати збільшення активних форм кисню, що спричинює піроптоз ендотеліальних клітин, а також активізує процес розвитку атеросклерозу та інсульту. Піроптоз нервових клітин бере участь у патогенезі прогресування дегенеративних захворювань центральної нервової системи, таких як хвороба Альцгеймера та хвороба Паркінсона. Піроптоз може як пригнічувати появу пухлин, так і створювати оптимальні умови для їх росту і розвитку.

Ключові слова: молекулярний механізм, піроптоз, захворювання

ТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА КОРМІВ ІЗ РІЗНИМИ РІВНЯМИ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ЛЮМІНЕСЦЕНТНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM*

Курбацька Олена Володимирівна

аспірант

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

ORCID: 0000-0003-1348-2638

olimp988429@ukr.net

Оробченко Олександр Леонідович

доктор ветеринарних наук, старший науковий співробітник

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

ORCID: 0000-0002-0885-7776

toxi-lab@ukr.net

Надання токсико-гігієнічної оцінки токсичним контамінантам різного походження (в тому числі й мікроелементам) широко проводиться у країнах Європи, Азії та Америки. Нині для цих цілей важливу роль відіграє біотестування з використанням про- та еукаріотичних організмів у якості тест-моделей, при чому на перший план висувуються біотести з використанням живих біолюмінесцентних бактерій, які вирізняються з поміж інших тим, що як параметр життєдіяльності вимірюється інтенсивність їх світіння. Метою даної роботи було провести токсикологічну оцінку кормів із різними рівнями мікроелементів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*. За умов дослідження мікроелементів у якості «матриці» було використано кукурудзяну крупу, що не володіла токсичними властивостями. Мікроелементи використовували у формі Державних стандартних зразків, а саме: Ферум, Кобальт, Манган, Селен, Нікель, Хром і Бром. У якості тест-культури використовували ліофілізовану культуру *Photobacterium phosphoreum* (штам ІМВ В-7071; Sq3), отриману із Депозитарію мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного Національної академії наук України (м. Київ). Перед внесенням мікроелементів у корм попередньо досліджували «матрицю» на їх вміст (фон). Токсиканти вносили в «матрицю» у різних концентраціях з урахуванням «фонових» показників (по 5 серій), що готували шляхом розведення в дистильованій воді, залежно від максимально допустимого рівня. В результаті виконання роботи встановлено можливість використання люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum* (штам ІМВ В-7071; Sq3) для експресної токсикологічної оцінки кормів з різними рівнями мікроелементів, що базується на зниженні інтенсивності світіння. Проте, якщо для Co, Mn, Ni, Se, Cr і Br за умов дослідження корму з вмістом мікроелементів на максимально допустимих рівнях (МДР) (2,0; 120,0; 3,0; 0,5; 1,0 і 10,0 мг/кг відповідно) корм характеризувався як нетоксичний, то для Fe за МДР (750,0 мг/кг) корм характеризувався як сильно токсичний, що свідчить про необхідність подальших досліджень з вивчення токсикологічної характеристики мікроелементу в організмі лабораторних і продуктивних тварин, можливо з подальшим переглядом (у бік зниження) МДР відповідного забруднювача у кормах в Україні. Перспективою подальших досліджень у цьому напрямку є токсикологічна оцінка кормів із різними рівнями пестицидів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*.

Ключові слова: біолюмінесценція; комбікорми; мікроелементи; токсичність; *Photobacterium phosphoreum*

DOI <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.2.4>

Вступ. Мікроелементи (МЕ) – це група хімічних елементів, які містяться в організмі людини й тварин у дуже малих кількостях, у межах 10^{-3} – 10^{-12} % від загальної маси тіла. Єдиною характерною рисою МЕ є їхня низька концентрація в живих тканинах. МЕ це не випадкові інгредієнти тканин і рідин живих організмів, а компоненти закономірної існуючої складної фізіологічної системи, що беруть участь у регулюванні життєвих функцій організмів на всіх стадіях розвитку (Pohorielov, 2010). Відповідно до класифікації МЕ за біологічною роллю для ссавців виділяють: життєво необхідні елементи (Цинк, Манган, Молібден, Йод, Селен, Ферум, Купрум, Кобальт), імовірно необхідні елементи (Титан, Ванадій, Хром, Нікель, Арсен, Бром, Стронцій, Кадмій) та елементи з маловивченою роллю (Цирконій, Бісмут, Рубідій та інші) (Prashanth et al., 2015).

Мікроелементи, що надходять до організму із кормом та водою в оптимальних кількостях, завдяки включенню

у біологічно активні сполуки (ензими, гормони, вітаміни) забезпечують нормальне функціонування організму (ріст, розвиток, здоров'я, розмноження) та беруть участь у багатьох фізіологічних, біохімічних і метаболічних процесах (Dias et al., 2016; Calderón Guzmán et al., 2019; Vincent, 2019; Younus et al., 2020; Gać et al., 2021; Vogt et al., 2021). Проте МЕ за певних умов можуть викликати і токсичні реакції, зокрема, за безконтрольного застосування мінеральних добавок та преміксів чи знаходження тварин на території біогеохімічних провінцій з підвищеним вмістом МЕ в компонентах раціону і воді (Balachandran et al., 2020; Magrone, 2020; Raisbeck, 2020; Wu et al., 2020; Zafalon et al., 2021; Orobchenko et al., 2022).

Саме тому надання токсико-гігієнічної оцінки токсичним контамінантам різного походження (в т. ч. й МЕ) широко проводиться у країнах Європи, Азії та Америки

(Chowdhury et al., 2018; Koch et al., 2021; Kozhanova et al., 2021). Слід зазначити, що для цих цілей нині важливу роль відіграє біотестування з використанням прота еукаріотичних організмів у якості тест-моделей, причому на перший план висуваються біотести з використанням живих біоломінесцентних бактерій, які вирізняються з поміж інших тим, що як параметр життєдіяльності вимірюється інтенсивність їх світіння (Menz et al., 2013; Fernández-Piñas et al., 2014; Ma et al., 2014; Kurbatska & Orobchenko, 2021a).

Нашими попередніми дослідженнями була розроблена методика визначення токсичності кормів з використанням бактерій *Photobacterium phosphoreum*, проте, перед впровадженням у практику ветеринарної медицини необхідно було переконатися в можливості її застосування відносно кормів з різними рівнями токсикантів (в тому числі і мікроелементів), тому метою даної роботи стало провести токсикологічну оцінку кормів із різними рівнями мікроелементів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*.

Матеріал і методи досліджень.

Дослідження проводили у лабораторії токсикологічного моніторингу Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (м. Харків).

Для виконання даної задачі у якості забруднювачів кормів були використані мікроелементи, більша частина яких регламентована Переліком максимально допустимих рівнів небажаних речовин у кормах та кормовій сировині для тварин (Ферум, Кобальт, Манган і Селен) (On approval of the List of maximum permissible levels..., 2017), а також максимально допустимих рівнях, наведених в літературі (Kutsan, Orobchenko & Kochergin, 2014; Stehni, Orobchenko & Koreneva, 2021).

За умов дослідження мікроелементів у якості «матриці» було використано кукурудзяну крупу, що не володіла токсичними властивостями. Мікроелементи використовували у формі Державних стандартних зразків (ДСЗ), а саме: Ферум, Кобальт, Манган, Селен, Нікель, Хром і Бром. Перед внесенням неорганічних елементів у корм попередньо досліджували «матрицю» на їх вміст. Токсиканти вносили в «матрицю» у різних концентраціях (по 5 серій), що готували шляхом розведення в дистильованій воді, залежно від максимально допустимого рівня (таблиця 1).

Наважку контрольної і дослідних «матриць» масою 10,0 г вносили до скляних флаконів, у дослідні проби вносили відповідну кількість ДСЗ мікроелементів і додавали 96° етанол об'ємом 20,0 см³ та екстрагували, залишаючи на 24 години, потім центрифугували при (1,5-2,0) тис. об./хв 10 хв, після чого відбирали надосадову рідину, яку в об'ємі 0,02 см³ додавали до (попередньо підготовленої і внесеної у кювету люмінометра) культуральної рідини в об'ємі 1,0 см³.

У якості тест-культури використовували ліофілізовану культуру *Photobacterium phosphoreum* (штам ІМВ В-7071; Sq3) (*Ph. phosphoreum*), отриману із Депозитарію мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного Національної академії наук України (м. Київ). Культивування фотобактерій під час досліду здійснювали у термостаті за температури (27±1) °С у пробірках на рідкому та щільному поживному середовищі, розробленому на основі наших попередніх досліджень (Orobchenko et al., 2020), протягом (22±2) год.

Інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* досліджували на люмінометрі EMILITE – 1003 А (БиоХимМак, російська федерація), спектральний діапазон люмінометра становив 350-950 нм. Під час тестування відмічали час експозиції та реєстрували зміни інтенсивності люмінесценції на приладі через (20-25) хв. Вимірювання проводили парами контроль-дослід. Для отримання вірогідних значень досліджувати по 6 повторностей контрольних і дослідних проб.

Для кількісної оцінки ступеня токсичності зразка відносно впливу різних рівнів мікроелементів на люмінесценцію бактерій *Ph. phosphoreum* використовували індекс токсичності (Т) – безрозмірну величину, що дорівнює співвідношенню (формула 1):

$$T = \frac{I_0 - I}{I_0} \times 100, \quad (1)$$

де I_0 та I – відповідно інтенсивність світіння контролю й досліду,

100 – коефіцієнт перерахунку.

Інтерпретували дані за трьома граничними рівнями індексу токсичності (таблиця 2).

Індекс токсичності «Т» відображає концентрацію важкого металу, яка викликає пригнічення світіння біосенсора (бактерії *Ph. phosphoreum*) за фіксованого часу експозиції досліджуваного зразка. В якості верхнього

Таблиця 1

Мікроелементи, які підлягали дослідженню відносно інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій

Назва забруднювача	Досліджувані рівні (доза), мг/кг корму	МДР, мг/кг корму
Ферум	75,0; 150,0; 750,0; 3750,0; 7500,0	750,0*
Кобальт	0,2; 0,4; 2,0; 10,0; 20,0	2,0*
Манган	12,0; 24,0; 120,0; 600,0; 1200,0	120,0*
Селен	0,05; 0,1; 0,5; 2,5; 5,0	0,50*
Нікель	0,3; 0,6; 3,0; 15,0; 30,0	3,0**
Хром	0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0	1,0**
Бром	1,0; 5,0; 10,0; 50,0; 100,0	10,0***

* – відповідно до On approval of the List of maximum permissible levels..., 2017;

** – відповідно до Kutsan, Orobchenko & Kochergin, 2014;

*** – відповідно до Stehni, Orobchenko & Koreneva, 2021.

граничного показника визначено зниження інтенсивності світіння бактерій на 50 % порівняно з контролем, що відображається індексом токсичності 50 і дозволяє віднести зразки з індексом токсичності 50 і вище до категорії «високотоксичні». Нижня межа індексу токсичності становить 20, що означає зниження світіння бактерій на 20 % порівняно з контролем і дозволяє віднести зразки з індексом токсичності 20 і нижче до «нетоксичних». Усі значення «Т» від 20 до 50 дозволяють класифікувати зразки як «токсичні», у яких, якщо правильно виконати розбавлення з нетоксичним аналогом, токсичність може бути зменшена.

Для отримання більш вірогідних даних дослідження були проведені у 6-ти повторностях. Результати даних досліджень дозволили розробити науково-методичні рекомендації (Kurbatska & Orobchenko, 2021b).

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакета програм дисперсійного аналізу (ANOVA) StatPlus 5(6.7.0.3) (AnalystSoft Inc., США). Вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Фішера за рівня вірогідності 95,0 % ($p < 0,05$).

Результати досліджень.

Вплив Феруму на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 1. За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Феруму до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 75,0 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на

10,4 %, а за рівня 150,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 38,3 % ($p < 0,05$), тоді як на рівнях 750,0-7500,0 мг/кг корму світіння *Ph.phosphoreum* не виявляли взагалі.

На 10 хв експерименту за рівня мікроелементу 75,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* від контролю, за рівня 150,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 41,4 % ($p < 0,05$), тоді як на рівнях 750,0-7500,0 мг/кг корму світіння *Ph.phosphoreum* не виявляли взагалі. На 15, 20, 25 і 30 хв досліді за рівня мікроелементу 75,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* від контролю. За рівня Феруму 150,0 мг/кг корму інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 15, 20, 25 і 30 хв досліді на 44,2; 42,3; 43,4 і 47,0 % ($p < 0,05$). На рівнях Феруму 750,0-7500,0 мг/кг корму світіння *Ph.phosphoreum* не виявляли взагалі, починаючи з 5 хв експерименту (рис. 1).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Феруму. Так, за вмісту мікроелементу 75,0 і 150,0 мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) у середньому становив 0,84 і 42,9; а за вмісту 750,0 (показник МДР), 3750,0 і 7500,0 мг/кг корму індекс токсичності складав 100,0 %. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Феруму менше

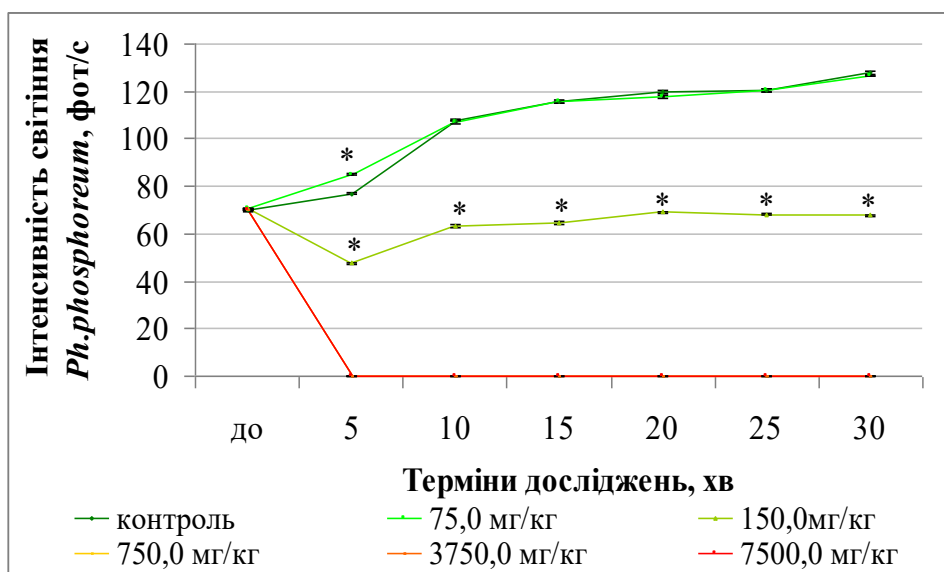


Рис. 1. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Феруму ($M \pm m$, $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

Таблиця 2

Класифікація токсичності речовини за величиною Т

Рівень індексу токсичності	Значення Т	Висновок про ступінь токсичності
1	менше 20	зразок нетоксичний
2	від 20 до 50	зразок токсичний
3	більше 50	зразок сильно токсичний

75,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту 150,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50) і за 750,0 і вище – корми сильно токсичні (індекс токсичності більше 50).

Вплив Кобальту на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 2. За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Кобальту до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 0,2; 0,4 і 2,0 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 16,9; 11,9 і 9,7 %, а за рівнів 10,0 і 20,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 11,0 і 18,0 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

На 10 хв експерименту за вмісту Кобальту 0,2; 0,4 і 2,0 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 29,7; 21,2 і 19,6 %, а за рівнів 10,0 і 20,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 4,7 і 7,7 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

На 15 хв досліді за вмісту Кобальту 0,2; 0,4 і 2,0 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 15,7; 13,1 і 7,2 %, а за рівнів 10,0 і 20,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 19,3 і 23,3 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

На 20 хв досліді за вмісту Кобальту 0,2 і 0,4 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 18,2 і 12,6 %, а за рівня 2,0 мг/кг корму посилення інтенсивності світіння було не вірогідним (2,8 %), тоді як за рівнів 10,0 і 20,0 мг/кг інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була нижчою за контроль на 20,8 і 28,3 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

На 25 хв досліді за вмісту Кобальту 0,2 і 0,4 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 17,9 і 12,1 %, а за рівня 2,0 мг/кг корму посилення інтенсивності світіння було не вірогідним (1,4 %), тоді як за рівнів 10,0 і 20,0 мг/кг інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була нижчою за контроль на 21,8 і 29,4 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

І на останньому терміні досліджень за вмісту Кобальту 0,2 і 0,4 мг/кг корму реєстрували посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 14,5 і 7,3 %, а за рівнів 2,0; 10,0 і 20,0 мг/кг корму інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була нижчою за контроль на 2,0 % (не вірогідно); 27,9 і 35,2 % ($p < 0,05$) відповідно (рис. 2).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Кобальту. Так, за вмісту мікроелементу 0,2; 0,4 і 2,0 (показник МДР) мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) був від'ємний і у середньому становив мінус 18,0; 12,4 і 2,1; а за вмісту 10,0 і 20,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 21,3 і 28,9. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Кобальту менше 0,2 до 2,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту від 10,0 до 20,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

Вплив Мангану на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 3.

За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Мангану до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 12,0 і 24,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 24,9 і 61,3 % ($p < 0,05$), тоді як за рівня Мангану в кормі 1200,0 мг/кг світіння *Ph.phosphoreum* не виявляли взагалі. Слід зазначити, що світіння *Ph.phosphoreum* за рівня Мангану в кормі 1200,0 мг/кг не спостерігали до кінця досліді (рис. 3).

На 10 хв експерименту за рівня Мангану 12,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 7,6 %) відносно контролю, за рівня 24,0 мг/кг не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння, а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг

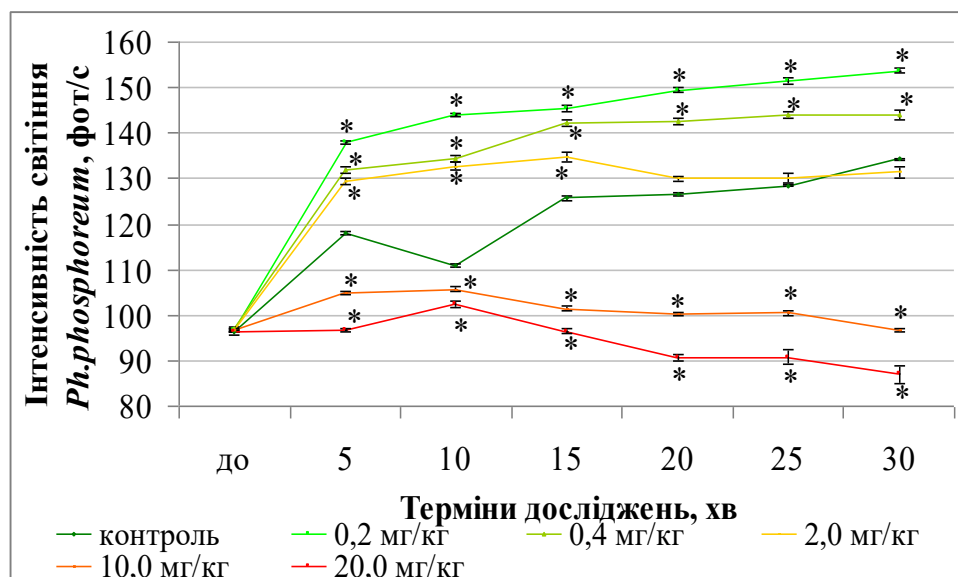


Рис. 2. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Кобальту ($M \pm m$, $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

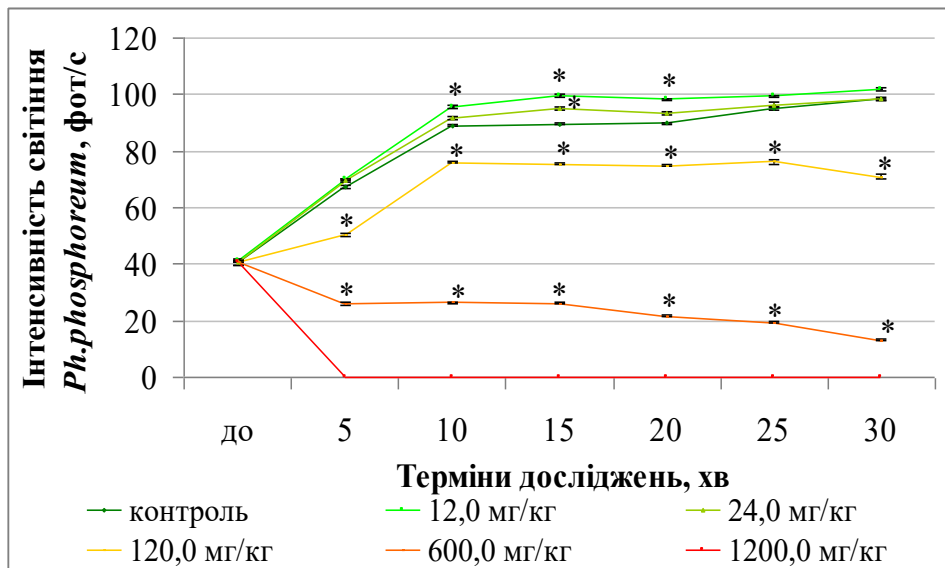


Рис. 3. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Мангану ($M \pm m$, $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 14,6 і 70,2 % ($p < 0,05$) (рис. 3).

На 15 хв експерименту за рівнів Мангану 12,0 і 24,0 мг/кг корму спостерігали підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 11,2 і 6,4 %) відносно контролю ($p < 0,05$), а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 15,6 і 70,7 % ($p < 0,05$) (рис. 3).

На 20 хв експерименту за рівня Мангану 12,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 9,4 %) відносно контролю, за рівня 24,0 мг/кг не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння, а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 16,4 і 75,8 % ($p < 0,05$) (рис. 3).

На 25 хв досліджу за рівнів Мангану 12,0 і 24,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 19,9 і 79,5 % ($p < 0,05$). Аналогічну картину спостерігали і на останньому терміні досліджень: за рівнів Мангану 12,0 і 24,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 27,7 і 86,5 % ($p < 0,05$) (рис. 3).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Мангану. Так, за вмісту мікроелементу 12,0 і 24,0 мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) був від'ємний і у середньому становив мінус 7,0; і 2,6 відповідно; а за вмісту 120,0 мг/кг (показник МДР), 600,0 і 1200,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 18,2; 77,6 і 100,0. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Мангану менше 12,0

до 120,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), а за вмісту від 600,0 до 1200,0 мг/кг – сильно токсичними (індекс токсичності більше 50).

Вплив Селену на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 4.

За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Селену до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 0,05 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 12,6; 9,7; 25,6 і 36,7 % ($p < 0,05$) (рис. 4).

На 10 хв експерименту за 0,05 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 6,2; 15,7; 24,3 і 41,9 % ($p < 0,05$) (рис. 4).

На 15 хв експерименту за рівнів Селену 0,05; 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була нижчою за контроль на 5,5; 10,0; 20,0; 26,8 і 45,9 % ($p < 0,05$) (рис. 4).

На 20 хв експерименту за 0,05 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 15,3; 16,3; 27,9 і 49,8 % ($p < 0,05$) (рис. 4).

На 25 хв досліджу за 0,05 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 9,6; 20,2; 27,4 і 50,5 % ($p < 0,05$). І на останньому терміні досліджень за рівня Селену 0,05 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 10,6; 20,6; 29,6 і 51,8 % ($p < 0,05$) (рис. 4).

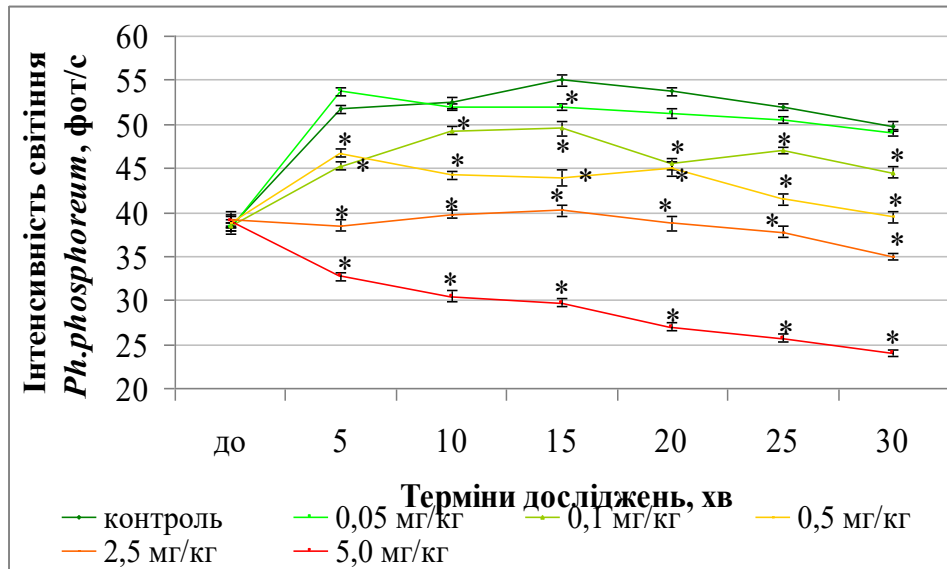


Рис. 4. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Селену ($M \pm m$, $n=4$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

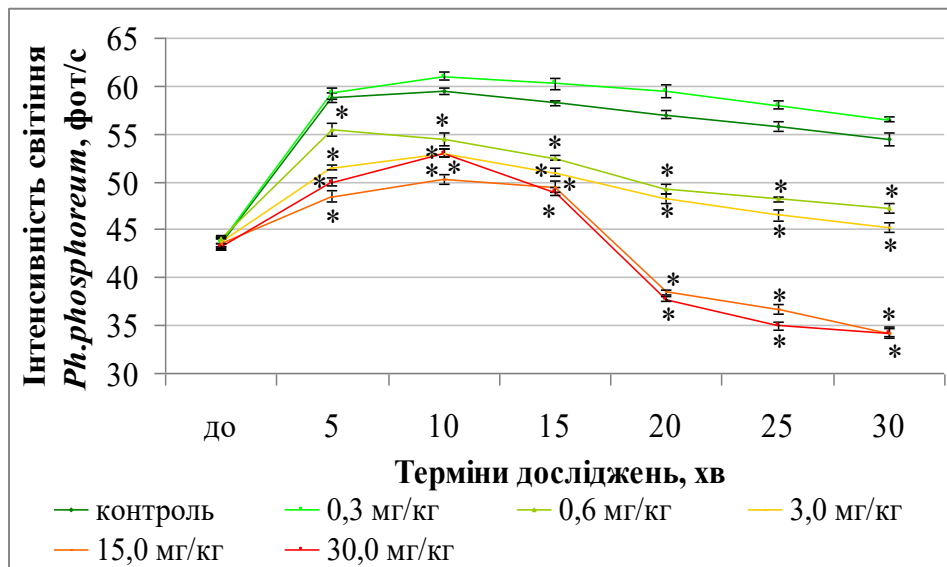


Рис. 5. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Нікелю ($M \pm m$, $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Селену. Так, за вмісту мікроелементу 0,05; 0,1; 0,5 (показник МДР); 2,5 і 5,0 мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) у середньому становив 3,8; 12,5; 18,2 (показник МДР); 27,7 і 50,1 відповідно. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Селену менше 0,05 до 0,5 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту Селену 2,5 мг/кг – токсичні (індекс токсичності від 20 до 50) і за 5,0 мг/кг сильно токсичні (індекс токсичності більше 50).

Вплив Нікелю на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 5. За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Нікелю до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 5,5; 12,3; 17,4 і 14,9 % ($p < 0,05$). На 10 хв експерименту за рівня Нікелю 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 8,4; 10,9; 15,5 і 10,9 % ($p < 0,05$).

На 15 хв експерименту за рівня Нікелю 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 9,9; 12,4; 15,0 і 15,9 % ($p < 0,05$) (рис. 5).

На 20 хв експерименту за рівня Нікелю 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 13,6; 15,4; 32,4 і 33,8 % ($p < 0,05$) (рис. 5).

На 25 хв експерименту за рівня Нікелю 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 13,5; 16,6; 34,1 і 37,2 % ($p < 0,05$) (рис. 5).

На 30 хв експерименту за рівня Нікелю 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 13,3; 17,0; 37,2 і 37,2 % ($p < 0,05$) (рис. 5).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Нікелю. Так, за вмісту мікроелементу 0,3 мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) був від'ємний і у середньому становив мінус 4,2; а за вмісту мікроелементу 0,6; 3,0 (показник МДР); 15,0 і 30,0 мг/кг корму індекс токсичності у середньому становив 13,5; 16,0 (показник МДР); 33,3 і 35,5 відповідно. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Нікелю менше 0,3 до 3,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), а за вмісту від 15,0 до 30,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

Вплив Хрому на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 6.

За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Хрому до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення спостерігали зниження інтенсивності світіння відносно контролю ($p < 0,05$) за рівнів мікроелементу 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/кг на 11,1; 14,5; 15,5; 16,9 і 19,87 %.

На 10 хв експерименту інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була також нижчою за контроль ($p < 0,05$) на всіх рівнях мікроелементу: за 0,1 мг/кг корму – на 11,0 %, за 0,5 мг/кг корму – на 15,2 %, за 1,0 мг/кг корму – на 17,1 %, за 5,0 мг/кг корму – на 17,6 % і за 10,0 мг/кг корму – на 21,4 %. Аналогічну картину спостерігали до кінця дослідження. Так, на 15 хв експерименту інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була також нижчою за контроль ($p < 0,05$) на всіх рівнях Хрому: за 0,1 мг/кг корму – на 13,2 %, за 0,5 мг/кг корму – на 19,1 %, за 1,0 мг/кг корму – на 19,5 %, за 5,0 мг/кг корму – на 21,8 % і за 10,0 мг/кг корму – на 23,6 % (рис. 6).

На 20 хв після внесення спостерігали зниження інтенсивності світіння відносно контролю ($p < 0,05$) за рівнів мікроелементу 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/кг на 13,5; 18,1; 19,1; 23,3 і 24,7 % (рис. 6).

На 25 хв після внесення екстрактів кормів спостерігали зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відносно контролю ($p < 0,05$) за рівнів мікроелементу 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/кг на 12,0; 16,3; 17,8; 21,2 і 23,1 % (рис. 6).

І на останньому терміні досліджень спостерігали зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відносно контролю ($p < 0,05$) за рівнів Хрому 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/кг на 8,5; 15,6; 17,1; 18,1 і 23,1 % (рис. 6).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Хрому. Так, за вмісту мікроелементу 0,1; 0,5; 1,0 (показник МДР) мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) у середньому становив 12,8; 17,2

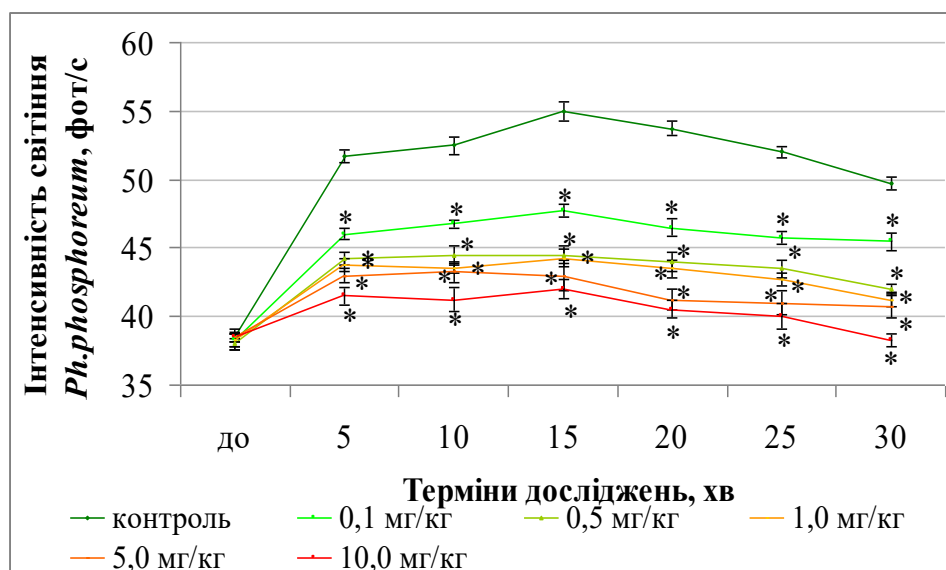


Рис. 6. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Хрому ($M \pm m$, $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

і 18,4; а за вмісту 5,0 і 10,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 22,2 і 23,9. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Хрому менше 0,1 до 1,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту від 5,0 до 10,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

Вплив Броду на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 7. За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Броду до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 1,0 і 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 8,7; 16,4 і 18,4 % ($p < 0,05$) (рис. 7).

На 10 хв експерименту за рівня Броду 1,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 10,4 %) відносно контролю, за рівня мікроелементу 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 6,7; 11,9 і 19,0 % ($p < 0,05$) (рис. 7).

На 15 хв досліді за рівнів Броду 1,0 і 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 12,2; 14,5 і 20,0 % ($p < 0,05$) (рис. 7).

На 20 хв досліді за рівнів Броду 1,0 і 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 19,5; 20,5 і 23,3 % ($p < 0,05$) (рис. 7).

На 25 хв експерименту за рівня Броду 1,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 5,3 %) відносно контролю, за рівня мікроелементу 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння

Ph.phosphoreum, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 12,5; 23,1 і 23,1 % ($p < 0,05$). Аналогічну картину спостерігали і на останньому терміні досліджень: за рівня Броду 1,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 5,3 %) відносно контролю, за рівня мікроелементу 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 11,6; 15,6 і 21,1 % ($p < 0,05$) (рис. 7).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Броду. Так, за вмісту мікроелементу 1,0 мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) був від'ємний і у середньому становив мінус 2,9; а за вмісту мікроелементу 5,0; 10,0 (показник МДР); 50,0 і 100,0 мг/кг корму індекс токсичності у середньому становив 3,3; 16,0 (показник МДР); 21,8 і 23,2 відповідно. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Броду менше 1,0 до 10,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), а за вмісту від 50,0 до 100,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

Обговорення.

До люмінесцентних належить 12 видів бактерій, які класифіковані чотирма родами: *Vibrio*, *Photobacterium*, *Shewanella*, *Xenorhabdus*. Більшість представників цієї групи є морськими видами, серед яких трапляються як вільноживучі, так і симбіотичні форми (Burtseva et al., 2020) і застосовують їх в основному з метою токсикологічної оцінки об'єктів екологічного нагляду: води (питні, технічні, зливні), ґрунти тощо. Тому у більшості досліджень інтерпретацію результатів науковці проводять відносно концентрації того чи іншого металу у кінцевому

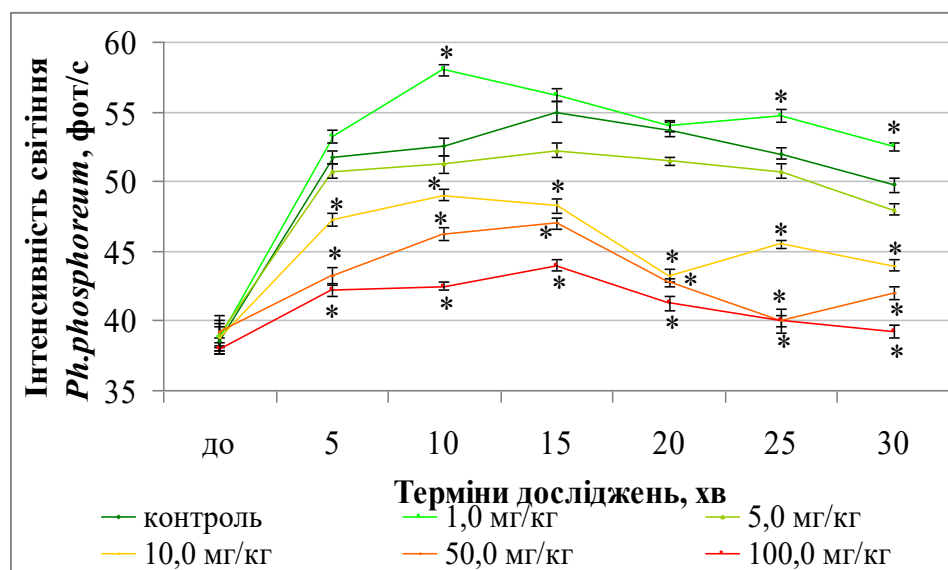


Рис. 7. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Броду ($M \pm m$, $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

досліджуваному розчині та набування за певний час 50 % інгібування світіння фотобактерій (EC_{50}).

Пригнічення люмінесценції фотобактерій під дією Феруму встановлено ще у 1982 році (Makemson & Hastings, 1982) на прикладі *Vibrio harveyi*. У роботі (Sorokina et al., 2013) наведено, що додавання Феруму у концентраціях від 0,56 до 56,0 мг/л до культури *Ph.phosphoreum*, вирощеної в синтетичному середовищі, не впливало на ріст культури, проте за концентрації 56,0 мг/л спричиняло незначне зменшення світіння, тоді як у дослідгах з *Vibrio fischeri* за концентрації Феруму 7,0 мг/л через 15 хв спостерігали 50 % пригнічення світіння. Якщо порівняти отримані нами дані відносно впливу Феруму протягом 30 хв на інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* (штам IMB B-7071; Sq3), то отримуємо наступне: в перерахунку рівнів Феруму у кормах (75,0; 150,0; 750,0; 3750,0 і 7500,0 мг/кг корму) маємо кінцеві концентрації мікроелементу в досліджуваному екстракті (37,5; 75,0; 375,0; 1875,0 і 3750,0 мг/л відповідно). За концентрації Феруму 37,5 мг/л інтенсивність світіння пригнічувалася не значно, а за 75,0 мг/л – не набувала 50 % зниження інтенсивності, тобто, отримані дані є близькими до даних (Sorokina et al., 2013), тоді як за концентрацій 375,0-3750,0 мг/л світіння бактерій було взагалі відсутнє, що вказує на високу токсичність зразків.

У нашому досліді концентрації Кобальту в кінцевому досліджуваному екстракті складала 0,1; 0,2; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 0,20; 0,40; 2,0; 10,0 і 20,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 28,9 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було. За даними (Kahru, 1993) 50 % зниження інтенсивності світіння за дії Кобальту фотобактерії досягають за концентрації 135-177 мг/л, а в дослідженнях (Mohseni et al., 2018) – за концентрації 16-45,9 мг/л. Тобто отримані нами дані близькі до результатів Mohseni et al., 2018, проте є нижчими за показники Kahru, 1993.

Концентрації Мангану у кінцевому досліджуваному екстракті в нашому експерименті складала 6,0; 12,0; 60,0; 300,0 і 600,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 12,0; 24,0; 120,0; 600,0 і 1200,0 мг/кг), при цьому протягом 30 хв спостерігали повне пригнічення інтенсивності світіння за 600,0 мг/л. Згідно з результатами (Teodorovic et al., 2009), значення EC_{50} Мангану для *V. fischeri* за експозиції 30 хв становить в середньому 351,0 мг/л, а у дослідженнях (Reimer, 1999) для даної культури EC_{50} мікроелементу становила 73,1-124,3 мг/л. Тобто отримані нами дані близькі до даних літератури.

У нашому досліді концентрації Селену в кінцевому досліджуваному екстракті складала 0,025; 0,05; 0,25; 1,25 і 2,50 мг/л (відповідно рівням у кормі – 0,05; 0,10; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* був на рівні 50,1 % за концентрації 2,5 мг/л. Arias-Barreiro et al., 2010 встановили EC_{50} Селену відносно фотобактерії *E. coli-roGFP2* на рівні 3,1 мг/л, що узгоджується з результатами наших досліджень. Attar & Afshar, 2010 дослідили вплив концентрацій Селену (100, 20, 10, 1,

0,1, 0,001 мг/л) на світіння *Vibrio fischeri* DSM 7744, встановили тенденцію до зменшення інтенсивності люмінесценції за дії селену від 0,001 до 100 мг/л (дані відносно EC_{50} Селену в даній роботі не наведені).

Концентрації Нікелю у кінцевому досліджуваному екстракті в нашому експерименті складала 0,15; 0,30; 1,5; 7,50 і 15,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 0,3; 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 35,5 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було. За даними (Yang et al., 2022) 50 % зниження інтенсивності світіння штаму *Vibrio qinghaiensis* Q67 в досліджуваній воді відбувалося за концентрації Нікелю на рівні $5,941 \pm 0,044$ мг/л, що є нижчим за отримані нами дані. А в роботі (Lopez-Roldan et al., 2012) 50 % зниження інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій залежно від часу становило на 15 хв – 0,13 – 256,0 мг/л і на 30 хв – 42,2 мг/л, тобто можна констатувати певну узгодженість з отриманими нами даними.

Концентрації Хрому у кінцевому досліджуваному екстракті в нашому експерименті складала 0,05; 0,25; 0,5; 2,50 і 5,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 23,9 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було. За даними (Yang et al., 2022) 50 % зниження інтенсивності світіння штаму *Vibrio qinghaiensis* Q67 в досліджуваній воді відбувалося за концентрації Нікелю на рівні $1,313 \pm 0,008$ мг/л, а *Photobacterium phosphoreum* T3 і *Photobacterium phosphoreum* 502 на рівні – $8,608 \pm 0,146$ та $20,936 \pm 0,154$ мг/л, що частково узгоджується з отриманими нами даними. А в роботі (Lopez-Roldan et al., 2012) 50 % зниження інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій залежно від часу становило на 15 хв – 15,3 мг/л і на 30 хв – 16,0 мг/л, тобто можна констатувати певну узгодженість з отриманими нами даними.

У нашому досліді концентрації Брому в кінцевому досліджуваному екстракті складала 0,5; 2,5; 5,0; 25,0 і 50,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 1,0; 5,0; 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 23,2 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було. За даними (Garcia, Gathergood & Scammells, 2005) 50 % зниження інтенсивності світіння *Photobacterium phosphoreum* в досліджуваному екстракті відбувалося за концентрації Брому на рівні 93,9 мг/л, що частково узгоджується з отриманими нами даними.

Посилення світіння фотобактерій, зокрема, під дією малих доз Кобальту, Мангану, Нікелю та Брому ми пов'язуємо з так званим явищем гормезису (стимуляція будь-якої системи організму зовнішніми впливами, що мають силу, недостатню для прояву шкідливих факторів) (Belz & Cedergreen, 2010; Varan et al., 2019).

Слід зазначити, що під час дослідження більшості мікроелементів не вдалося досягти 50 % інгібування світіння *Ph.phosphoreum*, що обумовлено наявними (вироб-

ничими) рівнями їх у кормах та недоцільністю використання вищих доз МЕ у кормах.

Висновки.

Досліджено вплив різних рівнів мікроелементів на інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* (штам ІМВ В-7071; Sq3) та надана токсикологічна оцінка кормам за відсотком зниження інтенсивності світіння, що дозволяє використовувати даний тест під час токсикологічної оцінки кормів забруднених МЕ.

Корми з вмістом Феруму менше 75,0 мг/кг включно, Кобальту менше 0,2 до 2,0 мг/кг включно, Мангану менше 12,0 до 120,0 мг/кг включно, Селену менше 0,05 до 0,5 мг/кг включно, Нікелю менше 0,3 до 3,0 мг/кг включно, Хрому менше 0,1 до 1,0 мг/кг включно та Бромю менше 1,0 до 10,0 мг/кг включно характеризувалися як не токсичні. Корми з вмістом Феруму 150,0 мг/кг, Кобальту від 10,0 до 20,0 мг/кг, Селену 2,5 мг/

кг, Нікелю від 15,0 до 30,0 мг/кг та Хрому від 5,0 до 10,0 мг/кг характеризувалися як токсичні, тоді як корми з вмістом Феруму від 750,0 до 7500,0 мг/кг, Мангану від 600,0 до 1200,0 мг/кг, Селену 5,0 мг/кг та Бромю від 50,0 до 100,0 мг/кг характеризувалися як сильно токсичні.

Перспективою подальших досліджень у цьому напрямку є токсикологічна оцінка кормів із різними рівнями пестицидів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*.

Подяка. Автори виражають щире подяку Головач Тетяні Миколаївні, кандидату біологічних наук, завідувачу Депозитарію мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного Національної академії наук України України за люб'язно наданий для дослідження штаму *Photobacterium phosphoreum* (ІМВ В-7071; Sq3).

Бібліографічні посилання:

1. Pohorielov, M. V. (2010). Makro- ta mikroelementy (obmin, patolohiia ta metody vyznachennia): monohrafiia [Macro- and microelements (exchange, pathology and methods of determination): monograph]. SumDU, Sumy, Ukraine, 147 (in Ukrainian).
2. Prashanth, L., Kattapagari, K. K., Chitturi, R. T., Baddam, V. R., & Prasad, L. K. (2015). A review on role of essential trace elements in health and disease. *J. NTR Univ. Health Sci.* 4(2), 75-85. <https://doi.org/10.4103/2277-8632.158577>
3. Vincent, J. B. (2019). Effects of chromium supplementation on body composition, human and animal health, and insulin and glucose metabolism. *Curr. Opin. Clin Nutr. Metab. Care.* 22(6), 483-489. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000604>
4. Calderón Guzmán, D., Juárez Olguín, H., Osnaya Brizuela, N., Hernández Garcia, E., & Lindoro Silva, M. (2019). The Use of Trace and Essential Elements in Common Clinical Disorders: Roles in Assessment of Health and Oxidative Stress Status. *Nutr. Cancer.* 71(1), 13-20. <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1557214>
5. Dias, R. S., Montanholi, Y. R., Lopez, S., Smith, B., Miller, S. P., & France, J. (2016). Utilization of macrominerals and trace elements in pregnant heifers with distinct feed efficiencies. *J. Dairy Sci.* 99(7), 5413-5421. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10796>
6. Younus, N., Zuberi, A., Rashidpour, A., & Metón, I. (2020). Dietary cobalt supplementation improves growth and body composition and induces the expression of growth and stress response genes in *Tor putitora*. *Fish Physiol Biochem.* 46(1), 371-381. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00723-5>
7. Vogt, A. S., Arsiwala, T., Mohsen, M., Vogel, M., Manolova, V., & Bachmann, M. F. (2021). On Iron Metabolism and Its Regulation. *Int. J. Mol. Sci.* 22(9), 4591. <https://doi.org/10.3390/ijms22094591>
8. Gać, P., Czerwińska, K., Macek, P., Jaremków, A., Mazur, G., Pawlas, K., & Poręba, R. (2021). The importance of selenium and zinc deficiency in cardiovascular disorders. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 82, 103553. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103553>
9. Orobchenko, O., Koreneva, Y., Paliy, A., Rodionova, K., Korenev, M., Kravchenko, N., Pavlichenko, O., Tkachuk, S., Nechyporenko, O., & Nazarenko, S. (2022). Bromine in chicken eggs, feed, and water from different regions of Ukraine. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 16, 42-54. <https://doi.org/10.5219/1710>
10. Balachandran, R. C., Mukhopadhyay, S., McBride, D., Veevers, J., Harrison, F.E., Aschner, M., Haynes, E. N., & Bowman, A. B. (2020). Brain manganese and the balance between essential roles and neurotoxicity. *J. Biol. Chem.* 295(19), 6312-6329. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.009453>
11. Wu, J., Yang, J. J., Cao, Y., Li, H., Zhao, H., Yang, S., & Li, K. (2020). Iron overload contributes to general anaesthesia-induced neurotoxicity and cognitive deficits. *J. Neuroinflammation.* 17(1), 110. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01777-6>
12. Raisbeck, M. F. (2020). Selenosis in Ruminants. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 36(3), 775-789. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.08.013>
13. Magrone, T. (2020). Nickel-Induced Damage: Pathogenesis and Therapeutical Approaches. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets.* 20(7), 967. <https://doi.org/10.2174/1871530320666200707151502>
14. Zafalon, R. V. A., Pedreira, R. S., Vendramini, T. H. A., Rentas, M. F., Pedrinelli, V., Rodrigues, R. B. A., Risolia, L. W., Perini, M. P., Amaral, A. R., de Carvalho Balieiro, J. C., Pontieri, C. F. F., & Brunetto, M. A. (2021). Toxic element levels in ingredients and commercial pet foods. *Sci. Rep.* 11(1), 21007. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00467-4>
15. Kozhanova, N., Sarsembayeva, N., Lozowicka, B., & Kozhanov, Z. (2021). Seasonal content of heavy metals in the «soil-feed-milk-manure» system in horse husbandry in Kazakhstan. *Vet. World.* 14(11), 2947-2956. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2947-2956>
16. Koch, F., Kowalczyk, J., Wagner, B., Klevenhusen, F., Schenkel, H., Lahrssen-Wiederholt, M., Pieper, R. (2021). Chemical analysis of materials used in pig housing with respect to the safety of products of animal origin. *Animal.* 15(9), 100319. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100319>
17. Chowdhury, R., Ramond, A., O'Keeffe, L. M., Shahzad, S., Kunutsor, S. K., Muka, T., Gregson, J., Willeit, P., Warnakula, S., Khan, H., Chowdhury, S., Gobin, R., Franco, O. H., & Di Angelantonio, E. (2018). Environmental toxic

- metal contaminants and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 362, k3310. <https://doi.org/10.1136/bmj.k3310>
18. Kurbatska, O. V., & Orobchenko, O. L. (2021a). Express method for determination of general feed toxicity using bioluminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*. 22(2), 217–224. <https://doi.org/10.36359/scivp.2021-22-2.24>
 19. Menz, J., Schneider, M., & Kümmerer, K. (2013). Toxicity testing with luminescent bacteria – characterization of an automated method for the combined assessment of acute and chronic effects. *Chemosphere*. 93(6), 990–996. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.067>
 20. Fernández-Piñas, F., Rodea-Palomares, I., Leganés, F., González-Pleiter, M., & Angeles Muñoz-Martín, M. (2014). Evaluation of the ecotoxicity of pollutants with bioluminescent microorganisms. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 145, 65–135. https://doi.org/10.1007/978-3-662-43619-6_3
 21. Ma, X. Y., Wang, X. C., Ngo, H. H., Guo, W., Wu, M. N., & Wang, N. (2014). Bioassay based luminescent bacteria: interferences, improvements, and applications. *Sci Total Environ*. 468–469, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.028>
 22. Kutsan, O. T., Orobchenko, O. L., & Kochergin, Yu. A. (2014). Toksiko-biohimichna charakteristika neorganichnih elementiv ta zastosuvannya rentgenofluorescentnogo analizu u veterinarniy meditsini (navchalnii posybnik), [Toxic-biochemical characteristic of inorganic elements and application of X-ray fluorescence analysis in veterinary medicine (methodical manual)]. Planet Print, Kharkiv, Ukraine, 300. ISBN 978-966-2046-43-4 (In Ukrainian)
 23. Stehni, B. T., Orobchenko, O. L., & Koreneva, Yu. M. (2021). Diahnostyka ta profilaktyka otruiennia Bromom silskohospodarskoi ptytsi : Metodychni rekomendatsii [Diagnosis and prevention of Bromine poisoning of poultry: Methodical recommendations]. Styl-Yzdat, Kharkiv, Ukraine, 20. (In Ukrainian)
 24. On approval of the List of maximum permissible levels of undesirable substances in feed and feed raw materials for animals of the Ministry of Agrarian Policy of Ukraine; Order, List dated March 19, 2012 No. 131 as amended on October 11, 2017 Order No. 550). (in Ukrainian) <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0503-12#Text>
 25. Orobchenko, O. L., Kurbatska, O. V., Kutsan O. T., & Kalashnik N. V. (2020). Nutrient medium for the cultivation of photoluminescent microorganisms *Photobacterium Phosphoreum*. Declaratory patent of Ukraine for a utility model № 143070 IPC (51) C12N 1/20; applicant and patent holder National Research Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine»; stated 21.01.2020 (u 2020 00341); publ. 10.07.2020, 13/2020. 4. (In Ukrainian) Спеціалізована БД «Винаходи (корисні моделі) в Україні» (uipv.org)
 26. Kurbatska, O. V., & Orobchenko, O.L. (2021b). Ekspres-metodyka vyznachennia zahalnoi toksychnosti kormiv z vykorystanniam fotoluminescentnykh mikroorhanizmiv *Ph. Phosphoreum*. Naukovo-metodychni rekomendatsii [Express methodology for determining the general toxicity of feed using photoluminescent microorganisms *Ph. Phosphoreum*. Scientific and methodological recommendations]. Styl-Yzdat, Kharkiv, Ukraine, 24. (In Ukrainian)
 27. Burtseva, O., Kublanovskaya, A., Baulina, O., Fedorenko, T., Lobakova, E. & Chekanova, K. (2020). The strains of bioluminescent bacteria isolated from the White Sea finfishes: genera *Photobacterium*, *Aliivibrio*, *Vibrio*, *Shewanella*, and first luminous *Kosakonia*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 208, 111895. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111895>
 28. Makemson, J. C., & Hastings, J. W. (1982). Iron represses bioluminescence and affects catabolite repression of luminescence in *Vibrio harveyi*. *Current Microbiology*. 7, 181–186. <https://doi.org/10.1007/BF01568972>
 29. Sorokina, E. V., Yudina, T. P., Bubnov, I. A., & Danilov, V. S. (2013). Assessment of iron toxicity using a luminescent bacterial test with an *Escherichia coli* recombinant strain. *Microbiology*. 82(4), 439–444. <https://doi.org/10.1134/s0026261713040115>
 30. Kahru, A. (1993). In Vitro Toxicity Testing Using Marine Luminescent Bacteria (*Photobacterium phosphoreum*): the Biotox™ test. *Alternatives to Laboratory Animals*. 21(2), 210–215. <https://doi.org/10.1177/026119299302100216>
 31. Mohseni, M., Abbaszadeh, J., Maghool, S.-S., & Chaichi, M.-J. (2018). Heavy metals detection using biosensor cells of a novel marine luminescent bacterium *Vibrio* sp. MM1 isolated from the Caspian Sea. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 148, 555–560. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.002>
 32. Teodorovic, I., Planojevic, I., Knezevic, P., Radak, S., & Nemet, I. (2009). Sensitivity of bacterial vs. acute *Daphnia magna* toxicity tests to metals. *Open Life Sciences*. 4(4), 482–492. <https://doi.org/10.2478/s11535-009-0048-7>
 33. Reimer, P. S. (1999) Environmental effects of manganese and proposed freshwater guidelines to protect aquatic life in British Columbia [MSc thesis]. Vancouver, B.C., University of British Columbia. 56. <https://www2.gov.bc.ca/assets/gov/environment/air-land-water/water/waterquality/water-quality-guidelines/approved-wqgs/manganese-tech.pdf>
 34. Arias-Barreiro, C. R., Okazaki, K., Koutsaftis, A., Inayat-Hussain, S. H., Tani, A., Katsuhara, M., Kimbara, K., & Mori, I. C. (2010). A Bacterial Biosensor for Oxidative Stress Using the Constitutively Expressed Redox-Sensitive Protein roGFP2. *Sensors*. 10(7), 6290–6306. <https://doi.org/10.3390/s100706290>
 35. Attar, H., & Afshar, S. (2010). Design of Sensible Biosensor for Rapid Detection of Biocides in Potable Water. *Asian Journal of Biotechnology*. 2, 120-126. <https://doi.org/10.3923/ajbkr.2010.120.126>
 36. Yang, J., Hu, S., Liao, A., Weng, Y., Liang, S., & Lin, Y. (2022). Preparation of freeze-dried bioluminescent bacteria and their application in the detection of acute toxicity of bisphenol A and heavy metals. *Food Sci Nutr*. 10(6), 1841–1853. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2800>
 37. Lopez-Roldan, R., Kazlauskaitė, L., Ribo, J., Riva, M. C., González, S., & Cortina, J. L. (2012). Evaluation of an automated luminescent bacteria assay for in situ aquatic toxicity determination. *Science of The Total Environment*, 440, 307–313. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.05.043>

38. Garcia, M. T., Gathergood, N., & Scammells, P. J. (2005). Biodegradable ionic liquids : Part II. Effect of the anion and toxicology. *Green Chemistry*. 7(1), 9. <https://doi.org/10.1039/b411922c>
39. Baran, A., Tarnawski, M., Koniarz, T., & Szara, M. (2019). Content of nutrients, trace elements, and ecotoxicity of sediment cores from Rożnów reservoir (Southern Poland). *Environmental Geochemistry and Health*. 41, 2929–2948 <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00363-x>
40. Belz, R. G., & Cedergreen, N. (2010). Parthenin hormesis in plants depends on growth conditions. *Environmental and Experimental Botany*. 69(3), 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.04.010>

Kurbatska O. V., PhD student, National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

Orobchenko O. L., Dr. Vet. Sciences, Senior Researcher, National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

Toxicological evaluation of feeds with different levels of trace elements using luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*

Toxicological and hygienic assessment of toxic contaminants of various origins (including trace elements) is widely carried out in the countries of Europe, Asia and America. Currently, for these purposes, an important role is played by biotesting using proto- and eukaryotic organisms as test models, with biotests using live bioluminescent bacteria, which are distinguished from others by the fact that the intensity of their glow is measured as a parameter of vital activity, comes to the fore. The purpose of this work was to conduct a toxicological evaluation of feeds with different levels of trace elements using the luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*. Under the conditions of trace elements research, corn grits, which did not possess toxic properties, were used as a «matrix». Trace elements were used in the form of State standard samples, namely: iron, cobalt, manganese, selenium, nickel, chromium and bromine. As a test culture, a lyophilized culture of *Photobacterium phosphoreum* (strain IMV B-7071; Sq3) was used, obtained from the Depository of Microorganisms of the Institute of Microbiology and Virology named after D.K. Zabolotny of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv). Before introducing trace elements into the feed, the «matrix» was first examined for their content (background). Toxicants were added to the «matrix» in different concentrations, taking into account the «background» indicators (5 series each), which were prepared by diluting in distilled water, depending on the maximum permissible level. As a result of the work, it was established the possibility of using luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum* (strain IMV B-7071; Sq3) for rapid toxicological evaluation of feeds with different levels of trace elements, based on a decrease in the intensity of luminescence. However, if for Co, Mn, Ni, Se, Cr and Br under the conditions of the study of feed with the content of trace elements at the maximum residue limits (MRL) (2.0; 120.0; 3.0; 0.5; 1.0 and 10.0 mg/kg, respectively) the feed was characterized as non-toxic, then for Fe according to the MRL (750.0 mg/kg) the feed was characterized as highly toxic, which indicates the need for further studies to study the toxicological characteristics of the trace element in the body of laboratory and productive animals, possibly with further revision (downwards) of the MRL of the relevant pollutant in feed in Ukraine. The prospect of further research in this direction is the toxicological assessment of feed with different levels of pesticides using the luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*.

Key words: bioluminescence; feed; trace elements; toxicity; *Photobacterium phosphoreum*.

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ, ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ЗА УРОЛІТІАЗУ У СОБАК

Самойлюк Вячеслав Володимировичкандидат ветеринарних наук, доцент
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна
ORCID: 0000-0001-8400-8904
samoluk1966@ukr.net**Білий Дмитро Дмитрович**доктор ветеринарних наук, професор
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна
ORCID: 0000-0003-3896-0384
dmdmbeliy@ukr.net**Масліков Сергій Миколайович**кандидат біологічних наук, доцент
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна
ORCID: 0000-0003-1353-3968
maslikovs.62@ukr.net**Вакулик Вячеслав Володимирович**кандидат історичних наук, доцент
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна
ORCID: 0000-0001-8773-2287
zemskiyvet@i.ua

Моніторинговими дослідженнями визначали поширеність, вікові, статеві та сезонні особливості перебігу уролітіазу собак в умовах мегаполісу, ретельно аналізували раціон хворих тварин; проводили мікроскопію осаду сечі, рентгенологічні та сонографічні дослідження. В досліді до комплексу лікування собак хворих на уролітіаз крім Цефтриаксону, Но-Шпи та Фітоеліти вводили препарати антигомотоксичної дії (Мукоза Композитум, Траумель Композитум) та Дексаметазон. За відсутності лікувального ефекту виконували цистотомію з видаленням уролітів. З конкрементів частіше зустрічалися оксалати та урати. Під час диференціальної діагностики й контролю якості лікувальних заходів в дослідній і контрольній групах проводили рентгенологічне і сонографічне дослідження. Відмічена висока ефективність цих візуальних методів за сечокам'яної хвороби. На уролітіаз частіше хворіли собаки з зайвою вагою у віці з 1 до 10 років. В більшості випадків хворобу реєстрували у дрібних порід, особливо пекінесів, кокер-спанієлів та йоркширських тер'єрів. Захворюваність на сечокам'яну хворобу майже рівномірно реєструвалася протягом року і була дещо вищою у весняний та осінній періоди. Лікування тварин дослідної групи було ефективнішим, дозволяло скоріше зняти запалення і забезпечити кращу регенерацію слизових оболонок сечовивідних шляхів, що було підтверджено результатами лабораторних і ультразвукового досліджень. Встановлено, що шляхом проведення візуальної діагностики можна з високою вірогідністю дати оцінку стану органів сечовивідної системи, виявити конкременти, визначити їх розмір та локалізацію з метою призначення ефективного консервативного, оперативного або комплексного лікування. Рентгенологічні та сонографічні дослідження сечової системи дозволяють ефективно контролювати динаміку ефективності лікувальних заходів, а за необхідності, вносити корективи до терапевтичного впливу на організм тварини. Важливе значення під час диференціальної діагностики має також мікроскопія осаду сечі, що є доступним, інформативним та недорогим методом. Під час комплексного лікування собак хворих на уролітіаз рекомендуємо долучати гомеопатичні препарати і глюкокортикоїди, а за наявності в сечовому міхурі великих або нерозчинних конкрементів виконувати цистотомію.

Ключові слова: уролітіаз, захворюваність, конкременти, дослідження, сечовий міхур.

DOI <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.2.5>

Вступ. Аналіз літературних джерел показав, що уролітіаз собак є значно поширеним (Bende et al., 2015; Tion et al., 2015; Hunpravit et al., 2017; Sharun et al., 2021; Коресну et al., 2021). В нозологічній структурі захворюваності хвороби сечовивідної системи за частотою реєстрації та відсотком летальності займають одне з провідних місць поряд з онкологією, травматизмом та захворюваннями серцево-судинної системи (Houston,

2009). Сечокам'яна хвороба зустрічається в усіх країнах світу незалежно від кліматичних умов та має безліч чинників (Amarpal et al., 2013; Mendoza-López et al., 2019).

Захворювання сечостатевої системи реєструються у собак будь-якого віку і статі та є найбільш поширеними серед дрібних тварин (Tufani et al., 2017; Burggraaf et al., 2021.). Найбільш характерними ознаками ураження сечостатевої системи є утруднене або часте сечовипус-

кання, наявність крові у сечі та інші ознаки. Для точної діагностики та призначення оптимального лікування використовують лабораторні методи та візуальну діагностику (Martusevich et al., 2017; Tiruneh & Abdisa, 2017.). Для лікування собак хворих на сечокам'яну хворобу існує багато як консервативних, так і оперативних методів (Wen & Johnston, 2012; Sodhi et al., 2021; Carvalho Brilhante & Menegasso Mansano, 2022). Проте, існуючі методи діагностики, профілактики і лікування за сечокам'яної хвороби у собак не завжди є ефективними. Питання статевої, породної, вікової і сезонної схильностей собак до уролітіазу в сучасній науковій літературі висвітлені не в повній мірі. Багато до кінця не з'ясованих питань стосується також диференціальної діагностики та лікувальних заходів. Ця проблема все ще потребує подальшого ретельного вивчення, особливо питань етіології, диференціальної діагностики та пошуку більш ефективних заходів терапевтичного впливу на організм тварин.

Мета роботи. Дослідження були спрямовані на вивчення поширеності, ефективності рентгенологічної і ультразвукової діагностики та комплексних методів лікування за сечокам'яної хвороби у собак в умовах мегаполісу.

Матеріали та методи. Матеріалом дослідження слугували хворі на уролітіаз собаки. Поширеність сечокам'яної хвороби в умовах міста Дніпро вивчали на базі аналізу звітної документації клініки ветеринарної медицини «Звірятко».

Диференціальну діагностику уролітіазу від інших хвороб сечовивідної системи проводили аналізом загального дослідження сечі з мікроскопією осаду, що проводилося за загальноприйнятими методиками. В цей час значну увагу приділяли анамнестичним даним. Ретельно аналізували раціон хворих собак, проводили збір даних стосовно статевих, вікових, сезонних особливостей перебігу сечокам'яної породи в умовах великого міста з урахуванням умов життя кожної окремої тварини.

Проводили аналіз ефективності різних методів консервативного та оперативного впливу на організм тварин за уролітіазу. Ефективність методів лікування вивчали з використанням методів лабораторного аналізу сечі, сонографічного та рентгенологічного досліджень органів сечовивідної системи.

Шляхом мікроскопії осаду сечі визначали наявність солей та їх характер. Під час цистоцентезу тварин фіксували у лежачому спинному положенні, ділянку черева обробляли спиртом та здійснювали прокол за допомогою стерильної голки від одноразового шприца на середині відстані від пупка до лобкового зрощення (голку вводили під кутом 40–45°). Дослідженню піддавали осад сечі, що отримували її центрифугуванням за 1500–2000 об/хв. протягом 7–10 хвилин, після чого рідину над осадом зливали, осад перемішували з невеликою кількістю сечі, що залишалася в пробірці, наносили краплю на предметне скло, покривали її накривним скельцем та проводили мікроскопію на світловому мікроскопі.

Рентгенографічне дослідження проводили на цифровому рентгенологічному апараті Вател–1. Ультразвукове дослідження нирок та сечового міхура проводилось

за допомогою ультразвукового апарату 100 Falco Vet за частоти секторного трансдюктора 3,5 МГц, на глибині сканування 100 мм.

Для дослідження сечового міхура собаку фіксували у лежачому спинному або боковому положенні, видалляли шерсть по серединній лінії між лобковою кісткою і пупком та розміщували датчик перпендикулярно до поверхні тіла у виголеній ділянці; під час отримання зображення сечового міхура його досліджували у поперечному перерізі від верхівки до шийки з метою виявлення конкрементів у його порожнині та потовщення стінок.

Хворих на уролітіаз собак розділили на 2 групи по 5 тварин у кожній. В контрольній групі лікування включало наступні препарати: Цефтриаксон – 0,5 г, розчинений у 4 мл 0,5 % розчину новокаїну по 1 мл/10 кг 1 раз на добу впродовж 7 днів внутрішньом'язово; «Фітоеліта здорові нирки» – по 1 пігулці на 10 кг ваги тварини 3 рази на добу до зникнення симптомів захворювання; Но-Шпа по 0,5 – 2 мл 2 рази на добу впродовж 7 днів внутрішньом'язово. Крім вказаного вище лікування в дослідній групі застосовували антигомотоксичні препарати Траумель Композитум і Мукоза Композитум по 0,3 – 2 мл 1 раз на 2 – 3 доби до стабілізації показників сечі та задовільних результатів ультразвукового дослідження; Дексаметазон по 0,2 – 0,5 мл 1 раз на добу внутрішньом'язово впродовж 3 днів. Якщо протягом двох тижнів лікування каміння в сечовому міхурі не розчинялося, його видалляли шляхом цистотомії згідно загальноприйнятої методики. Для контролю ефективності лікувальних заходів під час їх проведення періодично здійснювали ультразвукове дослідження та загальний аналіз сечі.

Результати досліджень. Статистичний аналіз показав значно більшу поширеність уролітіазу серед кішок ніж серед собак. В результаті статистичних, клінічних і лабораторних досліджень було встановлено, що основними етіологічними чинниками сечокам'яної хвороби у собак є порушення обміну речовин. Слід відмітити, що на уролітіаз частіше хворіли собаки з зайвою вагою. Частіше це захворювання реєструвалося у самок ніж у самців. Вираженої сезонності захворюваності на сечокам'яну хворобу не було встановлено.

Аналіз вікової залежності захворюваності собак представлений в таблиці 1. З даних представлених в цій таблиці видно, що уролітіаз частіше реєстрували у тварин віком з 1 по 10 років. Більшість хворих тварин у клінічному відношенні мали задовільний стан або стан середньої важкості. Особливо важкий стан спостерігали в усіх псів з отбуррацією уретри, що потребувало термінового оперативного втручання.

Результати вивчення залежності захворюваності на уролітіаз від породи собак представлені в таблиці 2, дані якої свідчать, що хвороба вражає як породистих собак, так і метисів. Проте, частіше хворіли дрібні породи, особливо пекінеси, кокер спанієлі та йоркширські тер'єри.

Результати вивчення захворюваності собак на уролітіаз в залежності від пори року надано в таблиці 3. Згідно нашим спостереженням, хворобу майже рівномірно реєстрували протягом усього року з незначними піками у весняний та осінній періоди.

У собак перебіг уролітіазу характеризувався змінами кольору і прозорості сечі, в деяких випадках різним ступенем гематурії, що в більшості випадків супроводжувала конкременти уратів або оксалатів (рис. 1, 2, 3).

Важливо відмітити високу ефективність рентгенологічної і ультразвукової діагностики за уролітіазу в собак. Розвиток хвороби супроводжується наявністю в порожнині сечового міхура конкрементів та субстратів,



Рис. 1. Вилучення оксалатів з сечового міхура кокер-спанієля під час цистотомії



Рис. 2. Оксалати, що вилучені з сечового міхура кокер-спанієля під час цистотомії

Таблиця 1

Залежність захворюваності собак на уролітіаз від віку

Вік тварин	Кількість хворих тварин, голів	Частка від загальної кількості хворих на уролітіаз, %
6 місяців – 1 рік	2	6,9
1 – 5 років	13	44,8
5 – 10 років	10	34,5
старші 10 років	4	13,8
Всього	29	100

Таблиця 2

Залежність захворюваності собак на уролітіаз від породи

Порода	Кількість хворих тварин, голів	Частка від загальної кількості хворих на уролітіаз, %
Пекінес	5	17,2
Кокер-спанієль	5	17,2
Йоркширський тер'єр	3	10,3
Такса	2	6,9
Метиси	6	20,7
Інші породи	8	27,6
Всього	29	100

Таблиця 3

Залежність захворюваності собак на уролітіаз від пори року

Пора року	Кількість хворих тварин, голів	Частка від загальної кількості хворих на уролітіаз, %
Зима	7	24,1
Весна	9	31,0
Літо	5	17,3
Осінь	8	27,6
Всього	29	100



Рис. 3. Урати, що вилучені з сечового міхура пекінеса під час цистотомії

що пов'язані з запаленням (рис. 4, 5). Методи візуальної діагностики дають змогу з високою вірогідністю дати оцінку стану органів сечовивідної системи, виявити конкременти, визначити їх розмір та локалізацію з метою призначення ефективного консервативного, оперативного або комплексного лікування. Рентгенологічні та сонографічні дослідження сечової системи дозволяють ефективно контролювати динаміку ефективності лікувальних заходів, а за необхідності, вносити корективи до терапевтичного впливу на організм тварини. Важливе значення під час диференціальної діагностики має також мікроскопія осаду сечі, що є доступним, інформативним та дешевим методом.

Через тиждень після завершення курсу лікування був проведений забір сечі від тварин контрольної і дослідної груп. Результати досліджень в контрольній та дослідній групах відрізнялися. Так, сеча, що отримали від собак дослідної групи, мала жовтий колір, була прозорою, з незначним осадом та фізіологічною відносною щільністю (1,010 – 1,030 г/мл). Реакція сечі у всіх пробах наближалась до нейтральної (рН 6,5 – 7,0). Білок у досліджуваних пробах як і гематурія були відсутні. Під час мікроскопії осаду сечі не виявляли еритроцитів, а кількість лейкоцитів та епітеліальних клітин не перевищувала 1 – 3 у полі зору.

Що ж до тварин контрольної групи, то їх сеча мала насичено-жовтий колір, незначне помутніння, більшу, порівняно із сечею від тварин дослідної групи, кількість осаду та підвищену відносну щільність (1,033 – 1,040 г/мл). Реакція сечі у пробах наближалась до нейтральної (рН 6,5 – 7,2). У досліджуваних пробах сечі все ще виявляли білок у незначній кількості (до 0,2 г/л), а також незначну гематурію. Під час мікроскопії осаду сечі виявляли 1 – 3 еритроцити, 2 – 4 лейкоцити та до 3 епітеліальних клітин сечового міхура у полі зору, а також незначну кількість конкрементів.

Проведене в цей же час рентгенологічне та ультразвукове дослідження показало суттєве зменшення кількості і розмірів конкрементів у сечовому міхурі усіх собак як дослідної так і контрольної груп, що свідчило



Рис. 4. Конкременти в сечовому міхурі на оглядовій рентгенограмі

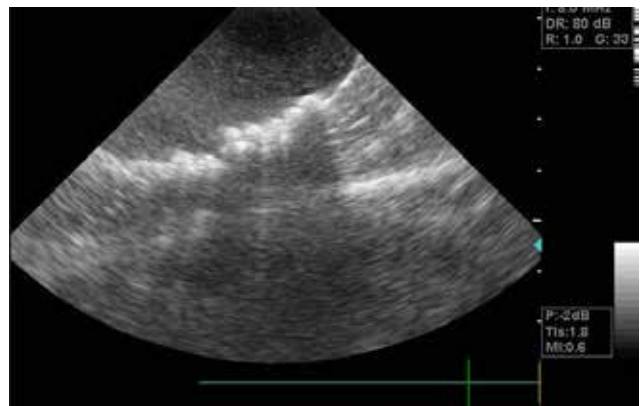


Рис. 5. Ультрасонограма сечового міхура з конкрементами

про їх поступове розчинення. У однієї собаки контрольної групи характер конкрементів у сечовому міхурі не змінився, через що їх видалили шляхом цистотомії.

Таким чином, згідно проведених нами досліджень можна стверджувати, що лікування за схемою дослідної групи є дещо більш ефективним, бо дозволяє скоріше зняти запалення і забезпечити кращу регенерацію слизових оболонок сечовивідних шляхів, що було підтверджено результатами ультразвукового дослідження.

Обговорення. Результати наших досліджень стосовно поширеності уролітіазу собак, та залежності захворюваності від породи, віку, статі та сезону року підтверджують та доповнюють повідомлення інших дослідників (Tion et al., 2015; Sharun et al., 2021.). В результаті статистичних, клінічних і лабораторних досліджень було встановлено, що основними етіологічними чинниками сечокам'яної хвороби у собак є порушення обміну речовин. Ймовірно ці порушення викликані вадами режиму і норм годівлі тварин. Можна також припустити, що даному захворюванню також сприяє недостатнє надходження рідини до організму тварин та інфікування сечовивідних шляхів (Mendóza-López et al., 2017).

Ми встановили високу ефективність рентгенологічної та ультразвукової діагностики уролітіазу у собак, що узгоджується з повідомленнями авторів (Lulich & Osborne, 2009; Singh et al., 2012; Perondi et al., 2020; Hoelmer et al., 2022). Деякі дослідники пропонують для діагностики уролітіазу використовувати комп'ютерну томографію (Nykamp, 2017).

Під час цистотомії ми видаляли різні види сечових каменів, зокрема оксалати і урати. Автори вважають, що знання переважаючого мінерального типу в сечостатевої системі під час уролітіазу, а також розуміння етіологічного, демографічного та екологічного ризику його виникнення, залежність від стану захисних сил організму за уролітіазу можуть сприяти розробці стратегій до більш раннього виявлення уролітів. Це може допомогти виключити дієтичні чинники ризику, мінімізувати утворення конкрементів, сприяти розчиненню і профілакувати повторне їх утворення (Dijker et al., 2013; Mohammadalibeigi et al., 2019).

Доведену нами ефективність цистотомії за уролітіазу підтверджують і повідомлення багатьох інших дослідників (Grant et al., 2010; Runge et al., 2011; Arulpragasam et al., 2013; Singh et al., 2016). Замість цистотомії деякі автори пропонують застосовувати лазерну літотрипсію, що є малотравматичною процедурою яка виявилася безпечною та ефективною для видалення конкрементів у собак. Дослідниками не було виявлено суттєвих відмінностей у коштовності операції та не мали місце ускладнення, що пов'язані з лазерною літотрипсією у порівнянні з цистотомією для видалення каменів нижніх відділів сечовивідних шляхів у собак. Лазерна літотрипсія є ефективною малоінвазивною альтернативою хірургічному видаленню уретролітів та уроцистолітів у собак (Bevan et al., 2009; Lulich et al., 2009).

За даними (Sobczak-Filipiak et al., 2019) гістоморфологічні дослідження органів сечостатевої системи показують, що хвороби різної етіології викликають значні зміни в органах, чим провокують важкий перебіг захворювання. Терапевтичний комплекс з використанням

гомеопатичних препаратів і глюкокортикоїдів є достатньо ефективним саме для усунення пов'язаного з розвитком хвороби запалення і більш швидкої стабілізації стану тварини.

Нашу думку стосовно результатів аналізу даних анамнезу щодо профілактики уролітіазу у собак шляхом призначення певної дієти для попередження утворення конкрементів та заходи для попередження інфікування сечовивідних шляхів співпадають з повідомленнями авторів, які вважають, що контроль інфекції сечовивідних шляхів та зміна раціону можуть допомогти у запобіганні сечокам'яної хвороби у собак (Sturgess, 2009). Профілактику дієтою дослідники вважають найкращою стратегією проти сечокам'яної хвороби (Bijmans et al., 2021; Trehy, 2022). Це не завжди може замінити проведення хірургічних процедур, але може допомогти зменшити частоту рецидивів утворення конкрементів (Samal et al., 2011; Allen et al., 2015; Mendoza-López et al., 2020.).

Висновки. В умовах мегаполісу захворюваність на уролітіаз реєструється у собак у віці від 1 до 10 років переважно у дрібних порід; частіше у самок ніж у самців як у породистих тварин, так і у безпородних та метисів. З породистих собак хворобу частіше реєстрували у пекінесів і кокер-спанієлів. Вираженої сезонності в поширенні хвороби не було виявлено. Для більш ефективної боротьби з запаленням та покращення процесів регенерації слизових оболонок сечостатевої системи під час лікування уролітіазу в загальноприйнятій схемі лікування рекомендуємо включати гомеопатичні препарати і глюкокортикоїди. З метою ранньої та точної діагностики уролітіазу у собак доцільно більш широко використовувати лабораторне дослідження сечі, рентгенографію, ультразвукове дослідження. Під час лікування собак хворих на уролітіаз необхідно застосовувати цистотомію у випадках наявності великих, множинних або нерозчинних конкрементів в порожнині сечового міхура.

На перспективу планується визначення ефективності дієт для профілактики та лікування собак хворих на уролітіаз.

Бібліографічні посилання:

1. Allen, H. S., Swecker, W. S., Becvarova, I., Weeth, L. P., & Werre, S. R. (2015). Associations of diet and breed with recurrence of calcium oxalate cystic calculi in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 246(10), 1098–1103. doi: 10.2460/javma.246.10.1098
2. Amarpal, A., Kinjavdekar, P., Aithal, H. P., Pawde, A. M., Pratap, K., & Gugjoo, M. B. (2013). A retrospective study on the prevalence of obstructive urolithiasis in domestic animals during a period of 10 years. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 1(3), 88–92.
3. Arulpragasam, S. P., Case, J. B., & Ellison, G. W. (2013). Evaluation of costs and time required for laparoscopic-assisted versus open cystotomy for urinary cystolith removal in dogs: 43 cases (2009–2012). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243(5). doi: 10.2460/javma.243.5.703
4. Bevan, J. M., Lulich, J. P., Albasan, H., & Osborne, C. A. (2009). Comparison of laser lithotripsy and cystotomy for the management of dogs with urolithiasis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 234(10), 1286–1294. doi: 10.2460/javma.234.10.1286
5. Bende, B., Kovács, K. B., Solymosi, N., & Németh, T. (2015). Characteristics of urolithiasis in the dog population of Hungary from 2001 to 2012. *Acta Veterinaria Hungarica*, 63(3), 323–336. doi: 10.1556/004.2015.030
6. Bijmans, E., Quéau, Y., & Biourge, V. (2021). Increasing Dietary Potassium Chloride Promotes Urine Dilution and Decreases Calcium Oxalate Relative Supersaturation in Healthy Dogs and Cats. *Animals*, 11(6), 1809. doi: 10.3390/ani11061809
7. Burggraaf, N. D., Westgeest, D. B., & Corbeea, R. J. (2021). Analysis of 7866 feline and canine uroliths submitted between 2014 and 2020 in the Netherlands. *Research in Veterinary Science*, 137, 86–93. doi: 10.1016/j.rvsc.2021.04.026

8. Carvalho Brilhante, A. B., & Menegasso Mansano, C. F. (2022). Retrospective of urolithiasis in dogs and cats at the Veterinary Hospital University Brazil – Fernandópolis/State of São Paulo between January 2018 and April 2019. *Research, Society and Development journal*, 11(11), e397111133585. doi: 10.33448/rsd-v11i11.33585
9. Dijkstra, J. C., Kummeling, A., Hagenplantinga, E. A., & Hendriks, W. H. (2012). Urinary oxalate and calcium excretion by dogs and cats diagnosed with calcium oxalate urolithiasis. *The Veterinary Record*, 171, 646. doi:10.1136/vr.101130
10. Grant, D. C., Tisha, A. M., & Stephen, R. W. (2010). Frequency of incomplete urolith removal, complications, and diagnostic imaging following cystotomy for removal of uroliths from the lower urinary tract in dogs: 128 cases (1994–2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(7), 763–766. doi: 10.2460/javma.236.7.763
11. Hoelmer, A. M., Lulich, J. P., Rendahl, A. K., & Furrow, E. (2022). Prevalence and Predictors of Radiographically Apparent Upper Urinary Tract Urolithiasis in Eight Dog Breeds Predisposed to Calcium Oxalate Urolithiasis and Mixed Breed Dogs. *Veterinary Sciences*, 9(6), 283. doi: 10.3390/vetsci9060283
12. Hunprasit, V., Osborne, C. A., Schreiner, P. J., Bender, J. B., & Lulich, J. P. (2017). Epidemiologic evaluation of canine urolithiasis in Thailand from 2009 to 2015. *Research in Veterinary Science*, 115, 366–370. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.07.008
13. Kopečný, L., Palm, C. A., Segev, G., & Westropp, J. L. (2022). Urolithiasis in dogs: Evaluation of trends in urolith composition and risk factors (2006–2018). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(3), 1406–1415. doi: 10.1111/jvim.16114
14. Lulich, J. P., Osborne, C. A., Albasan, H., Monga, M., & Bevan, J. M. (2009). Efficacy and safety of laser lithotripsy in fragmentation of urocalculi and urethroliths for removal in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 234(10), 1279–1285. doi: 10.2460/javma.234.10.1279
15. Lulich, J. P., & Osborne, C. A. (2009). Changing Paradigms in the Diagnosis of Urolithiasis. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 39(1), 79–91. doi: 10.1016/j.cvs.2008.10.005
16. Martusevich, A. K., & Kozlova, L. M. (2017). Possibilities of urolithiasis crystallography. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 31(1), 23–27. doi:10.33899/ijvs.2017.126706
17. Mohammadbeigi, F., Shirani, M., Seyed-Salehi, H., & Afzali, L. (2019). Biochemical urinalysis of healthy kidney and stone-generating kidney in unilateral urolithiasis. *Journal of Renal Injury Prevention*, 8(2), 151–156. doi:10.15171/jrip.2019.28
18. Mendoza-López, C. I., Del-Angel-Caraza, J., Aké-Chiñas, M. A., Quijano-Hernández, I. A., & Barbosa-Mireles, M. A. (2019). Epidemiology of urolithiasis in dogs from Guadalajara City, Mexico. *Veterinaria México OA*, 6(1). doi:10.22201/fmvz.24486760e.2019.1.585.
19. Mendóza-López, C. I., Del-Angel-Caraza, J., Quijano-Hernández, I. A., & Barbosa-Mireles, M. A. (2017). Analysis of lower urinary tract disease of dogs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37 (11). doi: 10.1590/S0100-736X2017001100013
20. Mendoza-López, C. I., Del-Angel-Caraza, J., Aké-Chiñas, M. A., Quijano-Hernández, I. A., & Barbosa-Mireles, M. A. (2020). Canine silica urolithiasis in Mexico (2005–2018). *Veterinary Medicine International*, 8883487. doi:10.1155/2020/8883487
21. Nykamp, S. G. (2017). Dual-energy computed tomography of canine uroliths. *American Journal of Veterinary Research*, 78(10), 1150–1155. doi:10.2460/ajvr.78.10.1150
22. Perondi, F., Puccinelli, C., Lippi, I., Santa, D. D., Benvenuti, M., Mannucci, T., & Citi, S. (2020). Ultrasonographic Diagnosis of Urachal Anomalies in Cats and Dogs: Retrospective Study of 98 Cases (2009–2019). *Veterinary Sciences*, 7(3), 84. doi: 10.3390/vetsci7030084
23. Runge, J. J., Berent, A. C., Mayhew, P. D., & Weisse, C. (2011). Transvesicular percutaneous cystolithotomy for the retrieval of cystic and urethral calculi in dogs and cats: 27 cases (2006–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 239(3), 344–349. doi: 10.2460/javma.239.3.344
24. Samal, L., Pattanak, A. K., Mishra, C., Maharana, B. R., Narayan, L., & Baithalu, R. K. (2011). Natural Strategies to prevent uroliths in animals. *Veterinary World*, 4, 142–144.
25. Sharun, K., Manjusha, K. M., Kumar, R., Pawde, A. M., Malik, Y. P., Kinjavdekar, P., Maiti, S. K., & Iraqi, A. (2021). Prevalence of obstructive urolithiasis in domestic animals: An interplay between seasonal predisposition and dietary imbalance. *Journal of Veterinary Sciences*, 35(2), 227–232. doi:10.33899/ijvs.2020.126662.1358
26. Singh, A., Hodinott, K., Morrison, S., Oblak, M. L., Brisson, B. A., Ogilvie, A. T., Monteith, G., & Denstedt, J. D. (2016). Perioperative characteristics of dogs undergoing open versus laparoscopic-assisted cystotomy for treatment of cystic calculi: 89 cases (2011–2015). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 249(12), 1401–1407. doi: 10.2460/javma.249.12.1401
27. Singh, P., Chawla, S. K., Chander, S., Singh, K., Behl, S. M., & Chandolia, R. K. (2012). Ultrasonographic and radiographic observations in cases of obstructive urolithiasis in dogs. *Indian Journal of Veterinary Surgery*, 33(1), 45–46.
28. Sodhi, H. S., Kaur, G., Sharma, P., & Preet, G. S. (2021). Recent advances in diagnosis and treatment of canine urolithiasis. *Research trends in multidisciplinary research and development*, 8, 141–156.
29. Sobczak-Filipiak, M., Szarek, J., Badurek, I., Padmanabhan, J., Trębacz, P., Januchta-Kurmin, M., & Galanty, M. (2019). Retrospective Liver Histomorphological Analysis in Dogs in Instances of Clinical Suspicion of Congenital Portosystemic Shunt. *Journal of Veterinary Research*, 63(2), 243–249. doi: 10.2478/jvetres-2019-0026
30. Sturgess, K. (2009). Dietary management of canine urolithiasis. *Clinical Practice*, 31(7), 306–312. doi: 10.1136/inpract.31.7.306
31. Tion, M. T., Dvorska, J., & Saganuwan, S. A. (2015). A review on urolithiasis in dogs and cats. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 18, 1–18. doi: 10.15547/bjvm.806
32. Tiruneh, D., & Abdisa, T. (2017). Review on canine urolithiasis. *American Research Journal of Veterinary Medicine*, 1, 1–7.

33. Trehy M. (2022). Nutritional management of urolithiasis in dogs and cats. In Practice. 44(6), 316–327. doi: 10.1002/inpr.91
34. Tufani, N. A., Singh, J. L., Kumar, M., & Rajora, V. S. (2017). Diagnostic evaluation of renal failure in canine with special reference to urinalysis. Journal of Entomology and Zoology Studies, 5(6), 2354–2364.
35. Wen, J. J., & Johnston, K. (2012). Treatment of Urolithiasis in 33 Dogs and 13 Cats with a Novel Chinese Herbal Medicine. American Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine, 7(2), 39–45.

Samoiliuk V. V., PhD, Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Bily D. D., Dr. Vet. Sciences, Professor, Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Maslikov S. M., PhD, Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Vakulyk V. V., PhD, Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Features of the course, diagnosis and treatment of urolithiasis in dogs

monitoring studies determined the prevalence, age, sex, and seasonal characteristics of the course of urolithiasis in dogs in the conditions of a metropolis, carefully analyzed the diet of sick animals; urine sediment microscopy, X-ray and sonographic studies were performed. In the experiment, in addition to Ceftriaxone, No-Shpa and Phytoelita, antihomotoxic drugs (Mukosa Kompositum, Traumel Kompositum) and Dexamethasone were added to the treatment complex for dogs suffering from urolithiasis. In the absence of a therapeutic effect, a cystotomy was performed with the removal of uroliths. Of the concretions, oxalates and urates were more common. During differential diagnosis and quality control of treatment measures, x-ray and sonographic examination was performed in experimental and control groups. The high efficiency of these visual methods for urolithiasis has been noted. Urolithiasis was more common in overweight dogs aged 1 to 10 years. In most cases, the disease was registered in small breeds, especially Pekingese, cocker spaniels and Yorkshire terriers. The incidence of urolithiasis was recorded almost evenly throughout the year and was somewhat higher in the spring and autumn periods. The treatment of the animals of the experimental group was more effective, allowed to relieve inflammation sooner and ensure better regeneration of the mucous membranes of the urinary tract, which was confirmed by the results of laboratory and ultrasound studies. It has been established that by performing a visual diagnosis, it is possible to assess the state of the organs of the urinary system with high probability, identify concretions, determine their size and localization in order to prescribe effective conservative, operative or complex treatment. X-ray and sonographic studies of the urinary system make it possible to effectively monitor the dynamics of the effectiveness of medical measures, and, if necessary, to make corrections to the therapeutic effect on the animal's body. Microscopy of urine sediment, which is an accessible, informative and inexpensive method, is also important during differential diagnosis. During the complex treatment of dogs with urolithiasis, we recommend adding homeopathic drugs and glucocorticoids, and in the presence of large or insoluble calculi in the bladder, perform cytotomy.

Key words: urolithiasis, morbidity, calculi, research, urinary bladder.

МОДЕЛЬ ЕКОЛОГО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО СКРИНІНГУ КОРМОВОЇ БАЗИ ДЕМОНСТРАЦІЙНОЇ ПАСІКИ

Сідашова Світлана Олександрівна

кандидат сільськогосподарських наук

Аграрна дорадча служба Громадська організація «Всеукраїнська Рада Жінок Фермерів», м. Одеса, Україна

ORCID: 0000-0002-6123-9184

sidashova2020@ukr.net

Роман Лілія Григорівна

кандидат ветеринарних наук

Одеський державний аграрний університет, м. Одеса, Україна

ORCID: 0000-0002-4983-5418

liliyaroman@gmail.com

Улізько Сергій Іванович

кандидат ветеринарних наук

Одеський державний аграрний університет, м. Одеса, Україна

ORCID: 0000-0002-6123-9184

eritron@ukr.net

Попова Ірина Михайлівна

кандидат ветеринарних наук

Одеський державний аграрний університет, м. Одеса, Україна

ORCID: 0000-0002-6123-9184

ssirikpopova78@gmail.com

Ясько Валентина Михайлівна

кандидат сільськогосподарських наук

Одеський державний аграрний університет, м. Одеса, Україна

ORCID: 0000-0001-9876-8621

valentinayasko2207@gmail.com

Наслідки впливу військових дій на території України несуть в собі численні ризики хімічного забруднення агроландшафтів – основи кормової бази бджільництва. Зі складових елементів ґрунтів та води будуються тканини рослин, зокрема йде синтез у репродуктивних органах ентомофільних рослин нектару і пилку, як головного кормового ресурсу для бджіл. Дослідження останніх років довели, що хіміко-аналітичними методами неможливе повне біологічне визначення рівня шкочинності для організму тварин і людей впливу численних забруднювачів агресивного, антропогенно зміненого довкілля, з причин нез'ясованості шляхів біотрансформації та процесів синергії з іншими елементами довкілля, різних токсичних речовин зі складу ґрунту, що попадають у організм медоносних бджіл. На сьогодні вплив наслідків застосування сучасної зброї на території сільськогосподарських угідь недостатньо вивчено.

Розроблена методика використання мікробіологічного методу експрес-аналізу показників загальної токсичності різних об'єктів довкілля, що складають кормову базу бджільництва, може слугувати одночасно моделлю оцінки токсикогенності території і окремих об'єктів середовища та оперативним інструментом виявлення шкочинних елементів кормових ресурсів бджіл. Застосований у створенні методичної моделі спосіб (з допомогою синхронізованої культури інфузорій колпод) визначення показників загальної токсичності, зважаючи на універсальність його інтегрованого критерію шкочинності дії на мікро- і макроорганізми великого кола елементів довкілля, може слугувати одночасно методичною моделлю експрес-оцінки еколого-токсикологічного профілю території навкруги пасіки та оперативним і доступним інструментом виявлення окремих забруднювачів і пошуку шляхів ліквідації та профілактики екзоінтоксикацій бджіл та погіршення якості меду.

Попередні розвідкові експрес-дослідження окремих об'єктів довкілля (2014-2021 рр.) на території трьох областей України показали наявність загальної слабкої токсичності у питній воді в 20,48±8,95% зразків (P<0,01), а токсичності різного ступеня у вегетативних і генеративних частинах рослин – 5,56±3,51% зразків (P<0,001). Збільшення токсичних ушкоджень території України внаслідок воєнної агресії РФ кидає виклик для поглибленого наукового пошуку удосконалення методик оперативного реагування з метою профілактики екзоінтоксикацій кормової бази бджільництва і широкого застосування мікробіологічного способу експрес-біотестування рівня загальної токсичності об'єктів довкілля.

Ключові слова: бджоли, кормові ресурси, рослини-нектароноси, загальна токсичність, інфузорії *Colpoda steinii*, тесст-організми.

DOI <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.2.6>

Вступ. Особливості кормової бази бджіл витікають з технологічних відмінностей галузі бджільництва, яка базується на біологічних особливостях комах як виду. В бджільництві, на відміну від інших галузей тваринництва, кількість та якість кормових ресурсів значно менше залежать від власників бджолосімей, ніж від оточення їх пасіки. Те ж саме можна відмітити щодо ураження кормових ресурсів бджіл токсичними речовинами, які в сучасних умовах бджільництва в Україні недостатньо профілактикуються і часто слабо піддаються ідентифікації характеру полютантів внаслідок нерозвиненої санітарно-ветеринарної інфраструктури.

На сьогодні в Україні внаслідок воєнної агресії РФ суттєво погіршилась екологічна ситуація, в тому числі на великих площах агроландшафтів, які були традиційною кормовою базою бджільництва, що несе в собі безліч ризиків для здоров'я тварин і людей (Adamchuk, 2020; Hruzdova et al., 2022; Krupci et al., 2022).

Українськими спеціалістами з'ясовано, що відповідно до кліматичних умов та рослинного покриття території перші виліти бджіл після зимівлі здійснюються у кінці березня (з коливаннями 10-15 діб), коли зацвітають первоцвіти. Закінчується збирання корму бджолами за падіння температури вдень нижче 8° С тепла (в жовтні). Найбільш багатий взяток бджоли отримують під час інтенсивної роботи у червні-липні, коли квіти щедро виділяють нектар, тривала протяглість світлої пори стимулює розвиток рослин і літ бджіл-збирачок (Hodovaia..., 2020). Експериментально доведено, що збирачки приносять у медовому зобику від 40 до 60 мг нектару, а для отримання 1 кг свіжого нектару треба здійснити 25 тисяч вильотів, що, відповідно свідчить за дуже широке коло об'єктів кормової бази кожної бджолосім'ї. За сучасними даними найбільш типовою для вилітів робочих бджіл є територія в межах від 0,5-1-1,5 км і до 2-3 км, причому для окремих популяцій характерним явищем є флоро-спеціалізація до визначених видів рослин (Adamchuk, 2020).

Вчені з'ясували, що виділення нектару рослинами залежить від інтенсивності фотосинтезу у зелених листях, вмістищах хлорофілу. Органічні речовини, які утворюються внаслідок фотосинтезу, використовуються для формування нових тканин для росту рослин, витрачаються у процесі метаболізму для одержання енергії, відкладаються у запас, а також частково виділяються у вигляді нектару. Основою нектару є органічні цукри, які від листків безперервно рухаються по судинам флоєми до ростучих пагонів і коренів, а також до квіток, а потім – плодів (Hodovaia..., 2020).

Матеріалом для утворення нектару стає сік, який надходить по судинам флоєми, зрідка і ксилеми. На відміну від судинного соку нектар майже не має азотних сполук і складається з водорозчинних цукрів (сахарози, глюкози, фруктози у різних пропорціях). У деяких рослин нектар вміщує і більш складні сполуки – мальтозу, мелібіозу, рафінозу та незначну кількість декстринів, багатоатомних спиртів, органічних кислот і солей. Різні співвідношення окремих компонентів нектару зумовлює специфічний смак, аромат, колір тощо різ-

них моно- і поліфлорних сортів меду (Adamchuk, 2020; Hodovaia..., 2020).

Інтенсивність виділення нектару передусім залежить від активності фотосинтезу, але в значній мірі регулюється зовнішніми факторами, які впливають на ріст і розвиток рослини, а саме: характеристики ґрунту, водопостачання, агротехніки вирощування, погодних умов, екологічної ситуації на території (Kotsumbas et al., 1998). Таким чином, можна зробити попередній висновок, що біологічна безпечність квітучих рослин під час виділення нектару, яким живляться бджоли, залежить від численних факторів зовнішнього впливу, передусім, тих об'єктів природи, які безпосередньо контактують з рослиною (ґрунти, вода, повітря), а також від багаточисленних антропогенних факторів, значна частина яких може нести токсичні для комах речовини (добрива, гербіциди, інсектициди, побутові відходи, інші токсикогенні об'єкти довкілля, які знаходяться в межах льоту бджіл, і навіть на великій відстані, але можуть бути принесені вітром, водою тощо).

Дослідники вказують (Hruzdova et al., 2022), що сільськогосподарська сировина, до складу якої можна віднести і кормову базу бджільництва, забруднюється пестицидами прямим і непрямим шляхом. Пряме забруднення – під час оброблення сільськогосподарських культур, непряме – шляхом міграції токсичних речовин з ґрунту, запилення рослин ґрунтом під час розпушування полів, занесення забруднювачів під час оброблення сусідніх територій, попадання у водойми, використання забрудненої води для поливу рослин, оброблення лісів та лісонасаджень пестицидами тощо. Зокрема, встановлено що найбільше значення для рослин є міграція пестицидів у ґрунті, особливо для препаратів з високою хімічною стійкістю у об'єктах біосфери (Hruzdova et al., 2022). Треба зазначити, що динаміка міграцій токсичних забруднювачів у біологічних харчових ланцюжках на сьогодні вивчена недостатньо, що підкреслює актуальність дослідження еколого-токсикологічного профілю складових об'єктів, які мають дотичність до кормової бази бджіл через квітковий нектар і пилок шляхом визначення загальної токсичності, що вміщує залишкові кількості хімічних токсикантів.

Екологічні наслідки на прикладі постраждалих від військової агресії РФ територій України (порушення ґрунтового покриву, лісові і степові пожежі, забруднення поверхні землі нафтовими і хімічними викидами внаслідок підривів транспорту, ін.) можуть слугувати моделлю для висновків щодо екологічної безпеки територій.

На сьогодні, незважаючи на великий обсяг відомих методик визначення окремих хімічних токсикантів у кормових об'єктах (Kotsumbas et al., 1998; Persoone, 2014), науковці свідчать що аналітичні методи контролю токсичних сполук у довкіллі не є достатньо інформативними, оскільки демонструють тільки фізіологічно активні форми цих компонентів, а також не передбачають процеси комплексної трансформації небезпечних полютантів у живих організмах (Krupci et al., 2022).

Мікробіологічний тест відноситься до мультиспецифічних досліджень, які дають узагальнену (інтегровану)

відповідь щодо вмісту всіх разом шкідливих речовин у зразку, що випробується.

В якості тест-об'єктів інфузорії показують цілу низку технологічних переваг. Вони високо чутливі до малих кількостей токсинів грибного і хімічного походження, мають відносно велику площу поверхні контакту з розчиненими у воді полутантами, високий рівень метаболізму і прості у використанні. Всі ці переваги дозволяють у польових умовах звичайного сільгоспприємства або пасіки отримати результати щодо наявності або відсутності токсичності у зразку впродовж 1-3-х годин (Pozdnyakova et al, 2006; Vinokhodov et al., 1994).

Зважаючи на низку фізіологічних особливостей, саме інфузорія виду *Colpoda steinii* останнім часом набула актуальності в якості тест-організму, який реагує на хімічні, біологічні або інші ушкоджуючі фактори, аналогічно вищим макроорганізмам (Vinokhodov et al., 1994; 2006). Суттєва перевага *Colpoda steinii* перед іншими мікробіологічними тест-організмами полягає в тому, що стандартний штам інфузорії є синхронізованою культурою і має стабільну чутливість до токсичних сполук (Vinokhodov et al., 1994; 2006). Це дозволяє отримати стандартні результати експрес-біотестування за термін впродовж від 3-х хвилин до 3-х годин, а також забезпечує відтворення результатів за повторних досліджень. Простота і компактність методу дозволяє використовувати його у польових умовах, тобто там, де відсутні умови для експерименту на інших біологічних об'єктах (лабораторні миші, кролі, риби, ін.). Методика визначення загальної токсичності зразків середовища з допомогою сухої культури інфузорій *Colpoda steinii* може мати широке застосування на різних об'єктах сільськогосподарського виробництва на етапах вхідного, поточного і кінцевого контролю сировини та продукції, що особливо актуально в умовах різкого погіршення екологічної ситуації та неможливості оперативно визначити вид і характер забруднювачів.

В ряді зарубіжних джерел підкреслено необхідність біоконтролю токсичності продукції агросектора на всіх етапах виробництва виходячи з можливості біоаккумуляції шкідливих хімічних елементів (важкі метали, радіонуклеїди, бактерійні токсини тощо), що можуть проникати до високих трофічних рівнів, включаючи продовольчу базу населення (Persoone, 2014).

На сьогодні в літературі відсутні дані щодо широкого дослідження інтегрованої загальної токсичності різних об'єктів кормової бази бджіл, зокрема, недостатньо вивчено шкодочинну дію хронічного екзогенного ушкодження бджолосімей слабкими залишковими рівнями екзогенних токсинів технологічного походження (Sidashova et al., 2021). Зважаючи на значення медоносних бджіл як джерела високоякісних харчових продуктів (мед та апіпродукти) та одного з основних запилювачів сільськогосподарських культур, дослідження еколого-токсикологічного профілю кормових ресурсів пасіки має актуальність як модельна методика з широким науково-виробничим використанням.

Ціллю нашого дослідження було розробити методику визначення з допомогою експрес-біотестування

мікробіологічним способом (культура інфузорій *Colpoda steinii*) еколого-токсикологічного профілю об'єктів кормової бази бджіл на території, окресленої радіусом продуктивного льоту бджоли (до 3-5-х км у радіусі від центру пасіки), що може слугувати моделлю скринінгу показників загальної токсичності джерел кормів медоносних бджіл для будь-якої місцевості.

Для виконання мети нами визначено план робіт для здійснення ряду послідовних **завдань на наступний медоносний сезон**, а саме: провести аналіз попередніх розвідкових досліджень з метою інноваційного використання мікробіологічного експрес-тестування об'єктів у бджільництві; розробити план – графік відбору зразків для дослідження відповідно до календаря цвітіння медоносів; провести скринінгові дослідження показників загальної токсичності ґрунтів, води, квіткових рослин на території продуктивного льоту бджіл демо-пасіки; здійснити порівняльно-статистичний аналіз результатів експрес-біотестування і виявити токсигенні джерела у кормах, якими живляться бджоли впродовж медоносного сезону.

Матеріали і методи дослідження. В ході дослідження були використані наступні методи: аналітичний, статистичний, структурно-порівняльний, а також застосовані дані попередніх досліджень (за 2015-2022 рр.) із визначення способом експрес-біотестування з допомогою культури інфузорій колпод показників загальної токсичності зразків кормів, продуктів тваринництва та інших об'єктів довкілля, що було викладено у наших попередніх публікаціях (Sidashova et al., 2016-2022).

Для апробації моделі визначення еколого-токсикологічного профілю кормової бази бджільництва на прикладі демонстраційної пасіки «Петродолина» (Одеська обл.) було розроблено попередні підготовчі дії за планом робіт на наступний сезон медозбору, що викладено нижче.

План робіт для проведення еколого-токсикологічного експрес-біотестування зразків об'єктів території кормової бази бджолосімей демо-пасіки «Петродолина» (Одеська обл.)

- розроблено методичний підхід до визначення оперативним і доступним у польових умовах способом показників загальної токсичності різних об'єктів середовища (квітів рослин та субстрату, на якому вони ростуть) в межах продуктивного льоту бджіл окремої демонстраційної пасіки (10 бджолосімей);

- підготовано адаптований інструментарій для відбору зразків і проведення у польових умовах експрес-біотестування мікробіологічним методом з допомогою сухої культури інфузорій *Colpoda steinii*, що детально викладено у наших попередніх публікаціях (Sidashova et al., 2016-17);

- розраховано і підготовано за попередніми висновками наших скринінгових досліджень, необхідну кількість препаратів експрес-біотестів і розхідних матеріалів (Sidashova et al., 2016-17);

- підготовано з допомогою інтернет-ресурсу необхідні для проведення дослідження графічні зображення фрагментів GOOGLE-мап з визначеною площею (тери-

торія з окружністю до 3-5 км від центру демо-пасіки; рис. 1 і 2), де знаходяться об'єкти довкілля, дотичні до можливого токсичного впливу на кормову базу бджіл;

- проведено попереднє структурування території на GOOGLE-мапах з визначення графіку цвітіння окремих нектароносних (пилконосних) культур відповідно до календарю цвітіння, характерному для даної місцевості (Sidashova et al., 2020);

- розроблено структуру об'єктів дослідження, які знаходяться на території кормової бази бджіл демо-пасіки (грунти, водойми, площі дикорослих і культурних рослин-нектаро- і пилконосів, небезпечні і токсикогенні об'єкти – сміттєзвалища, тощо);

- підготовано план відбору зразків відповідно до перебігу медоносного сезону з використанням попередньо зроблених нами розвідкових досліджень: заплановано відбір зразків (грунт, проби води, дикорослі і культурні рослини) з кожного гектару території в радіусі до 3-5 км від центру локації демо-пасіки з орієнтацією на зображення GOOGLE-мапи;

- відповідно загальновідомої методики еколого-токсикологічного експрес-аналізу та проведених попередньо розвідкових скринінг-біотестів заплановано проведення 200-250 експрес-біотестувань зразків та фіксація наявності або відсутності в їх складі загальної токсичності у лабораторному журналі (Nastanova..., 2005; Informatsiyni..., 2005);

- в кінці сезону медозбору заплановано здійснити підсумковий аналіз отриманих впродовж всього дослідження результатів, їх статистичну обробку і порівняння відповідно до методики (Lakyn, 1990).

Детально методику дослідження зразків з допомогою препарату культури *Colpoda steinii*, яка зберігається в герметичних флаконах (рис. 3, а і в) впродовж 4-х місяців і може бути використана для випробування після 16-ти годинного культивування (оживлення) за температури 26-28 °С, нами було викладено у попередніх публікаціях (Sidashova et al., 2016-17). Після інцестування інфузорій, проводили контроль їх рухливості (рис. 4) і використовували як біотест-індикатори визначення загальної токсичності відповідно до вимог настанови (Nastanova..., 2005).

Проби зразків об'єктів середовища в межах кормової бази демо-пасіки (20 г, у двох повторюваннях) заплановано відбирати відповідно до вимог інструкції виробника препарату культури *Colpoda steinii* (Nastanova..., 2005; серії 121-128, ін.) з використанням модифікацій, розроблених у попередніх дослідженнях (Sidashova et al., 2016-17), що враховували фізичні характеристики зразків (грунт, вода, частини рослин тощо). Контроль рухливості тест-об'єктів проводили методом роздавленої краплі з п'яти різних точок мікроскопічного препарату (100x). Відповідно до показників робочої шкали загальної токсичності (Vinokhodov et al., 1994, 2006) у лабораторному журналі фіксували результати випробу-

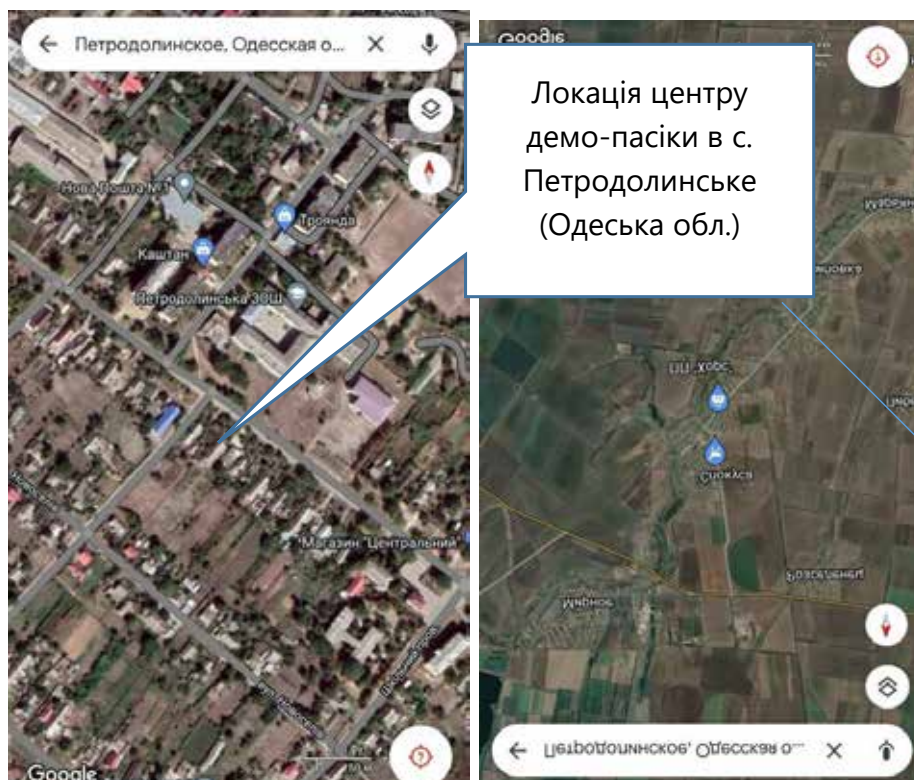


Рис. 1. Використання цифрового контенту для визначення кормових ресурсів бджіл та місць відбору зразків об'єктів довкілля навкруги (радіус території дослідження до 2-5 км) демо-пасіки по зображенням фрагментів GOOGLE-мапи з різною площею кормової території: а. Локація території демо-пасіки на фрагменті GOOGLE-мапи (радіус 50 м від центру пасіки); в. Локація території демо-пасіки на фрагменті GOOGLE-мапи з радіусом 2 км від центру пасіки



Рис. 3. Підготований зразок проби квіток рози чайної (а) і бузку дикорослого (в) (перед подрібненням квіток) та флакони сухої культури інфузорій *Colpoda steinii* з поживного середовища (для проведення попереднього інцестування тест-організмів)



Рис. 4. В полі зору мікроскопа (100х): оживлені, вже активні інфузорії колподи та ті інфузорії, які ще знаходяться в цистах. Рухливі форми вже живляться на колонії мікроорганізмів, що входять до складу поживного середовища (*Bacillus subtilis*) та готуються до розмноження

вань зразків по рівням: «гостро токсично», «токсично», «слабко токсично», «не токсично» (для кожного терміну тестування – через 3 хвилини контакту водного екстракту зразку з інфузоріями, через 10 хв. і через 3 години). Відсутність загальної токсичності у зразку, тобто безпечність об'єкту експрес-дослідження відповідатиме візуальна картина у полі мікроскопа – рухливі інфузорії *Colpoda steinii* з типовою морфологією (Vinokhodov et al., 1994, 2006; Pozdneakova et al., 2006; Sidashova, 2016).

Биометричну обробку одержаних результатів досліджень проведено за методикою (Лакун, 1990).

Результати досліджень. За результатами попередніх розвідкових досліджень впродовж 2014-2021 років, проведених нами в трьох областях України і викладених в ряді публікацій (Sidashova, 2016-17), було визначено, що серед об'єктів зовнішнього довкілля, які мали дотичність до кормових ресурсів бджільництва, зустрічались зразки з ознаками загальної токсичності (табл. 1 і 2).

Серед обстежених областей України тільки джерела артезіанської питної води (Полтавська область) для тваринницьких підприємств не показали ознак токсичності, що свідчило за екологічне благополуччя території. В інших обстежених областях для напування тварин використовували водопровідну хлоровану воду, що, відповідно, надало їй ознак слабкої токсичності у 11,11-37,50% ($P < 0,01$) випадків, які, вірогідно були пов'язані з підвищенням рівня вмісту сполук хлору у воді, бо інфузорії дуже чутливі до отруйної дії хлору.

В таблиці 2 наведені результати обстеження вмісту загальної токсичності в різних частинах зелених рослин, а саме: у вегетативних органах (листя, стебла) або у репродуктивних (квітки разом з прилеглими частинами рослин).

Підсумовані результати розвідкових експрес-досліджень показали, що у 5,56% зразках рослин ($P < 0,001$) виявлено ознаки різних рівнів загальної токсичності (від помітної до слабкої), що демонструвало необхідність проведення більш розширених випробувань, для уточнення шкочинності окремих елементів кормової бази пасіки впродовж сезону медозбору.

Обговорення. Для підтримання нормальної життєдіяльності окремої бджоли та бджолосім'ї в цілому існує потреба в чистій безпечній воді для пасіки, зокрема, враховуючи біологію комах, і на всій території продуктивного льоту бджіл (відкриті водойми тощо). Наші дослідження показали присутність слабкої загальної токсичності в значному відсотку (до 37,50%) проб питної водопровідної води деяких областей, що свідчить за необхідність приділити більше уваги забезпеченню якісною водою пасіки, що відмічено в ряді досліджень (Adamchuk, 2020; Sidashova et al., 2021).

Вплив на стан бджіл і показники якості меду відкритих джерел води, тих що знаходяться на територіях, які підпадали під дію токсикогенних факторів, що особливо актуально для післявоєнного часу, ще не вивчено. Вірогідно, визначення еколого-токсикологічних профілів окремих пасік може показати токсикогенний стан узагальненої картини питних джерел води, що змінився внаслідок ушкодження територій військовими діями, значення чого для всього агросектору і населення підкреслено у роботах українських вчених (Hruzdova et al., 2022; Krupei et al., 2022).

Широкомасштабних досліджень загальної токсичності як окремих елементів кормової бази бджіл (зокрема, ґрунтів, на яких ростуть квітучі рослини, які найчастіше відвідують бджоли) на сьогодні відсутні. В численних дослідженнях українських і зарубіжних авторів надаються дані щодо вмісту токсичності лише окремих шкочинних елементів, як то важкі метали, радіонуклеїди, окремі хімічні речовини, присутні у засобах боротьби зі шкідниками рослин тощо (Adamchuk, 2020; Kotsiumbas et al., 1998; Persoone, 2014). Така ситуація не дозволяє розробити оптимальні заходи забезпечення біологічної повноцінності кормової бази бджіл для пасік, що знаходяться у дуже різних умовах довкілля.

Використання сучасних можливостей цифровізації агросектора (наприклад, використання GOOGLE-мап) допомагають у організації методик оптимізації оцінки токсикогенності середовища, що формує кормову базу

Результати еколого-токсикологічного експрес-біотестування проб питної води для тваринницьких підприємств в 3-х областях України (2014-2019 рр.)

Область	Число проб	Результати випробувань, кількість зразків, %	
		нетоксичні	токсичні**
Дніпропетровська	10	66,67	33,33
Полтавська	6	100,00	0,00
Донецька	9	88,89	11,11
Одеська	10	63,50	37,50
Разом досліджено (M ± m)	35	79,67±8,79	20,48±8,95*

Прим.: * - $P < 0,01$ ($CV=22,059$; $td=4,723$); ** - показники всіх визнаних токсичними проб відповідали значенню "слабка загальна токсичність".

Таблиця 2

Результати еколого-токсикологічного експрес-біотестування зразків квітучих рослин-нектароносів (Одеська область, 2021 р.)

Зразки рослин	Число проб	Результати випробувань, кількість зразків, %	
		нетоксичні	токсичні
Садіві культури (квітки)	6	83,33	16,67
Дикорослі рослини (квітки)	6	100,00	0,00
Культурні рослини (квітки - роза чайна)	3	100,00	0,00
Зелені вегетативні частини рослини (кукурудза кормова)	9	88,89	11,11
Трава пасовища (вегетативні частини рослин)	5	100,00	0,00
Разом досліджено (M ± m)	29	94,44±3,51	5,56±3,51*

Прим.: * - $P < 0,001$ ($CV=7,858$; $td=17,886$).

бджільництва, на основі чого створюються умови розробки успішних заходів профілактики інтоксикацій бджолосімей і отримання меду з високими світовими стандартами якості.

Універсальність запропонованої методики експрес-оцінки еколого-токсикологічного профілю території формування продуктивності демонстраційної пасіки, що опирається на універсальний критерій оцінки інтегрованої загальної токсичності різних об'єктів (з допомогою тест-об'єктів – інфузорій колпод) дозволить оперативно оцінити і співставити рівень зміни шкодочинності кормових ресурсів пасік, розташованих в дуже несхожих регіонах і сприяти науковому пошуку адекватних засобів боротьби із загрозами інтоксикації організму бджіл та продукції, яку вони виробляють. Експрес-аналіз може дати наукову базу для розробки ефективної та оперативної профілактики екзоінтоксикацій об'єктів агроландшафтів і тварин, що на них мешкають.

Висновки.

В результаті попередніх розвідкових експрес-досліджень показників загальної токсичності різних об'єктів аграрного виробництва було встановлено наявність токсичних складових, дотичних до формування кормової бази бджіл. Серед проб питної води ($n=35$) виявлено шляхом експрес-біотестування з допомогою сухої культури інфузорій *Colpoda steinii* 11,11-37,50% зразків зі слабкою токсичністю, а серед зразків рослин ($n=29$) – від 0% до 16,67%, що свідчило за необхідність продовжувати скринінгові дослідження для встановлення еколого-токсикологічних профілів агроландшафтів на територіях в межах продуктивного льоту бджіл, як біоіндикаторів екологічного стану місцевості. Розроблена структурно-методична модель експрес-біотестування об'єктів кормових ресурсів демо-пасіки дозволяє формувати еколого-токсикологічний профіль за універсальними критеріями біологічної безпеки для значних територій України, ушкоджених хімічними забруднювачами внаслідок воєнної агресії.

Бібліографічні посилання:

- Adamchuk, L. O. (2020). Efektyvne vykorystannia bdzhil dla zapylennia sadiv ta yahidnykiv: metodychni rekomendatsii [Efficient vikoristannya bdzhil for sawing gardens and yagidnykiv: methodical recommendations]. Kyiv: St-Druk (in Ukrainian).
- Bakun, Yu., Sidashova, S. (2020). Orhanizatsiina model doradchoho suprovodu adaptatsii subiektiv hospodariuvannia ahropromysloвого vyrobnytstva do zminy klimatu [Organizational model of advisory support of adaptation of agro-industrial production entities to climate change]. Naukovyi zhurnal. Visnyk Khmelnytskoho natsionalnoho universytetu. № 2. (in Ukrainian).
- Hodovaia kormoobespechennost pchel (2022). [Annual food supply of bees.]. URL: <https://www.obnogka.ru/osnovysoderzhaniya-silnyh-pchelinyh-semej.html>. (in Ukrainian).
- Vynokhodov, D.O. (2006). Byotestyrovanye na kulturnakh ynfuzoryi v dyahnostycheskoi profylaktyke pyshchevykh otravleniy zhyvotnykh (obzor) [Biotesting on cultural ciliates in the diagnostic prevention of food poisoning in animals (review)]. Vetrynarnaia patolohiya. № 1. (in Ukrainian).
- Hruzdova, V.O., Koloshko, Yu.V. (2022). Skladovi harantii ekolohichnoi bezpeky u suchasnomu ahrokompleksi:

Component guarantees of ecological safety in a modern agricultural complex]. Zb. mat. I Mizhnar. nauk.-prkt.konf. "Podolannia ekolohichnykh ryzykiv i zahroz dlia dovkillia v umovakh nadzvychainykh sytuatsii – 2022" (26-27 travnia 2022, Poltava-Lviv) Potava: NUPP (in Ukrainian).

6. Informatsiyni lyst pro novovvedennia v systemu okhorony zdorovia. (2005). Vykorystannia infuzorii Colpoda steinii dlia otsiniuvannia toksychnosti v umovakh laboratorii sanitarno-epidemichnoi sluzhby [Information letter on innovations in the health care system. Use of Colpoda steinii infusoria to assess toxicity in sanitaryepidemiological service laboratories]. Ukladachi: Hryhorasheva I.M, Lozytskyi V.P. et al. Ukrmedpatentinform. Kiev (in Ukrainian).

7. Nastanova po zastosuvanniu preparatu kultury Colpoda steinii sukhoi dlia ekooho-toksykologichnykh doslidzhen obektiv zovnishnoho seredovyscha, produktiv tvarynnytstva ta ptakhivnytstva (2005). [Guidelines for the use of the drug culture of Colpoda steinii dry for eco-toxicological studies of environmental objects, livestock products and poultry]. Odesa (in Ukrainian).

8. Kotsiumbas, I., Malyk, O., Petereha, I., Chura, D. (1998). Toksykobiologichnyi kontrol novykh zasobiv zakhystu tvaryn [Toxicobiological control of new means of animal protection. Detection of long-term consequences]. Vyavlennia viddalenykh naslidkiv. Veterynarna medytsyna Ukrainy. № 2. (in Ukrainian).

9. Krupei, K.S., Riabko, I.Iu. (2022). Ekolohichni naslidky raketnykh obstriliv terytorii i akvatorii Ukrainy v umovakh viiny [Ecological consequences of rocket attacks on the territories and waters of Ukraine during the war]. Zb. mat. I Mizhnar. nauk. – prakt. konf. "Podolannia ekolohichnykh ryzykiv i zahroz dlia dovkillia v umovakh nadzvychainykh sytuatsii – 2022" (26-27 travnia 2022, Poltava-Lviv) Potava: NUPP (in Ukrainian).

10. Sidashova, S.O. (2017). Ekspres-biotestuvannia kormiv v umovakh fermy z vykorystanniam kultury infuzorii kolpody [Express biotesting of feed in the farm using the culture of infusoria colpods]. Ekskliuzyvnye tekhnolohyy. № 1 (46). (in Ukrainian).

11. Stryzhak, T.A., Sidashova, S.O., Palahuta, A.V. (2016). Metodyka ekspresdoslidzhennia toksykologichnoho profilu svynarskykh pidpriemstv [Methods of express research of toxicological profile of pig enterprises]. ITB IT NAAN. № 116. (in Ukrainian).

12. Sidashova S.O., Susol R.S. (2021). Skansen iz demo-polianoiu likarskykh roslynmedonosiv yak innovatsiia u zabezpechenni bazy naukovo-vyrobnychykh doslidiv u suchasnykh rynkovykh umovakh [Skansen with a demo-glade of medicinal honey plants as an innovation in providing a base of research and production research in modern market conditions]. Zb. nauk. st. «Rol naukovo-tekhnichnoho zabezpechennia rozvytku ahropromyslovoho kompleksu v suchasnykh rynkovykh umovakh»: mat. Vseukrainskoi naukovo-prakt. konf. (Dnipro, 25 liutoho, 2021 r.). NAAN, DU Instytut zernovykh kultur. Dnipro (in Ukrainian).

13. Sidashova, S., Bakun, Yu. (2020). Perspektyvy rozvytku bioekonomiky Ukrainy za vykorystannia potentsialu orhanichnykh simeinykh pasik [Prospects for the development of the bioeconomy of Ukraine using the potential of organic family apiaries]. Mat. dopovidei 5-ho Mizhnarod. naukovo-prakt. seminaru «Rozvytok bioenerhetychnoho potentsialu v silskomu hospodarstvi» (m. Kyiv, 7-8 liutoho 2020 r.), K.: Vydavnytstvo «Naukova stolysia» (in Ukrainian).

14. Sidashova, S.O., Yasko, V.M., Kirovych, N.O. (2020). Navchalna pasika yak model vprovadzhennia kontseptsii dualnoi osvity v ukraïnskomu ahromnomu sektori [Educational apiary as a model for implementing the concept of dual education in the Ukrainian agricultural sector]. Naukovo-informatsiyni visnyk biolohotekhnologichnoho fakultetu. Vyp. 13. Kherson:KhDAU, VTs «Kolos» (in Ukrainian).

15. Sidashova, S.O., Kliebanova, L.H., Popova, I.M. (2022). Monitorynh zahalnoi toksychnosti obektiv ahrolandshaftiv yak kormovoi bazy bdzhilnytstva [Monitoring the overall toxicity of agro-landscape objects as a fodder base for beekeeping]. Zb. ma. I Mizhnar. nauk.-prakt. konf. "Podolannia ekolohichnykh ryzykiv ta zahroz dlia dovkillia v umovakh nadzvychainykh sytuatsii – 2022", (26-27 travnia 2022 r., Poltava-Lviv). Poltava: NUPP (in Ukrainian).

16. Lakyn, N.F. (1990). Byometryia: ucheb. posobyie [dlia byol. spets. vuzov]. [Biometrics: textbook. allowance [for biol. specialist. universities]]. Moskva, Vysshaha shkola (in Russian).

17. Vinochodov, D., Vinochodov, V. (1994). Preparation for toxicological examination of poultry fodder. International conference "Biotechnology St. Petersburg SYMBOL "Symbol"94". St.Petersburg. Russia. Semptember 21-23. 1994. Program and abstracts. SPb. (in Russian).

18. Persoone. G. (2014). Toxiti. URL: <http://www.microbiotests.be/publications.html> 2014. Belgium, Ghent University

19. Pozdnyakova, L.I., Lozitsky, V.P., Grigorashcheva, I.N., Boschenko, Y.A., Gridina, T.L., Pozdnyakov, S.V. (2006). Biological method for the water, food, fodders and enviroment toxic chemical materials contamination. Medical treatment of indoxications and decontamination of chemical agents in the area of terrorism attac. Ed. C.dishovsky, A. Pivovarov, H. Benschop. NATO Security through Science Series – A Chemistry and Biology

20. Sidashova, S., L. Adamchuk, V. Yasko, N. Kirovich, D. Lisohurska, H. Postoienko, O. Lisogurska, S. Furman, L. Bezditko (2021). The inhibitory effect of Ukraine honey on probiotic bacteria. Postravinastvo Slovak Journal of Food Sciences. Vol. 16. <https://doi.org/0.5219/1721>

Sidashova S. O., Candidate of Agricultural Sciences, Agrarian advisory service Public organization «All-Ukrainian Council of Women Farmers», Odesa, Ukraine

Roman L. H., Candidate of Veterinary Sciences, Odessa State Agrarian University, Odesa, Ukraine

Ulizko S. I., Candidate of Veterinary Sciences, Odessa State Agrarian University, Odesa, Ukraine

Popova I. M., Candidate of Veterinary Sciences, Odessa State Agrarian University, Odesa, Ukraine

Yasko V. M. Candidate of Veterinary Sciences, Odessa State Agrarian University, Odesa, Ukraine

Ecological-toxicological model screening of feed base of demonstration apricot

The consequences of the impact of hostilities on the territory of Ukraine carry numerous risks of chemical contamination of agricultural landscapes – the basis of the fodder base of beekeeping. Plant tissues are built from the constituent elements of soil and water, in particular the synthesis of nectar and pollen in the reproductive organs of entomophytic plants as the main food resource for bees. Studies in recent years have shown that chemical-analytical methods can not fully determine the biological level of harm to animals and humans from the effects of numerous pollutants of aggressive, anthropogenically altered environment, due to unclear ways of biotransformation and synergy processes with other components of the environment of various toxic substances from the soil that enter the body of honey bees. At present, the impact of the consequences of the use of modern weapons on the territory of agricultural agreements is insufficiently studied.

The developed method of using the microbiological method of rapid analysis of general toxicity of various environmental objects that make up the fodder base of beekeeping can serve as a model for assessing the toxicity of the territory and individual objects and an operational tool for detecting harmful elements of forage resources. The method used to create a methodological model (using synchronized culture of colpod infusoria) to determine the indicators of general toxicity, given the universality of its integrated criterion of harmfulness to micro- and macroorganisms of a wide range of environmental elements, can serve as a methodological model of rapid assessment of ecological and toxicological around the apiary and an operational and affordable tool for detecting individual contaminants and finding ways to eliminate and prevent exo-intoxication of bees and deterioration of honey. Preliminary exploratory rapid studies of individual environmental objects (2014-2021) in the three regions of Ukraine showed the presence of general low toxicity in drinking water in $20.48 \pm 8.95\%$ of samples ($P < 0.01$), and the toxicity of various degree in the vegetative and generative parts of plants – $5.56 \pm 3.51\%$ of samples ($P < 0.001$). The increase in toxic damage to the territory of Ukraine due to military aggression of the Russian Federation challenges the in-depth scientific research to improve the methods of rapid response to prevent exo-intoxics of bee feed and widespread use of microbiological rapid biotesting of general toxicity.

Key words: bees, food resources, nectar-bearing plants, general toxicity, ciliates of *Colpoda steinii*, test organisms.

АКУШЕРСЬКО-ГІНЕКОЛОГІЧНА ДИСПАНСЕРИЗАЦІЯ КОРІВ ЗА МІКОТОКСИКОЗІВ

Чекан Олександр Миколайович

кандидат ветеринарних наук, доцент

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

ORCID: 0000-0002-5676-1947

achekanne@gmail.com

У статті наведено результати досліджень щодо поширення акушерської та гінекологічної патології корів за ураження мікотоксинами кормів, зокрема зерна кукурудзи та кукурудзяного силосу. При цьому дослідження проводили у двох скотарських господарствах на коровах української чорно-рябої породи віком 3-7 років. Метою досліджень було встановити кореляцію ураження кормів мікотоксинами, зокрема зеараленоном та дезоксініваленолом зерна кукурудзи та кукурудзяного силосу на відтворну здатність корів. На першому етапі визначали вміст мікотоксинів у кормах. В подальшому було проведено акушерсько-гінекологічну диспансеризацію. При цьому було використано клінічні методи досліджень. Було встановлено, що зеараленон як мікотоксин має естрогенно подібну дію та сприяє виникненню патології яєчників, зокрема патології яєчників у господарстві № 1 становила $26,0 \pm 1,47$ голів, що склало 21,55%, а у господарстві № 2 – $22,75 \pm 0,85$ голів (15,1%). При цьому, найбільша частка – 13 випадків у господарстві № 1 та 12 – у господарстві № 2 становили фолікулярні кісти, часті перегули, асинхронні та неповноцінні статеві цикли. В той же час патологія матки за дії дезоксініваленолу розвивалися патологічні процеси в органах статевої системи, зокрема хронічний ендометрит та становив 22% та 27% у першому та другому господарстві, відповідно. При цьому ускладнювався перебіг транзитного періоду у корів, який характеризувався уповільненням інволюційних процесів в органах статевої системи, що знижувало запліднюючу здатність корів. Так у корів 1 господарства запліднюваність від 1-го осіменіння склала $116 \pm 3,8$ голів (14,5%), а другого $108 \pm 3,39$ (21%). Крім того гінекологічна патологія у 1-му господарстві складала від 14,8 у 2021 році до 16,05% у 2020 році, а у 2-му господарстві аналогічний показник складала від 17,12% у 2021 році до 19,79% у 2020 році. Також через патологічні процеси в органах статевої системи діагностували багаторазові безрезультатні осіменіння, що суттєво знизило такий економічний показник як вихід телят на 100 корів. Цей показник у 1- господарстві протягом 4-х років склав $65,5 \pm 1,76$ т/100 корів, а у другому – $71,5 \pm 1,04$. Встановлено, що ураження мікотоксинами кормів для корів суттєво знижує відтворювальну здатність і завдає значних економічних збитків.

Ключові слова: мікотоксини, мікотоксикози, корови, акушерсько-гінекологічна диспансеризація, неплідність, яловість, штучне осіменіння, заплідненість.

DOI <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.2.7>

Вступ. В тваринництві України кукурудза є важливою зерновою та фуражною культурою та використовується як основний енергетичний інгредієнт у кормах для худоби. Як злакова культура кукурудза схильна до зараження численними захворюваннями, включаючи грибкові захворювання родів *Aspergillus*, *Fusarium* і *Penicillium* (Vlajkov, V et al., 2021). Колонізація та ріст цих грибів може призвести до різноманітних впливів на культуру, таких як зниження врожаю та зміна якості, а також забруднення мікотоксинами (Oldenburg, E. et al., 2017). Мікотоксини або вторинні метаболіти, що виробляються пліснявою, є особливо проблематичними для тваринництва через здатність цих сполук модулювати метаболізм і мікробну реакцію, включаючи несприятливий вплив на роботу шлунково-кишкового тракту та імунітету, відтворення, приріст і економічну ефективність (Liew, W. P., & Mohd-Redzwan, S., 2018, Ülger, T. G. et al., 2020).

На ріст плісняви та утворення мікотоксинів впливають різноманітні фактори, включаючи кліматичні умови, агрономічні прийоми та фізичну обробку зерна (Eli, K., et al., 2022). Крім того, мікотоксини можуть утворюватися на всіх етапах виробництва сільськогосподарських культур і кормів (Nouraldein Mohammed Hamad Mosab, 2018), тобто перед збором врожаю, під час збору врожаю, під час зберігання кормів, під час обробки кормів, під час зберігання повнораціонних кормів або під

час згодовування на фермі (Ali, Tehreem & Sarwar, 2020). Якщо мікотоксини утворюються на будь-якій із цих стадій, зниження рівня їх забруднення хімічними, біохімічними чи фізичними засобами є складним через притаманну їм стійкість до температури, рН (Tarazona, A. et al., 2021) або інші методи біотичної детоксикації (Ponce-García, N., et al., 2018). Таким чином, худоба споживає мікотоксини, що може призвести до негативного впливу на здоров'я та продуктивність (Kemboi, D. C., et al., 2020).

Хоча глобальні правила щодо мікотоксинів, як правило, зосереджені на кількох ключових мікотоксинах окремо, існує багато різних типів мікотоксинів, включаючи кон'юговані та нові мікотоксини (Anastasiadis, V., et al., 2020.). Крім того, посіви рідко заражаються одним мікотоксином, а досить великою кількістю мікотоксинів одночасно. Нещодавнє дослідження кукурудзяного силосу показало, що 45% зразків містили п'ять або більше мікотоксинів із 21 проаналізованих (Gallo, A., et al., 2021). Оскільки тварини постійно піддаються впливу сумішей мікотоксинів протягом усього свого життєвого циклу, навіть нижчі концентрації можуть призвести до взаємодій, які впливають на здоров'я та ефективність (Miličević, D. R., et al., 2017). Таким чином, оцінка присутності кількох мікотоксинів у кормах і готових раціонах є важливою, навіть якщо концентрації цих мікотоксинів є нижчими нормативних меж (Schabo, D. C., et al., 2021).

За останнє десятиліття було опубліковано численні праці з усього світу, що показують профілі забруднення мікотоксинами. Однак мало хто зосередився на виробництві кукурудзи, і ще менше досліджували профілі мікотоксинів як у зерні кукурудзи, так і в кукурудзяному силосі (Weaver, A. C., et al., 2021).

Цвіль присутня в усьому навколишньому середовищі. Спори знаходяться глибоко в ґрунті та рослинних залишках і готові заразити рослину, що росте в полі. Польові хвороби характеризуються втратою врожаю, втратою якості та зараженням мікотоксинами. Вироблення мікотоксинів зазвичай пов'язані з екстремальними погодними умовами, що призводять до стресу рослин або гідратації кормів, поганої практики зберігання, якості кормів та умов годівлі (Patal, A., et al., 2020).

Загально визнано, що мікроскопічні гриби родів *Aspergillus*, *Fusarium* і *Penicillium* є найбільш важливими в утворенні мікотоксинів, шкідливих для великої рогатої худоби (Stranska, M., et al., 2022). Мікотоксини, що викликають найбільше проблем у скотарстві такі: афлатоксин, який зазвичай утворюється грибами *Aspergillus*; дезоксиніваленол, зеараленон, Т-2 токсин і фумонізін, які продукуються фузаріозними грибами; а також охратоксин, що виробляється цвілевими грибами *Penicillium*. Існують сотні мікотоксинів, різноманітних за своїм хімічним складом і дією на тварин. У природі мало ймовірно, що один мікотоксин буде присутній у кормі без присутності інших мікотоксинів (Kövesi, B., et al., 2020).

Мікотоксини можуть збільшити частоту захворювань і знизити ефективність виробництва великої рогатої худоби (Sotnichenko, A., et al., 2019).

Визнання впливу мікотоксинів на продуктивність тваринництва було обмежене через складність діагностики. Симптоми часто неспецифічні та є результатом серії ефектів, що робить діагностику важкою або неможливою через змішані клінічні ознаки. Труднощі діагностики збільшуються через обмеженість досліджень, наявність кількох мікотоксинів, нерівномірний розподіл, взаємодію з іншими факторами та проблеми відбору проб та аналізу (Moura, R. D., et al., 2020).

Через складність діагностики визначення проблеми мікотоксинів стає процесом елімінації та асоціації. Деякі основи можуть бути корисними: 1) Мікотоксини слід розглядати як можливий основний фактор, що призводить до втрат виробництва та збільшення частоти захворювань. 2) Описані клінічні ознаки у жуйних можуть бути використані як загальний посібник щодо того, що спостерігається на фермі. 3) Системні ефекти, а також специфічне пошкодження тканин-мішеней можуть бути використані як керівництво щодо можливих причин. 4) Через пригнічувальну дію мікотоксинів на імунітет можуть спостерігатися нетипові захворювання або підвищена частота захворювань. 5) Реакція на додавання дієтичних адсорбентів або розведення зараженого корму може допомогти в діагностиці. 5) Слід проводити аналізи кормів, але точний відбір проб є проблемою (Park, S. H., et al., 2015).

Найчастіше страждають корови, які переживають стрес, наприклад молоді корови. Симптоми можуть бути

неспецифічними та широкого діапазону, і може бути лише кілька помітних симптомів, включаючи зниження виробництва молока, зменшення споживання корму, періодичну діарею (іноді з кривавим або темним гноєм), зменшення споживання корму, грубий волосяний покрив, зниження репродуктивної функції, продуктивність, включаючи нерегулярні цикли тички, тичку у вагітних корів і зниження рівня запліднення. Також може спостерігатися збільшення захворюваності на такі захворювання, як зміщення сичуга, кетоз, затримка посліду, метрит і мастит (Lin, X., et al., 2021).

Дезоксиніваленол – це мікотоксин, що виробляється фузаріозом, який зазвичай виявляють у зернах, таких як кукурудза, пшениця, ячмінь і овес. Його іноді називають вомітоксином, оскільки вперше він був пов'язаний із блювотою у свиней. Вплив DON на молочну худобу не встановлено, але клінічні дані показують зв'язок між забрудненням DON раціону та низькою продуктивністю молочних стад.

Як і інші мікотоксини, чистий DON, доданий до раціонів, не має такої токсичності, як DON, що надходить із природно забруднених кормів. Вважається, що це результат взаємодії багатьох мікотоксинів у природно забруднених кормах. Ці мікотоксини можуть взаємодіяти, викликаючи симптоми, які відрізняються від очікуваних або є більш серйозними (Awarak, D., et al., 2021). Наприклад, тепер відомо, що фузаринова кислота взаємодіє з DON, викликаючи блювотні ефекти, які раніше приписували лише DON, що призвело до використання тривіальної назви блювотного токсину для DON (Niehaus, Eva-Maria & Diaz-Sanchez, 2014). Вважається, що DON служить маркером, який вказує на те, що корм був підданий ситуації, яка сприяла розвитку цвілі та можливому утворенню кількох мікотоксинів. Корм, позитивний на DON, може містити інші мікотоксини; отже, рівень DON у раціоні від 300 до 500 мкг/кг може вказувати на проблемну годівлю та потребує уваги (Wu, J.-G & Li, H.-Y & Cheng, N.-K, 2017).

Токсин Т-2 є дуже потужним мікотоксином, що виробляється фузаріозом, який міститься в невеликій кількості зразків корму (<10%). Т-2 пов'язаний зі зниженням споживання корму, втратою врожаю, гастроентеритом, кишковою кровотечею, зниженням репродуктивної здатності та смертю. Т-2 є токсичним для тканин кишечника, лімфоїдних тканин, печінки, нирок, селезінки та кісткового мозку, і, як відомо, він перешкоджає синтезу білка та пригнічує імунітет. Хоча дані щодо великої рогатої худоби обмежені, вплив на лабораторних тварин добре описаний (Yang, X., et al., 2020). Загибель великої рогатої худоби була пов'язана з дієтичними рівнями вище 500 мкг/кг. Хоча даних щодо великої рогатої худоби недостатньо для встановлення допустимого рівня Т-2, ми рекомендуємо уникати понад 100 мкг/кг токсину Т-2 у загальному раціоні (Pogrmic-Majkic, K., et al., 2019).

Зеараленон – це мікотоксин, що утворюється фузаріозом, має хімічну структуру, подібну до естрогену, і може викликати естрогенну реакцію у тварин. Зеараленон виробляється видами *Fusarium*, які викликають гниль колосків і стебла кукурудзи.

Встановлення допустимого рівня зеараленону для великої рогатої худоби неможливо на основі обмеженої кількості даних. Як і ДОН, зеараленон може служити маркером токсичного корму. Зеараленон вище 200-300 мкг/кг у раціоні може викликати занепокоєння (Fu, Y., et. al., 2021)

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили у двох господарствах Сумської області протягом 2018-2021 на коровах української чорно-рябої породи. В досліді брали участь 430 корів у 1-му господарстві та 584 корови у 2-у.

При цьому для встановлення відтворної здатності використовували журнали руху поголів'я, журнал техніка штучного осіменіння, амбулаторний журнал (у господарстві 1) та журнал реєстрації хворих тварин (у господарстві 2)

Для встановлення діагнозу на акушерські та гінекологічні патології використовували клінічні методи, зокрема огляд, пальпація та ректальна УДЗ-діагностика з використанням УЗД для тваринництва Tringa Vet.

Сертифіковані стандартні розчини ZEN, ZAN, α -ZAL, β -ZAL, α -ZOL, β -ZOL та ізотоп мічений внутрішній стандарт (IS) 13C18-ZEN (25 мкг мл-1) були отримані від Romer Labs (Тулльн, Австрія).

Змішаний стандартний розчин готували з концентрацією 1 мкг/мл для кожного аналізу та зберігали при 4 °С. Робочі розчини змішаного стандарту готували в початковій рухомій фазі на початку кожної партії вимірювань. Розчин ферменту був свіжоприготований шляхом розчинення 14,4 мг β -глюкуронідази (694300 ОД г твердої речовини-1) в 10 мл 0,075 моль л-1 фосфатного буфера (рН 6,8, приготований з одноосновним і двоосновним фосфатом калію) згідно з інструкціями постачальника в день використання. 96-лунковий μ Elution планшет Oasis@PRIME HLB (3 мг сорбенту на лунку) було придбано у Waters (Мілфорд, Массачусетс, США).

Калібрувальні стандартні розчини на рівнях 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2, 5, 10, 20 і 50 нг мл-1 для кожного аналізу виготовляли серійними розведеннями змішаного стандартного розчину. Кожен калібрувальний стандартний розчин містив 25 мкг мл-1 13C18-ZEN як внутрішній стандарт. Зразки готували при низьких, середніх і високих концентраціях (0,5, 1 і 5 нг/мл) шляхом додавання стандартної суміші в порожню матрицю сироватки.

Підготовка зразка сироватки крові корів. Після розморожування при кімнатній температурі зразки сироватки центрифугували при 8000×g протягом 20 хвилин при 4 °С. 13C18-ZEN додавали до 100 мкл надосадової рідини як внутрішні стандарти з кінцевою концентрацією 25 мкг/мл з подальшим розведенням 100 мкл фосфатного буфера (рН 6,8, 0,075 моль/л). У відповідних умо-

вах вакууму планшет Oasis@PRIME HLB μ Elution попередньо обробили метанолом і водою (500 мкл кожного) для кондиціонування, а потім завантажили розведені зразки, яким дозволили повільно текти через картридж зі швидкістю приблизно 0,5 мл/хв. Згодом лунки промивали 500 мкл води, а потім 500 мкл суміші метанол/вода (1/1, об'єм/об'єм). Після розведення водою 1:1 розчин вводили для аналізу UPLC-MS/MS (Matraszek-Zuchowska, I., et. al., 2013).

Для загального (вільного + кон'югатного) аналізу.

Після розморожування, центрифугування та додавання внутрішніх стандартів 500 мкл зразка сироватки змішували з 500 мкл розчину ферменту, що містить 500 одиниць β -глюкуронідази, і струшували на водяній бані при 37 °С протягом ночі. Потім отриманий розчин центрифугували (8000×g; 20 хв; 4 °С); і 200 мкл супернатанту завантажували на попередньо кондиціонований (як зазначено вище) PRIME HLB μ Elution планшет. Наступні кроки були точно такими ж, як описано вище (Bettelheim, Eldad, et. al., 2022).

Результати. Мікотоксини можуть бути основним агентом, що спричиняє гострі проблеми зі здоров'ям або продуктивністю в молочному стаді, але більш ймовірно, що мікотоксини є фактором, що сприяє хронічним захворюванням, включаючи високу частоту захворювань, погана репродуктивна здатність або неоптимальне виробництво молока. Вони проявляють свій вплив через чотири основних механізми:

- зменшення споживання корму або відмова від корму,
- зміна вмісту поживних речовин у кормах, а також зниження поживних речовин і метаболізму;
- зміни в роботі ендокринної систем;
- пригнічення імунної системи.

Кількість мікотоксинів у кормах, що використовують для годівлі корів представлені у таблиці 1.

Деякі автори пов'язують зеараленон з естрогенними реакціями та серйозними проблемами фертильності великої рогатої худоби, включаючи аборти. Симптоми включали вагініт, виділення з піхви, погану репродуктивну здатність і збільшення молочних залоз у телиць (Manguso, Nicholas et.al., 2022).

У дослідженні раціону з приблизно 750 мкг/кг зеараленону та 500 мкг/кг DON призвели до недостатнього споживання, зниження утворення молока, діареї, збільшення кількості запальних реакцій репродуктивного тракту та повної репродуктивної недостатності

Дані щодо показників відтворення корів у господарствах Сумської області наведено у таблиці 2.

Встановлено, що кількість вагітних корів у господарстві 1 за 4 роки досліджень станом на 1 січня становила

Таблиця 1

Виявлені мікотоксини та їх відсоток в зразках кукурудзи та силосу

К-ть мікотоксинів, балів		0	1	2-3	4-6	7-9	10-12
Кукурудза	Кількість проб	9,00	54,00	144,90	275,40	135,00	21,60
	%	1,26	7,56	20,34	38,70	18,99	3,06
Силос	Кількість проб	4,50	27,90	209,70	492,30	236,70	32,40
	%	0,36	2,52	18,81	44,10	21,15	2,88

Основні показники відтворення корів у господарствах за 2018-2021 роки на 01.01

Господарство	Рік	Всього корів	Вагітних		Гінекологічна патологія		Заплідненість після 1 осіменіння		Вихід телят на 100 корів
			к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%	
№ 1	2018	427	216	50,59	115	26,23	112	15,93	68
	2019	431	229	53,13	127	26,68	115	14,62	63
	2020	430	225	52,33	118	29,53	127	16,05	69
	2021	419	201	47,97	125	26,25	110	14,80	62
	За 4 роки	426,75±2,72	217,75±6,2		121,25±2,8		116±3,8		65,5±1,76
№ 2	2018	584	318	54,45	135	23,12	100	17,12	69
	2019	575	310	53,91	139	24,17	105	18,26	71
	2020	579	318	54,92	167	28,84	112	19,34	72
	2021	581	329	56,63	169	29,09	115	19,79	74
	За 4 роки	579,75±1,89	318,75±3,9		152,5±9,0		108±3,39		71,5±1,04

Таблиця 3

Основні показники акушерської патології корів у господарствах за 2018-2021 роки

Господарство	Рік	Всього хворих корів	Порушення динаміки родів		Патологія родових шляхів		Неправильне розміщення плоду		Виродливість плодів	
№ 1	2018	65	22	33,85	2	3,08	39	60,00	2	3,08
	2019	66	19	28,79	1	1,52	45	68,18	1	1,52
	2020	64	15	23,44	3	4,69	45	70,31	1	1,56
	2021	62	26	41,94	1	1,61	34	54,84	1	1,61
	За 4 роки	64,25±0,85	20,5±2,33		1,75±0,48		40,75±2,66		1,25±0,25	
№ 2	2018	69	29	42,03	1	1,45	37	53,62	2	2,90
	2019	68	28	41,18	3	4,41	34	50,00	3	4,41
	2020	67	26	38,81	2	2,99	38	56,72	1	1,49
	2021	65	27	41,54	2	3,08	35	53,85	1	1,54
	За 4 роки	67,25±0,85	27,5±0,65		2±0,41		36±0,91		1,75±0,48	

217,75±6,2 що склало в середньому 51%. При цьому гінекологічна патологія склала 121,25±2,8 випадків, що в середньому було на рівні 27,17% від загальної кількості тварин. При цьому заплідненість корів після 1 осіменіння складала 15,35% від загальної кількості корів. Вихід телят на 100 корів становив 65,5±1,76.

Порівнюючи аналогічні показники у господарстві № 2 слід вказати на те, що серед 579,75±1,89 корів вагітних на 1 січня було 318,75±3,9 (54,98%), при цьому гінекологічну патологію було діагностовано у 152,5±9,0 (26,31%) корів, заплідненість після 1-го осіменіння була на рівні 108±3,39 (18,63%). Показники гінекологічної патології у обох господарствах відрізнялися недостовірно і були доволі високими, що на нашу думку пов'язано із негативним впливом мікотоксинів на імунну систему корів, що перебувають у транзитному періоді або відразу після нього. Це узгоджується з думкою більшості авторів (Ayala-Soldado et. al., 2022).

У зв'язку з цим нами було досліджено показники акушерської патології (табл. 3) у цих господарствах.

При цьому було встановлено, що акушерська патологія становила 64,25±0,85 корів за дослідний період, із них 20,5±2,33 становила патологія порушення родової діяльності, тобто це були довгі роди (більше 8 годин).

Дана ситуація пов'язана із токсичним впливом на мускулатуру матки, неможливістю накопичення в достатній кількості глікогену у м'язових волокнах, порушенні утворення окситоцину, що і приводило до слабких перейм та потуг. Подібні дані були отримані іншими дослідниками (Roche, J. R, et. al., 2017).

Крім того більшу частину патології родів склали невірні розміщення плодів по відношенню до родових шляхів. Так у господарстві № 1 цей показник становив 40,75±2,66 голів, а господарстві № 2 3,6±0,91 голів, що достовірно не відрізнялося. На нашу думку це пов'язано із порушенням третьої стадії вагітності, коли плід інтенсивно набирає вагу, і недостатньому тону мати, що призводить до неправильного розміщення плоду у порожнині матки, а інколи і до перекручування матки. Інші вчені вказують на те, що при дії мікотоксинів порушується всмотуюча здатність кишківника, що веде до порушення засвоєння та використання кальцію під час транзитного періоду, що зумовлює порушення як родової діяльності, так і перебігу післяродового періоду (Wagner, N., et. al., 2021).

В той же час зріз даних гінекологічної патології (таблиця 4) вказує на те, що при хронічній дії мікотоксинів нами було встановлено випадки гіпо- та атрофії

органів статеві системи на рівні 40% від загальної кількості гінекологічної патології, що вказує на порушення відновних та метаболічних процесів в організмі корови протягом транзитного періоду.

Так, патологія яєчників у господарстві № 1 становила $26,0 \pm 1,47$ голів, що склало 21,55%, а у господарстві № 2 – $22,75 \pm 0,85$ голів (15,1%). При цьому (рис. 1), найбільша частка – 13 випадків у господарстві № 1 та 12 – у господарстві № 2 становили фолікулярні кісти, часті перегули, асинхронні та неповноцінні статеві цикли.

Також досить суттєвими були патології матки, що становили у господарстві № 1 $41,0 \pm 5,8$ випадків, а у господарстві № 2 $57,75 \pm 7,41$. При цьому (рис. 2) випадків запалення шийки матки у господарстві № 1 було зареєстровано 15 випадків, а у господарстві № 2 17.

Хронічний ендометрит після закінчення транзитного періоду становив 22 та 27 випадків. Гіпо- та атрофія тканин матки діагностували на рівні 26 випадків у господарстві № 1 та 22 у господарстві № 2.

Порушення у метаболічних та відновних процесах, що активно відбуваються в транзитному періоді призводять не тільки до виникнення патологічних станів в

органах статеві системи, а і до переходу запалення у хронічний процес. Оскільки, транзитний період є найбільш стресовим періодом, то саме в цей час необхідно приділяти найбільше уваги діагностиці та профілактиці виникнення

Обговорення. Концентрації мікотоксинів були виявлені в 98,6% зразків зерна кукурудзи, при цьому 90,2% зразків містили два або більше мікотоксинів (табл. 1). Середня кількість мікотоксинів на зразок становила $4,79 \pm 2,44$ з мінімумом 0 і максимумом 12 мікотоксинів, виявлених у цих зразках із 35 перевірених. Лише 1,4% проб не містили мікотоксинів. Найпоширенішою групою мікотоксинів були трихотецени типу В, що включають дезоксиніваленол (DON), 3-ацетил-дезоксиніваленол (3aDON), 15-ацетил-дезоксиніваленол (15ADON), дезоксиніваленол-3-глюкозид (D3G), ніваленол (NIV) і фузаренон Х (FX), виявлено у 81,7% проб.

Мікотоксини були виявлені в 99,6% проб кукурудзяного силосу, при цьому 96,8% проб містили два і більше мікотоксинів. Зразки містили від 0 до 13 мікотоксинів одночасно, із середньою кількістю мікотоксинів на зразок $5,18 \pm 2,26$ (Lin, X. et. al., 2021).

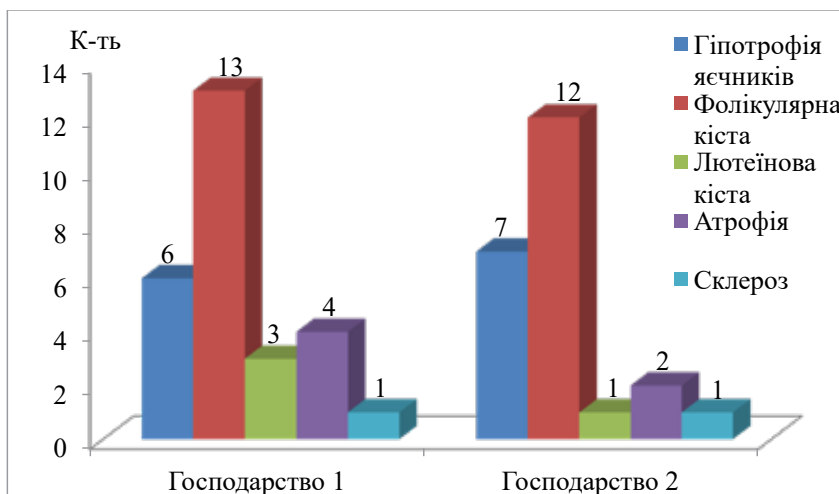


Рис. 1. Патологія яєчників

Таблиця 4

Основні показники гінекологічної патології корів у господарствах за 2018-2021 роки

Господарство	Рік	Всього хворих корів	Гіпо-, атрофія		Патологія яєчників		Патологія яйцепроводів		Патологія матки	
			к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%
№ 1	2018	115	52	45,22	27	23,48	6	5,22	30	26,09
	2019	127	48	37,80	22	17,32	5	3,94	52	40,94
	2020	118	50	42,37	29	24,58	7	5,93	32	27,12
	2021	125	43	34,40	26	20,80	6	4,80	50	40,00
	За 4 роки	$121,25 \pm 2,8$	$48,25 \pm 1,93$	$26 \pm 1,47$	$6 \pm 0,41$	$41 \pm 5,80$				
№ 2	2018	135	59	43,70	25	18,52	8	5,93	43	31,85
	2019	139	64	46,04	21	15,11	7	5,04	47	33,81
	2020	167	68	40,72	23	13,77	6	3,59	70	41,92
	2021	169	71	42,01	22	13,02	5	2,96	71	42,01
	За 4 роки	$152,5 \pm 9,0$	$65,5 \pm 2,59$	$22,75 \pm 0,85$	$6,5 \pm 0,65$	$57,75 \pm 7,41$				

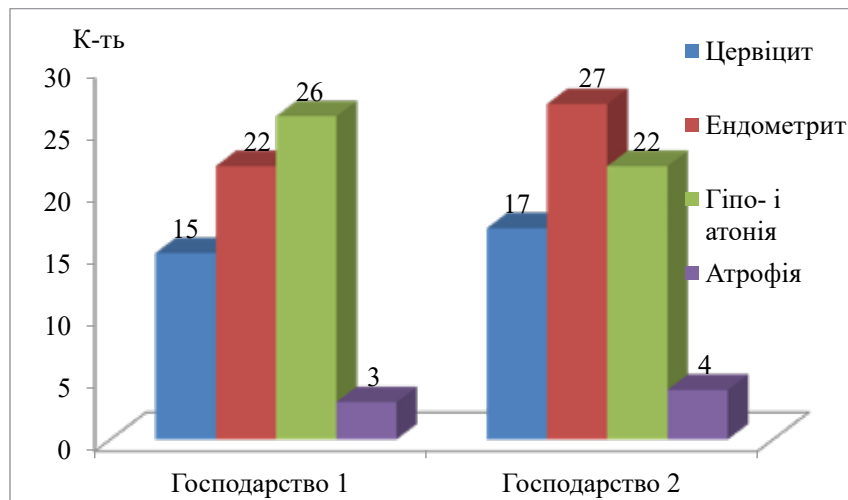


Рис. 2. Патологія матки

Після прийому всередину ZEN переважно метаболізується до двох гідроксильних ізомерів α -зеараленолу (α -ZOL) і β -зеараленолу (β -ZOL), які згодом можуть бути відновлені до α -зеараланолу (α -ZAL) та β -зеараланолу (β -ZAL) відповідно. Також виявлено, що невелика частина α -ZAL перетворюється на β -ZAL і зеараланон (ZAN). Крім того, ці метаболіти, як і сам ZEN, можуть частково кон'югувати з глюкуроною кислотою і значною мірою виводитися з жовчю. Глюкуронід ZEN також може повторно поглинатися та далі метаболізуватися клітинами слизової оболонки кишечника, зрештою надходячи до печінки та системного кровообігу

через портальне кровопостачання (Manguso, Nicholas et. al., 2022).

Висновки.

1. У раціоні з було встановлено 750 мкг/кг зеараленону та 500 мкг/кг DON, що веде до зниження апетиту, молочної продуктивності, діареї та неплідності.

2. За впливу мікотоксинів у господарстві № 1 гінекологічна патологія складала $121,25 \pm 2,8$, у господарстві № 2 $152,5 \pm 9,0$.

3. При поїданні кормів, що уражені мікотоксинами у корів збільшується кількість фолікулярних кіст до 26% від загальної кількості гінекологічно хворих тварин.

Бібліографічні посилання:

- Vlajkov, V., Grahovac, M., Budakov, D., Loc, M., Pajčin, I., Milić, D., Novaković, T., & Grahovac, J. (2021). Distribution, Genetic Diversity and Biocontrol of Aflatoxigenic *Aspergillus flavus* in Serbian Maize Fields. *Toxins*, 13(10), 687. <https://doi.org/10.3390/toxins13100687>
- Oldenburg, E., Höppner, F., Ellner, F., & Weinert, J. (2017). Fusarium diseases of maize associated with mycotoxin contamination of agricultural products intended to be used for food and feed. *Mycotoxin research*, 33(3), 167–182. <https://doi.org/10.1007/s12550-017-0277-y>
- Liew, W. P., & Mohd-Redzwan, S. (2018). Mycotoxin: Its Impact on Gut Health and Microbiota. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 8, 60. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00060>
- Ülger, T. G., Uçar, A., Çakıroğlu, F. P., & Yılmaz, S. (2020). Genotoxic effects of mycotoxins. *Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology*, 185, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.07.004>
- Eli, K. & Schaafsma, Arthur & Hooker, David. (2022). Impact of agronomic practices on Fusarium mycotoxin accumulation in maize grain. *World Mycotoxin Journal*. 15. 1-18. <https://doi.org/10.3920/WMJ2021.2734>.
- Ali, Tehreem & Sarwar, A & Sattar, Mian Muhammah Khubaib & Ali, Muhammad & Aslam, M. (2020). MYCOTOXINS AND MYCOTOXICOSIS. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.10597.32487>.
- Tarazona, A., Mateo, E. M., Gómez, J. V., Gavara, R., Jiménez, M., & Mateo, F. (2021). Machine learning approach for predicting Fusarium culmorum and F. proliferatum growth and mycotoxin production in treatments with ethylene-vinyl alcohol copolymer films containing pure components of essential oils. *International journal of food microbiology*, 338, 109012. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.109012>
- Ponce-García, N., Serna-Saldivar, S. O., & Garcia-Lara, S. (2018). Fumonisin and their analogues in contaminated corn and its processed foods – a review. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 35(11), 2183–2203. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1502476>
- Kemboi, D. C., Antonissen, G., Ochieng, P. E., Croubels, S., Okoth, S., Kangethe, E. K., Faas, J., Lindahl, J. F., & Gathumbi, J. K. (2020). A Review of the Impact of Mycotoxins on Dairy Cattle Health: Challenges for Food Safety and Dairy Production in Sub-Saharan Africa. *Toxins*, 12(4), 222. <https://doi.org/10.3390/toxins12040222>
- Anastasiadis, V., Koukouvinos, G., Petrou, P. S., Economou, A., Dekker, J., Harjanne, M., Heimala, P., Goustouridis, D., Raptis, I., & Kakabakos, S. E. (2020). Multiplexed mycotoxins determination employing white light reflectance spectroscopy and silicon chips with silicon oxide areas of different thickness. *Biosensors & bioelectronics*, 153, 112035. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112035>

11. Gallo, A., Ghilardelli, F., Atzori, A. S., Zara, S., Novak, B., Faas, J., & Fancello, F. (2021). Co-Occurrence of Regulated and Emerging Mycotoxins in Corn Silage: Relationships with Fermentation Quality and Bacterial Communities. *Toxins*, 13(3), 232. <https://doi.org/10.3390/toxins13030232>
12. Milićević, D. R., Spirić, D., Radičević, T., Velebit, B., Stefanović, S., Milojević, L., & Janković, S. (2017). A review of the current situation of aflatoxin M₁ in cow's milk in Serbia: risk assessment and regulatory aspects. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 34(9), 1617–1631. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1363414>
13. Schabo, D. C., Freire, L., Sant'Ana, A. S., Schaffner, D. W., & Magnani, M. (2021). Mycotoxins in artisanal beers: An overview of relevant aspects of the raw material, manufacturing steps and regulatory issues involved. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 141, 110114. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110114>
14. Weaver, A. C., Weaver, D. M., Adams, N., & Yiannikouris, A. (2021). Co-Occurrence of 35 Mycotoxins: A Seven-Year Survey of Corn Grain and Corn Silage in the United States. *Toxins*, 13(8), 516. <https://doi.org/10.3390/toxins13080516>
15. Patyal, A., Gill, J., Bedi, J. S., & Aulakh, R. S. (2020). Potential risk factors associated with the occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk produced under different farm conditions. *Journal of environmental science and health. Part B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*, 55(9), 827–834. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1787019>
16. Stranska, M., Dzman, Z., Prusova, N., Behner, A., Kolouchova, I., Lovecka, P., Rezanka, T., Kolarik, M., & Hajslova, J. (2022). Fungal Endophytes of *Vitis vinifera*-Plant Growth Promoters or Potentially Toxinogenic Agents?. *Toxins*, 14(2), 66. <https://doi.org/10.3390/toxins14020066>
17. Kövesi, B., Kulcsár, S., Zándoki, E., Szabó-Fodor, J., Mézes, M., Balogh, K., Ancsin, Z., & Pelyhe, C. (2020). Short-term effects of deoxynivalenol, T-2 toxin, fumonisin B₁ or ochratoxin on lipid peroxidation and glutathione redox system and its regulatory genes in common carp (*Cyprinus carpio* L.) liver. *Fish physiology and biochemistry*, 46(6), 1921–1932. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00845-1>
18. Sotnichenko, A., Pantsov, E., Shinkarev, D., & Okhanov, V. (2019). Hydrophobized Reversed-Phase Adsorbent for Protection of Dairy Cattle against Lipophilic Toxins from Diet. Efficiency in Vitro and in Vivo. *Toxins*, 11(5), 256. <https://doi.org/10.3390/toxins11050256>
19. Moura, R. D., de Castro, L., Culik, M. P., Fernandes, A., Fernandes, P., & Ventura, J. A. (2020). Culture medium for improved production of conidia for identification and systematic studies of *Fusarium* pathogens. *Journal of microbiological methods*, 173, 105915. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105915>
20. Park, S. H., Kim, D., Kim, J., & Moon, Y. (2015). Effects of Mycotoxins on mucosal microbial infection and related pathogenesis. *Toxins*, 7(11), 4484–4502. <https://doi.org/10.3390/toxins7114484>
21. Lin, X., Zhang, Q., Zhang, Y., Li, J., Zhang, M., Hu, X., & Li, F. (2021). Further data on the levels of emerging *Fusarium* mycotoxins in cereals collected from Tianjin, China. *Food additives & contaminants. Part B, Surveillance*, 14(1), 74–80. <https://doi.org/10.1080/19393210.2021.1873425>
22. Awapak, D., Petchkongkaew, A., Sulyok, M., & Krska, R. (2021). Co-occurrence and toxicological relevance of secondary metabolites in dairy cow feed from Thailand. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 38(6), 1013–1027. <https://doi.org/10.1080/19440049.2021.1905186>
23. Niehaus, Eva-Maria & Díaz-Sánchez, Violeta & Von Bargen, Katharina & Kleigrewe, Karin & Humpf, Hans-Ulrich & Limón, M. Carmen. (2014). Fusarins and Fusaric Acid in *Fusaria*. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1191-2_11
24. Wu, J.-G & Li, H.-Y & Cheng, N.-K & Li, L. & Li, B.-M. (2017). Research on Feeding Position of Armature in Railgun. *Binggong Xuebao/Acta Armamentarii*. 38. 1052-1058. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-1093.2017.06.002>
25. Yang, X., Liu, P., Cui, Y., Xiao, B., Liu, M., Song, M., Huang, W., & Li, Y. (2020). Review of the Reproductive Toxicity of T-2 Toxin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(3), 727–734. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07880>
26. Pogrmic-Majkic, K., Samardzija Nenadov, D., Stanic, B., Milatovic, S., Trninic-Pjevic, A., Kopitovic, V., & Andric, N. (2019). T-2 toxin downregulates LHCGR expression, steroidogenesis, and cAMP level in human cumulus granulosa cells. *Environmental toxicology*, 34(7), 844–852. <https://doi.org/10.1002/tox.22752>
27. Fu, Y., Jin, Y., Shan, A., Zhang, J., Tang, H., Shen, J., Zhou, C., Yu, H., Fang, H., Zhao, Y., Wang, J., & Tian, Y. (2021). Polydatin Protects Bovine Mammary Epithelial Cells Against Zearalenone-Induced Apoptosis By Inhibiting Oxidative Responses and Endoplasmic Reticulum Stress. *Toxins*, 13(2), 121. <https://doi.org/10.3390/toxins13020121>
28. Bettelheim, Eldad & Banerjee, Aditya & Plenio, M. & Huelga, Susana. (2022). Entanglement spectrum in general free fermionic systems. *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*. 55. <https://doi.org/10.1088/1751-8121/ac5529>
29. Matraszek-Zuchowska, I., Wozniak, B., & Zmudzki, J. (2013). Determination of zearanol, taleranol, zearalanone, α -zearalenol, β -zearalenol and zearalenone in urine by LC-MS/MS. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 30(6), 987–994. <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.787656>
30. Manguso, Nicholas & Kim, Minhyung & Joshi, Neeraj & Al Mahmud, Rasel & Cortes-Ledesma, Felipe & Cui, Xiaojiang & Yamada, Shintaro & Ito, Junji & Takeda, Shunichi & Giuliano, Armando & You, Sungyong & Tanaka, Hisashi. (2022). TDP 2 modulates the expression of estrogen-responsive oncogenes. <https://doi.org/10.1101/2022.06.01.494417>
31. Ayala-Soldado, N & Lora-Benitez, AJ & Mora Medina, Rafael & Molina, Ana & Artillo-Guimera, JI & Moyano-Salvago, M^aR. (2022). Tremorgenic mycotoxicosis in cattle, caused by *Claviceps paspali*. *Veterinárni Medicina*. <https://doi.org/10.17221/25/2022-VETMED>
32. Roche, J. R., Burke, C. R., Crookenden, M. A., Heiser, A., Looor, J. L., Meier, S., Mitchell, M. D., Phyn, C., & Turner, S. A. (2017). Fertility and the transition dairy cow. *Reproduction, fertility, and development*, 30(1), 85–100. <https://doi.org/10.1071/RD17412>
33. Wagner, N., Mialon, M. M., Sloth, K. H., Lardy, R., Ledoux, D., Silberberg, M., de Boyer des Roches, A., & Veissier, I. (2021). Detection of changes in the circadian rhythm of cattle in relation to disease, stress, and reproductive events. *Methods (San Diego, Calif.)*, 186, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2020.09.003>

Chekan O. N., PhD, Associate Professor, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Obstetrical and gynecological dispensarysation of cows for mycotoxicosis

the article presents the results of research on the spread of obstetric and gynecological pathology in cows due to mycotoxin contamination of feed, in particular, corn grains and corn silage. At the same time, the research was carried out in two cattle farms on cows of the Ukrainian black-spotted breed aged 3-7 years. The aim of the research was to establish the correlation of fodder damage with mycotoxins, in particular zearalenone and deoxynivalenol cutting of corn and corn silage on the reproductive capacity of cows. At the first stage, the content of mycotoxins in feed was determined. Subsequently, an obstetric and gynecological dispensation was carried out. At the same time, clinical research methods were used. It was established that zearalenone as a mycotoxin has an estrogen -like effect and contributes to the occurrence of ovarian pathology, in particular, ovarian pathology in farm No. 1 amounted to 26.0 ± 1.47 heads, which was 21.55%, and in farm No. 2 – 22.75 ± 0.85 heads (15.1%). At the same time, the largest share – 13 cases in farm No. 1 and 12 – in farm No. 2 were follicular cysts, frequent walking, asynchronous and incomplete sexual cycles. At the same time, pathology of the uterus under the influence of deoxynivalenol developed pathological processes in the organs of the reproductive system, in particular, chronic endometritis and accounted for 22% and 27% in the first and second households, respectively. At the same time, the course of the transit period in cows was complicated, which was characterized by the slowing down of involutinal processes in the organs of the reproductive system, which reduced the fertilizing ability of cows. Thus, in cows of farm 1, the fertilization rate from the 1st insemination was 116 ± 3.8 heads (14.5%), and from the second 108 ± 3.39 (21%). In addition, gynecological pathology in the 1st farm ranged from 14.8% in 2021 to 16.05% in 2020, and in the 2nd farm, a similar indicator ranged from 17.12% in 2021 to 19.79% in 2020. year Also, multiple fruitless inseminations were diagnosed due to pathological processes in the organs of the reproductive system, which significantly reduced such an economic indicator as the yield of calves per 100 cows. This indicator was 65.5 ± 1.7 t/100 cows in the first farm for 4 years, and 71.5 ± 1.04 in the second. It has been established that contamination of cow feed with mycotoxins significantly reduces reproductive capacity and causes significant economic losses.

Key words: Mycotoxins, mycotoxicoses, cows, obstetric and gynecological dispensation, infertility, sterility, artificial insemination, fertilization.

ВИЗНАЧЕННЯ АНТАГОНІСТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПРОБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ «БІОЗАПІН»

Чечет Ольга Миколаївна

кандидат ветеринарних наук

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи,

м. Київ, Україна

ORCID: 0000-0001-5099-5577

o.chechet@vetlabresearch.gov.ua

Коваленко Вячеслав Леонідович

доктор ветеринарних наук, професор

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи,

м. Київ, Україна

ORCID: 0000-0002-2416-5219

kovalenkodoktor@gmail.com

Горбатюк Ольга Іванівна

кандидат ветеринарних наук, доцент

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи,

м. Київ, Україна

ORCID: 0000-0002-0573-2089

Goroliva@ukr.net

Гайдей Ольга Сергіївна

кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи,

м. Київ, Україна

ORCID: 0000-0003-4503-4047

olga.gaidei@gmail.com

Кравцова Оксана Леонідівна

молодший науковий співробітник

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи,

м. Київ, Україна

ORCID: 0000-0003-2119-7749

oksana759@ukr.net

Андріящук Валентина Олександрівна

кандидат ветеринарних наук

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи,

м. Київ, Україна

ORCID: 0000-0002-0983-9297

and_valentina@hotmail.com

Мусієць Ірина Володимирівна

молодший науковий співробітник

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи,,

м. Київ, Україна

ORCID: 0000-0002-2456-560X

bacdndi@ukr.net

Ординська Діана Олександрівна

молодший науковий співробітник

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи,

м. Київ, Україна

ORCID:0000-0003-3481-3248

ordynskadiana@ukr.net

За сучасного розвитку птахівництва пріоритетним є органічне ведення галузі. Тому питання забезпечення епізоотичного благополуччя птиці потребують ґлибокого вивчення і корекції в нових умовах господарювання. За даними вчених, особливо це стало актуальним після впровадження новітніх енергозберігаючих технологій та прийняття інноваційних рішень щодо утримання та годівлі птиці, пріоритетним із яких є корекція біоценозів шлунково-кишкового тракту птиці. Найбільш економічно вигідним є застосування препаратів на основі речовин природного походження, якими є новітні пробіотики, одержані на основі представників нормальної коменсальної мікрофлори. Тому, інтерес до пробіотиків, в т.ч. на основі *Bacillus subtilis*, пов'язаний із можливістю впливу на формування нормофлори шлунково-кишкового тракту птиці, підтриманні її сталого балансу та біобезпеки навколишнього середовища, в якому вона перебуває.

Розроблений нами новий пробіотик «Біозапін», складовими компонентами якого є бактерії *Bacillus subtilis* і *Bacillus amyloliquefaciens*, здатний забезпечувати означені вимоги. Метою роботи було дослідити антагоністичну активність нового пробіотику «Біозапін» за його взаємодії з грамнегативними та грампозитивними тестовими бактеріями «in vitro». Випробування пробіотику «Біозапін» проведено двома методами – методом відтермінованого антагонізму та методом блоків з триразовими повторюваностями дослідів. За виконання обох методів в якості індикаторів використані тестові мікроорганізми *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 та *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Облік результатів проведено за величиною діаметрів зон пригнічення росту тестових культур мікроорганізмів. Аналіз результатів випробувань пробіотику «Біозапін», за використання означених методів, показав ефективну антагоністичну активність препарату за його взаємодії з тестовими культурами грампозитивних і грамнегативних бактерій. Доведено методом відтермінованого антагонізму та методом блоків дуже високий та високий рівні антагоністичної активності пробіотичного препарату «Біозапін» щодо дії на тестові бактерії, зокрема на *Escherichia coli* ATCC 25922 з діаметрами зон інгібування росту $39,1 \pm 0,13$ і $35,8 \pm 0,13$ мм відповідно до методу; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 – $30,1 \pm 0,07$ і $31,5 \pm 0,87$; *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 – $37,3 \pm 0,27$ і $36,7 \pm 0,13$ і *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 – $38,9 \pm 0,07$ і $37,7 \pm 0,13$ аналогічно. Перспективність застосування пробіотику «Біозапін» у сучасному птахівництві полягає у підтриманні біологічним способом стабільної епізоотичної ситуації щодо бактеріальних інфекцій серед птиці та правильному формуванню мікробіоценозу у шлунково-кишковому тракті птиці від народження, особливо за технологій підлогового утримання.

Ключові слова: пробіотик «Біозапін», антагоністична активність, пробіотичні культури, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, біологічне знезараження, поверхнево-активні речовини мікробного походження.

DOI <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.2.8>

Вступ. Сучасний розвиток промислового птахівництва та пріоритети його переходу на органічне ведення галузі, потребують пошуків нових засобів і препаратів, які б пригнічували розвиток у птиці патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, оскільки найбільший їх вплив на формування і стан організму відбувається на початку життя через заселення шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Тому, підвищений інтерес до пробіотичних препаратів пов'язаний із їх альтернативою антибіотикам для протидії патогенам (Yakhia, Al-Bk. T., 2021; Kopopelko A. V., Liasota V. P., 2022; Stoianovskiy V. H. et al., 2013; Iehorov V. et al., 2022; Solodka L. O. et al., 2021; Potemaska O. I. et al., 2017; Romanovych M. M., 2018).

У технологічному процесі вирощування птиці велике значення має спосіб її утримання та щільність поголів'я. Забезпечення епізоотичного благополуччя птиці є одним із основних питань, яке потребує більш ґлибокого вивчення і корекції в нових умовах господарювання за розвитку органічного птахівництва. Крім забезпечення внутрішнього стабільного стану нормофлори ШКТ птиці, важливо дотримуватися безпеки навколишнього середовища, в якому вона перебуває, зокрема поверхонь стін і підлоги, годівниць, підстилки (Balasubramanian B. et al., 2016; Xiang-Li et al., 2020; Cash B. D., 2014; Hudzenko T. V. et al., 2019; Chiu, Y. H. et al., 2014).

За науковими даними відомо, що бактерії роду *Bacillus* spp., зокрема *Bacillus subtilis* володіють значним біологічним потенціалом (Donaldson G. P. et al., 2016; Petrov I. V. et al., 2022; Syal P, Vohra A., 2013).

Пробіотичний препарат «Біозапін» у своєму складі містить мікроорганізми *Bacillus subtilis* та *Bacillus amyloliquefaciens* на алюмосилікаті.

За останніми науковими даними відомо, що *Bacillus subtilis* є продуцентом не лише антибіотичних речовин, а й поверхнево-активних речовин (ПАР), зокрема ліпопептиду сурфактину, який доповнює та посилює антибактеріальну дію, забезпечує гемолізис і утворення іонних каналів у ліпідних мембранах; ліпопептиду № 1, який здійснює активний антибактеріальний вплив на спорові мікроорганізми; ліпопептид ітурин, який проявляє антибактеріальну дію та підвищує електропровідність ліпідів у мембранах. Продукцію таких речовин забезпечує бактеріям *Bacillus subtilis* проявляти активний антагонізм через перевагу щодо колонізації нових середовищ та конкуренції за субстрати з патогенними мікроорганізмами, зокрема і при заселенні ШКТ птиці (Klaenhammer T R et al., 2012; Medvid S. M. et al., 2017).

Мікроорганізми *Bacillus amyloliquefaciens*, крім антибіотичних, продукують ліпопептид баломіцин А, для якого характерна антифумігальна активність (Klaenhammer T R et al., 2012).

Поєднання означених пробіотичних культур у препараті «Біозапін» та використання пробіотику для біологічного знезараження об'єктів навколишнього середовища, зокрема підстилки для птиці, надає можливість підтримання антибактеріальної та антифумігальної безпечності зовні.

Метою роботи було дослідити антагоністичну активність пробіотичного препарату «Біозапін» за вза-

емодії з грамнегативними та грампозитивними тестовими бактеріями.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження проводили на базі лабораторії діагностики захворювань бактеріальної етіології (ЛДЗБЕ) науково-дослідного мікробіологічного відділу (НДМВ) Державного науково-дослідного інституту лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ).

Для проведення досліджень в якості індикаторних використовували грамнегативні тестові культури *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 та грампозитивна тестова культура *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, одержані із Музею культур тестових мікроорганізмів ЛДЗБЕ.

Дослідження з визначення рівня антагоністичної активності пробіотичного препарату «Біозапін» проводили в умовах лабораторії, використовуючи два дифузійні методи: метод відтермінованого антагонізму та методом блоків.

Пробіотичний препарат «Біозапін» є сухим порошком із вмістом бактерій *Bacillus subtilis* і *Bacillus amyloliquefaciens* у кількості по $1,0 \times 10^9$ КУО/г. Для проведення випробувань 1 г препарату розводили у $9,0 \text{ см}^3$ стерильної дистильованої води та ретельно перемішували одержану суспензію пробіотику, при цьому вміст означених бактерій уже складав по $1,0 \times 10^8$ КУО/г. За умовами постановки досліду методом відтермінованого антагонізму для одержання окремих колоній пробіотичних культур, які входять до складу препарату, проводили підтитрування суспензії пробіотика за загальноприйнятою методикою послідовних розведень (Ashraf R., Shah N P., 2014). За результатами підтитрування було встановлено, що для отримання окремих колоній пробіотичних бактерій, які входять до складу пробіотика «Біозапін», необхідно застосовувати суспензію препарату у концентрації 10^2 КУО/см³.

Виконання випробувань з встановлення рівня антагоністичної активності пробіотику «Біозапін» методом відтермінованого антагонізму проводили на чашках Петрі з 2,0 % м'ясо-пептонним агаром (МПА) (Lutgendorff F et al., 2009). Суспензію пробіотичного препарату у підтитрованій концентрації висівали на чашки Петрі з МПА, інкубували за температури 37 ± 1 °C протягом 48 год. Після цього у чашки Петрі з вирослими окремими макроколоніями пробіотичних культур вносили хлороформ в об'ємі до 3 см^3 , щоб він охопив всю площину чашки, витримували протягом 5 хв, зливали залишки та підсушували поверхню МПА з макроколоніями в асептичних умовах протягом 30 хв.

Паралельно проводили посіви добових тестових культур мікроорганізмів *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 та *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 на м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) та підрощували їх у термостаті за температури 37 ± 1 °C протягом 6 год. Одержані бульйонні тестові культури вносили в об'ємі по $0,1 \text{ см}^3$ в пробірки з $5,0 \text{ см}^3$ розплавленого і охолодженого до температури 45 ± 1 °C 0,7 % напіврідкого поживного агару

(НРА). Суміш швидко і ретельно перемішували та виливали на поверхню підсушених чашок Петрі з макроколоніями пробіотичних мікроорганізмів, ретельно розподіляючи її по поверхні МПА. Після повного застигання суміші НРА з відповідною тестовою культурою, чашки перенесли до термостату та інкубували посіви за температури 37 ± 1 °C протягом 24 год.

Дослідження пробіотичного препарату «Біозапін» з відповідними тестовими культурами бактерій були проведені у трьох повторюваностях.

Поряд з основним дослідом ставили контролі росту тестових культур бактерій аналогічно, але без посіву суспензії дослідного пробіотику.

Облік результатів проводили, визначаючи діаметр зон інгібування росту або констатуючи її відсутність у тестових бактерій навколо макроколоній мікроорганізмів роду *Bacillus*, які входять до складу пробіотичного препарату. Рівень антагоністичної активності пробіотику «Біозапін» вважали умовно низьким, якщо діаметр зони затримки росту коливався у межах від 7 до 14 мм; середній рівень – в межах 14–26 мм; високий рівень – в межах 27–36 мм та дуже високий рівень – більше 36 мм за інтенсивного росту індикаторних тестових бактерій у відповідних контролях.

Після обліку результатів з визначення рівня антагоністичної активності, одержані показники було оброблено статистично (Lutgendorff F et al., 2009).

Всі методи з визначення рівня антагоністичних властивостей у пробіотичних препаратів є неточними, тому для підтвердження попередніх результатів досліджень методом відтермінованого антагонізму нами було паралельно проведено випробування іншим методом – методом агарових блоків у нашій модифікації (Ivchenko V. M., (2004). Для одержання блоків розведену, як у попередньому досліді (1 г пробіотика+ $9,0 \text{ см}^3$ стерильної дистильованої води), суспензію пробіотику вносили в розплавлений та охолоджений до температури 45 ± 1 °C МПА у співвідношенні 1:10 (1 частина розведеної суспензії та 9 частин агаризованого середовища), ретельно перемішували та розливали в стерильні чашки Петрі по $15,0 \text{ см}^3$ у кожну. Чашки залишали до повного застигання середовища та проводили культивування у термостаті за температури 37 ± 1 °C протягом 24 год. Після культивування в асептичних умовах із засіяного агару за допомогою стерильного пробійника з діаметром 9 мм вирізали агарові блоки.

Для одержання добових тестових культур мікроорганізмів *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 та *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 їх паралельно висівали на МПА та культивували у термостаті за температури 37 ± 1 °C протягом 24 год. Після культивування в асептичних умовах проводили змив відповідних тестових бактерій стерильним фізіологічним розчином та виготовляли бактеріальну суспензію з концентрацією 0,5 ОО за оптичним стандартом каламутності Мак-Фарланда. Одержані бактеріальні суспензії висівали кожну окремо на чашки Петрі з МПА, ретельно розтирали по всій площині середовища для майбутнього отримання

якісного газону тестових бактерій. Чашки з посівами залишали за кімнатної температури протягом 15 хв для дифузії в агар відповідних тестових мікроорганізмів. Далі на поверхню засіяних чашок накладали по 3 вирізані блоки з пробіотиком, рівновіддалено один від одного та культивували за температури 37 ± 1 °C протягом 24 год.

Облік результатів проводили за величиною діаметрів зон пригнічення росту тестових культур мікроорганізмів: низький рівень, якщо діаметр зони затримки росту коливався у межах від 7 до 14 мм; середній рівень – в межах 14–26 мм; високий рівень – в межах 27–36 мм та дуже високий рівень – більше 36 мм за інтенсивного росту індикаторних тестових бактерій у відповідних контролях. Одержані результати були оброблені статистично (Ойун Y. A., 1960).

За закінчення основних дослідів, поставлених обома дифузійними методами, було проведено порівняльний аналіз одержаних результатів щодо антагоністичної активності препарату «Біозапін».

Методи досліджень: мікробіологічний, статистичний.

Результати досліджень. Аналіз результатів досліджень з визначення рівня антагоністичної активності методом відтермінованого антагонізму показав, що пробіотичний препарат «Біозапін», до складу якого входять мікроорганізми *Bacillus subtilis* і *Bacillus amyloliquefaciens*, володіє високими антибактеріальними властивостями стосовно тестових грампозитивних бактерій – *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та грамнегативних – *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Salmonella typhimurium* ATCC 29630.

За проведених випробувань пробіотичного препарату щодо наслідків його впливу на тестову культуру *Escherichia coli* ATCC 25922 було встановлено дуже високий рівень антагонізму, адже пробіотик спричиняв загибель тестових мікроорганізмів, утворюючи зону затримки росту за діаметром в середньому $39,1 \pm 0,13$ мм за інтенсивного росту тестової культури у контролі. Аналогічно дуже високий рівень антагоністичної активності був виявлений за дії пробіотичного препарату на тестові бактерії *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та *Salmonella typhimurium* ATCC 29630, що засвідчено величиною діаметру зони інгібування росту, яка становила $38,9 \pm 0,07$ та $37,3 \pm 0,27$ мм відповідно за інтенсивного росту тестових бактерій у контролях (табл. 1).

За дії пробіотичного препарату «Біозапін» на тестову культуру мікроорганізмів *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 були одержані дещо нижчі за рівнем показники антагоністичної активності, проте діаметри зон затримки росту – $30,1 \pm 0,07$ мм, знаходилася в межах величин, які засвідчують високий рівень антимікробної дії препарату.

Таким чином, за одержаними результатами випробувань, проведеними методом відтермінованого антагонізму, пробіотичний препарат «Біозапін» показав дуже високу і ефективну антагоністичну активність щодо дії на грампозитивні і грамнегативні тестові культури мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 і *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 за величиною показників діаметрів зони інгібування росту та за інтенсивного росту тестових бактерій у відповідних контролях.

Таблиця 1

Результати досліджень рівня антагоністичної активності пробіотичного препарату «Біозапін» щодо дії на грампозитивні і грамнегативні тестові бактерії методом відтермінованого антагонізму, $M \pm m$, мм, $n=3$

Кількість досліджень	Назва пробіотичного препарату та номер проби	Культури тестових мікроорганізмів							
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442		<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 29630		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	
		Діаметр зони інгібування росту, мм	Рівень антагоністичної активності	Діаметр зони інгібування росту, мм	рівень антагоністичної активності	Діаметр зони інгібування росту, мм	рівень антагоністичної активності	Діаметр зони інгібування росту, мм	рівень антагоністичної активності
3	1. Пробіотик «Біозапін»	39,2	дуже високий	30,2	високий	37,0	дуже високий	38,8	дуже високий
	2. – «» –	39,2	дуже високий	30,0	високий	37,8	дуже високий	39,0	дуже високий
	3. – «» –	38,8	дуже високий	30,2	високий	37,2	дуже високий	39,0	дуже високий
Середні показники рівня антагоністичної активності		$39,1 \pm 0,13$	дуже високий	$30,1 \pm 0,07$	високий	$37,3 \pm 0,27$	дуже високий	$38,9 \pm 0,07$	дуже високий

Результати досліджень рівня антагоністичної активності пробіотику «Біозапін» щодо тестових культур мікроорганізмів методом агарових блочків; M±m, мм, n=3

Назва тестових культур мікроорганізмів	Агарові блоки з пробіотиком «Біозапін»:						Середні показники зон затримки росту, мм	Рівень антагоністичної активності
	№ 1		№ 2		№ 3			
	Діаметр зони інгібування росту, мм Diameter of the growth inhibition zone, mm	Рівень антагоністичної активності The level of antagonistic activity	Діаметр зони інгібування росту, мм Diameter of the growth inhibition zone, mm	Рівень антагоністичної активності The level of antagonistic activity	Діаметр зони інгібування росту, мм Diameter of the growth inhibition zone, mm	Рівень антагоністичної активності The level of antagonistic activity		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	36,0	високий	35,6	високий	35,8	високий	35,8 ± 0,13	високий
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	30,0	високий	32,0	високий	32,6	високий	31,5 ± 0,87	високий
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 29630	37,0	дуже високий	36,6	дуже високий	36,6	дуже високий	36,7 ± 0,13	дуже високий
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	38,0	дуже високий	37,8	дуже високий	37,2	дуже високий	37,7 ± 0,13	дуже високий

Оскільки всі методи досліджень антагоністичної активності мікроорганізмів вважаються неточними, рекомендовано застосовувати, як мінімум, два методи для непрямого підтвердження одержаних результатів, нами застосовано метод блоків. Аналіз результатів досліджень, виконаних цим методом показав, що пробіотик «Біозапін» проявляв дуже високі антагоністичні властивості за взаємодії з *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 та *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, що було засвідчено величиною діаметрів зон затримки росту – 36,7±0,13 і 37,7±0,13 мм відповідно (табл. 2).

Нижчі за показники попереднього досліджу, але все ж на рівні високої антагоністичної властивості, нами були одержані результати випробувань пробіотичного препарату «Біозапін» за взаємодії з тестовою культурою *Escherichia coli* ATCC 25922 із її діаметром зони інгібування росту 35,8±0,13 мм, проте дані засвідчували високу ефективність пробіотику.

Таким чином, за результатами досліджень, проведеними методом блоків, пробіотик «Біозапін» показав дуже високу і високу та ефективну антагоністичну активність за взаємодії з грамнегативними і грампозитивними тестовими культурами мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 і *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 за величиною показників діаметрів зони інгібування росту та інтенсивного росту тестових мікроорганізмів у відповідних контролях.

Обговорення. За сучасними науковими даними відомо, що високий рівень контамінації кормів та оточуючого середовища призводить до випереджаючої колонізації ШКТ птиці патогенними мікроорганізмами, що або уповільнює або перешкоджає формуванню нормо-

флори у кишечнику (Kryvtsova M. V., Nikolaichuk M. V., 2011; Kotsiumbas H. et al., 2017; Mehta R et al., 2011; Huyghebaert G, Ducatelle R., 2014).

Вчені наголошують, що альтернативою антибіотикам для стримування розвитку патогенів є пробіотичні препарати, які вдало поєднують у собі коректорів нормофлори ШКТ птиці та виконують інші функції [Kucheruk M. D. et al., 2018; Khariv M. et al., 2017; Klaenhammer T R et al., 2012).

Низка вчених, за результатами власних досліджень, доводять, що пробіотичні штами мікроорганізмів *Bacillus subtilis* зокрема, забезпечують корекцію мікрофлори птиці в сторону збільшення лакто- і біфідобактерій та зменшення кількості умовно-патогенних і патогенних бактерій (Cash B. D., 2014; Krysenko O. V. et al., 2010; Markowiak P, Śliżewska K., 2018; Palma M L et al., 2015; Yermolina K. O., 2012).

Одержані нами дані підтвердили дуже високий та високий рівні антагоністичної активності нового розробленого пробіотику «Біозапін» з пробіотичною культурою *Bacillus subtilis* у своєму складі за дії на тестові культури патогенів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 і *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 та вказують на перспективність його застосування в умовах птахогосподарств та за промислового вирощування птиці.

Висновки. Виявлено і доведено методом відтермінованого антагонізму та методом блоків дуже високий та високий рівень антагоністичної активності пробіотичного препарату «Біозапін» щодо дії на грамнегативні і грампозитивні тестові бактерії *Escherichia coli* ATCC 25922 (діаметри зон інгібування росту 339,1±0,13 і 35,8±0,13 мм відповідно), *Pseudomonas aeruginosa*

ATCC 15442 (30,1±0,07 і 31,5±0,87), *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 (37,3±0,27 і 36,7±0,13) і *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (38,9±0,07 і 37,7±0,13). Пробиотик «Біозапін» сприятиме підтриманню біологічним способом стабільної епізоотичної ситуації щодо

бактеріальних інфекцій серед птиці, правильному формуванню мікробіоценозу у ШКТ птиці від народження, особливо за технологій її підлогового утримання, що робить його перспективним для застосування у птахівничій галузі.

Бібліографічні посилання:

1. Al-Bkur Tarek Yakhia (2021). Vplyv preparativ «Sporo-Leks» та «Analhitsym-SI» na mikrofluoru shlunkovo-kyshkovoho traktu ptytsi. [The effect of «Sporo-Lex» and «Analgicim-SI» drugs on the microflora of the gastrointestinal tract of poultry]. *Naukovo-tehnichnyi biuleten DNDKIVPKD*; 2021, 22 (2), 25–32. doi: 10.36359/scivp.2021-22-2.02.
2. Ashraf R. & Shah, N P. (2014). Immune system stimulation by probiotic microorganisms. *Crit Rev Food Sci Nutr.*; 54 (7), 938–56. doi: 10.1080/10408398.2011.619671.
3. Balasubramanian, B., Li, T. & Kim, In Ho (2016). Effects of supplementing growing-finishing pig diets with *Bacillus spp.* probiotic on growth performance and meat-carcass grade quality traits. *R. Bras. Zootec*; 2016, 3 (45), 93–100.
4. Cash, B. D. (2014). Emerging Role of Probiotics and Antimicrobials in the Management of Irritable Bowel Syndrome. *Curr Med Res Opin*; 30 (7), 1405–1415. doi: 10.1185/03007995.2014.908278.
5. Chiu, Y. H., Lin, S. L., Tsai, J. J. & Lin, M. Y. (2014). Probiotic actions on diseases: implications for therapeutic treatments. *Food Funct*; 2014, 5 (4), 625–634.
6. Donaldson, G. P., Lee, S. M. & Mazmanian, S. K. (2016). Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nature Reviews Microbiology*; 2016, 14 (1), 20–32.
7. Iehorov V., Kanyanykhina O. & Turpurova T. (2022). Probiotychni kormovi dobavky v rokakh silskohospodarskykh tvaryn. [Probiotic feed additives in the years of farm animals] *Zernovi produkty ta kombikormy*; 21 (4), 25–31. <https://doi.org/10.15673/gpmf.v21i4.2250>. (in Ukrainian).
8. Yermolina K. O. (2012). Zahalni vlastyvoli probiotychnykh preparativ. [General properties of probiotic preparations]. Tezy dopovidei IV Vseukrainskoi naukovo-praktychnoi konferentsii. (Kyiv, 5 kvitnia 2012 r). – *Natsionalnyi tekhnichnyi universytet «Kyivskiy politekhnichnyi instytut»*; 2012, 42–43. (in Ukrainian).
9. Huyghebaert G. & Ducatelle R. (2014). An up-date on alternatives to antimicrobial growth promoters for broiler-ers. *Vet. J.*; 2014, (187), 182–188. doi: 10.1016/j.tvj.2010.03.003.1.
10. Hudzenko T. V., Konup I. P., Voliuvach O. V., Horshkova O. H., Beliaieva T. O. & Chaban M. M. (2019). Vyluchennia fenolu z vody bakteriiamy *Bacillus subtilis* ONU551, adhezovanymy na nosiakh riznoi pryrody. [Extraction of phenol from water by bacteria *Bacillus subtilis* ONU551, adhered to supports of different nature]. *Mikrobiolohiia i biotekhnolohiia*; 2019, 1, 36–47. doi: [http://dx.doi.org/10.18524/23074663.2019.1\(45\).160071](http://dx.doi.org/10.18524/23074663.2019.1(45).160071). (in Ukrainian).
11. Ivchenko V. M. (2004). Dovidnyk sanitarno-mikrobiolohichnykh metodiv doslidzhennia kharchovykh produktiv ta ob'ektiv dovkillia. [Handbook of sanitary and microbiological methods of research of food products and environmental objects]. *Bila Tserkva, 2004*; 242 s. (in Ukrainian).
12. Klaenhammer, T R, Kleerebezem M, Kopp M V. & Rescigno M. (2012). The impact of probiotics and prebiotics on the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*; 2012, 12, 728–734. doi: 10.1038/nri3312.
13. Konopelko A. V. & Liasota V. P. (2022). Zabiini umovy, bezpeka ta yakist produktiv zaboiu indychok miasnoi produktivnosti pry zastosuvanni prebiotychnoho preparatu Aktyhen. [Slaughter conditions, safety and quality of slaughter products of meat-yielding turkeys with the use of the prebiotic drug Aktygen]. *Naukovyi visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Hzhyskoho*; 24 (106), 119–127. <https://doi.org/10.32718/nlvet10619>. (in Ukrainian).
14. Kryvtsova M. V. & Nikolaichuk M. V. (2011). Ekolohiia mikroorganizmiv. [Ecology of microorganisms]. Navchalnyi posibnyk. Uzhhorod: 2011; 184 s. (in Ukrainian).
15. Kucheruk M. D., Zasiakin D. A. & Dymko R. O. (2018). Mikrobiolohichne ta sanitarno-higienichne znachennia eubiozu kyshechnykh produktivnykh tvaryn. [Microbiological and sanitary-hygienic significance of intestinal eubiosis of productive animals]. *Ukrainskyi ekolohichnyi zhurnal*; 2018, 8 (2), 287–293. doi: 10.15421/2018_340. (in Ukrainian).
16. Khariv M., Hutyi B., Ohorodnyk N., Vishchur O., Khariv I., Solovodzinska I., Mudrak D., Hrymak Ch. & Bodnar P. (2017). Diialnist T- ta V-systemy klitynnoho imunitetu tvaryn v umovakh oksydnogo stresu ta dii liposomalnoho preparatu. [Activity of the T- and B-systems of cellular immunity of animals under conditions of oxidative stress and the action of the liposomal drug]. *Ukrainskyi ekolohichnyi zhurnal*; 2017, 7 (4), 536–541. doi: 10.15421/2017_157. (in Ukrainian).
17. Krysenko O. V., Skliar T. V., Vinnikov A. I., Slipetska A. V. & Kudenko S. S. (2010). Mikrobiolohichni aspekty probiotychnykh preparativ. [Microbiological aspects of probiotic preparations]. *Visnyk Dnipropetrovskoho universytetu. Biolohiia. Ekolohiia*; 2010, 18(2), 19–24. Rezhym dostupu: https://www.dnu.dp.ua/docs/visnik/fbem/program_5e54270f63d26.pdf. (in Ukrainian).
18. Klaenhammer T R, Kleerebezem M, Kopp M V. & Rescigno M. (2012). The impact of probiotics and prebiotics on the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2012, 12, 728–734. doi: 10.1038/nri3312.
19. Kotsiumbas H., Kostyniuk A., Mysiv O. & Fedyk Yu. (2017). Histolohichna, histokhimichna kharakterystyka dvanadtsiatypaloi kyshky kurei-broileriv dlia zghodovuvannia kombikormu z vysokym vmistom probiotychnykh dobavok. [Histological, histochemical characteristics of the duodenum of broiler chickens for feeding compound feed with a high content of probiotic additives]. *Naukovyi visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Hzhyskoho*; 19 (77), 71–75. doi: 10.15421/nlvet7717. (in Ukrainian).
20. Lutgendorff F, Nijmeijer, R M, Sandström, P A, Trulsson, L M, Magnusson, K E, Timmerman, H M, van Minnen, L P, Rijkers, G T, Gooszen, H G. & Akkermans, L M. (2009). Probiotics prevent intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis in rats via induction of ileal mucosal glutathione biosynthesis. *PLoS ONE*; 2009, 4, 4512. doi: 10.1371/journal.pone.0004512.

21. Medvid S. M., Hunchak A. V., Stefanishyn O. M. & Pashchenko A. H. (2017). Stan mikrobiotsenozu kurchat-broileriv za dii tsytrativ mikroelementiv. [The state of microbiocenosis of broiler chickens under the action of trace element citrates]. *Naukovyi visnyk LNUVMBT im. S. Z. Hzhyskoho*; 2017, 19 (74), 224–228. (in Ukrainian).
22. Markowiak P. & Śliżewska K. (2018). The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut. Pathog.*; 2018, 10 (21), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13099-018-0250-0>.
23. Mehta R, Dedina L. & O'Brien P J. (2011). Rescuing hepatocytes from iron-catalyzed oxidative stress using vitamins B1 and B6. *Toxicol. In Vitro*. 2011, 25, 1114–1122. doi: 10.1016/j.tiv.2011.03.015.
24. Oivyn Y. A. (1960). Statystycheskaia obrabotka rezultatov eksperymentalnykh yssledovanyi. [Statistical processing of the results of experimental studies]. *Patolohycheskaia fizyolohyia y eksperymentalnaia terapiia*. 1960; 396–401. (in Ukrainian).
25. Potemska O. I., Kihel N. F., Danylenko S. H. & Kopylova K. V. (2017). β - halaktozydazna aktyvnist yak kryterii vidboru shtamiv do skladu bakterialnykh preparativ. [β -galactosidase activity as a criterion for selection of strains for the composition of bacterial preparations]. *Kharchova nauka i tekhnolohiia*; 2017, 11 (3), 35–41. doi: <http://dx.doi.org/10.15673/fst.v11i3.604>. (in Ukrainian).
26. Petrov I. V., Vysekantsev I. P., Cherkashyna Ya. O. & Nardid E. O. (2022). Antahonistychna aktyvnist immobilizovanykh probiotykyv pislia zberihannia za nyzkykh temperatur. [Antagonistic activity of immobilized probiotics after storage at low temperatures]. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny*; 2022, 22, 1 (77), 111–116. doi:10.31718/2077-1096.22.1.111. (in Ukrainian).
27. Palma, M L, Zamith-Miranda, D, Martins, F S, Bozza, F A, Nimrichter, L, Montero-Lomeli, M, Marques, E T Jr. & Douradina, B. (2015). Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* strains as biotherapeutic tools: is there room for improvement. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2015, 99 (16), 6563–6570. doi: 10.1007/s00253-015-6776-x. Epub 2015 Jul 4).
28. Romanovych M. M. (2018). Dynamika humoralnykh faktoriv zakhystu kurchat-broileriv za umov zastosuvannia pro biotychnykh preparativ. [Dynamics of humoral factors in the infection of chicken broilers for the minds of stosuvannya about biotic preparations]. *Naukovyi visnyk LNUVMBT im. S. Z. Hzhyskoho*; 2018, 20 (83), 264–267. doi: 10.15421/nvlvet8352 <http://nvlvet.com.ua/>. (in Ukrainian).
29. Stoianovskyi, V. H., Kolomiets I. A., Kolotnytskyi V. A. & Kamratska O. I. (2013). Mikroekolohichna systema kyshechnyku broileriv ta sposoby yii bionormalizatsii. [Microecological system of intestines of broilers and methods of its bionormalization]. *Naukovyi visnyk LNUVMBT im. S. Z. Hzhyskoho*; 2013, 15, 3 (57), 319–322. (in Ukrainian).
30. Solodka L. O., Rybachuk Zh. V. & Klishevych V. I. (2021). Identyfikatsiia mikroorhanizmiv pevnykh vydiv u batsyliarnykh probiotychnykh preparatakh. [Identification of microorganisms of certain species in bacillary probiotic preparations]. *Zbirnyk tez mizhn. nauk.-prakt. konf. «Biobezpeka, zakhyst ta blahopoluchchia tvaryn»* (21 travnia 2021 r.); Kyiv, 2021; 27–31. (in Ukrainian).
31. Syal P. & Vohra A. (2013). Probiotic potential of yeasts isolated from traditional indian fermented foods. *Intl J Microbiol Res.*; 2013, 5 (2), 390–398. doi: 10.9735/0975-5276.5.2.
32. Xiang-Li, Si-Chen, Z.-T. Zhao, Meng-Zhao, Yi-Han & Xi-Mei Ye (2020). Effects of polysaccharides from Yingshan Yunwu tea on meat quality, immune status and intestinal microflora in chickens. *International Journal of Biological Macromole*; 2020, 15, 155, 61–70. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.198>.

Chechet O. M., Candidate of Veterinary Sciences, State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Sanitary Examination, Kyiv, Ukraine

Kovalenko V. S., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, State Research and Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kyiv, Ukraine

Gorbatyuk O. I., Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Sanitary Examination, Kyiv, Ukraine

Gaidei O. S., Candidate of Veterinary Sciences, State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Sanitary Examination, Kyiv, Ukraine

Kravtsova O. L., Junior Researcher, State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Sanitary Examination, Kyiv, Ukraine

Andriyashchuk V. O., Candidate of Veterinary Sciences, State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Sanitary Examination, Kyiv, Ukraine

Musiets I. V., Junior Researcher, State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Sanitary Examination, Kyiv, Ukraine

Ordynska D. O., Junior Researcher, State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Sanitary Examination, Kyiv, Ukraine

Determination antagonistic activity of the probiotic drug “Biozapin”

According to the modern development of poultry farming, organic management of the industry is a priority. Therefore, the issue of ensuring the epizootic well-being of poultry requires in-depth study and correction in new farming conditions. According to scientists, this became especially relevant after the introduction of the latest energy-saving technologies and the adoption of innovative decisions regarding the maintenance and feeding of poultry, the most priority of which is the correction of biocenoses of the gastrointestinal tract (GI) of poultry. The most economically beneficial is the use of preparations based on substances of natural origin, which are the latest probiotics, obtained on the basis of representatives of normal commensal microflora.

Interest in probiotics, incl. on the basis of *Bacillus subtilis*, associated with the possibility of influencing the formation of the normal flora of the gastrointestinal tract of the bird, maintaining its stable balance and biosafety of the environment in which it is located.

Therefore, interest in probiotics, including on the basis of *Bacillus subtilis*, associated with the possibility of influencing the formation of the normal flora of the gastrointestinal tract of the bird, maintaining its stable balance and the biosafety of the environment in which it is located.

The new probiotic «Biozapin» developed by us, the components of which are the bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens*, is able to meet the specified requirements. The aim of the work was to investigate the antagonistic activity of the new probiotic «Biozapin» in its interaction with gram-negative and gram-positive test bacteria «in vitro». Testing of the probiotic «Biozapin» was carried out by the method of delayed antagonism and the method of blocks with three times repetition of experiments. When performing both methods, the test microorganisms *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 29630, and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 were used as indicators.

The analysis of the results of tests of the probiotic «Biozapin», using the specified methods, showed the effective antagonistic activity of the drug in its interaction with test cultures of gram-positive and gram-negative bacteria. The method of delayed antagonism and the method of blocks proved very high and high levels of antagonistic activity of the probiotic drug «Biozapin» in relation to the action on test bacteria, in particular on *Escherichia coli* ATSS 25922 with the diameters of the growth inhibition zones of 39.1 ± 0.13 and 35.8 ± 0.13 mm, respectively to the method; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 – 30.1 ± 0.07 and 31.5 ± 0.87 ; *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 – 37.3 ± 0.27 and 36.7 ± 0.13 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 – 38.9 ± 0.07 and 37.7 ± 0.13 mm similarly. The perspective of using the probiotic «Biozapin» in modern poultry farming is to support a stable epizootic situation with regard to bacterial infections among birds and the correct formation of the microbiocenosis in the gastrointestinal tract of birds from birth, especially with floor-keeping technologies.

Key words: probiotic «Biozapin», antagonistic activity, probiotic cultures, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, biological disinfection, surfactants of microbial origin.