

ISSN 0321-0502

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ**

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

# **ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА**

---

**МІЖВІДОМЧИЙ  
ТЕМАТИЧНИЙ  
НАУКОВИЙ  
ЗБІРНИК**

---

**105**

**ХАРКІВ  
2019**

УДК 619:60/61:636/639:57(051.2)

## РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Головний редактор: **Стегній Б. Т.**, проф., акад. НААН (Україна)  
Заступник головного редактора: **Герілович А. П.**, проф., член-кор. НААН (Україна)  
Відповідальний секретар: **Унковська О. М.**, канд. с.-г. наук (Україна)

## ЧЛЕНИ РЕДАКЦІЙНОЇ КОЛЕГІЇ

**Афонсо К.**, д-р біол. наук (США), **Байлі Л.**, проф. (Великобританія), **Барановський Д. І.**, проф. (Україна), **Богач М. В.**, проф. (Україна), **Болотін В. І.**, канд. вет. наук, ст. наук співроб. (Україна), **Борель Н.**, проф. (Швейцарія), **Бусол В. О.**, проф., акад. НААН (Україна), **Вільчек С.**, проф. (Словаччина), **Влізло В. В.**, проф., акад. НААН (Україна), **Власенко В. М.**, проф., акад. НААН (Україна), **Вовк С. І.**, канд. вет. наук (Україна), **Вольфель Р.**, д-р мед. наук, проф., полк-к ВМ (Німеччина), **Гамкрелідзе А.**, проф. (Грузія), **Герман В. В.**, проф., член-кор. НААН (Україна), **Гладій М. В.**, проф., акад. НААН (Україна), **Головко А. М.**, проф., акад. НААН (Україна), **Головко В. О.**, проф., акад. НААН (Україна), **Горайчук І. В.**, канд. біол. наук (США), **Горбатенко С. К.**, канд. вет. наук, доц. (Україна), **Долецький С. П.**, д-р вет. наук, доц. (Україна), **Жегунов Г. Ф.**, проф. (Україна), **Завгородній А. І.**, проф., член-кор. НААН (Україна), **Задорожна В. І.**, проф., член-кор. НААН (Україна), **Ільмаз Х.**, проф. (Туреччина), **Імнадзе П.**, проф. (Грузія), **Калашнік М. В.**, канд. вет. наук (Україна), **Коваленко Л. В.**, канд. біол. наук, ст. наук співроб. (Україна), **Комісаренко С. В.**, проф., акад. НААН та НАМН (Україна), **Корнійков О. М.**, канд. вет. наук (Україна), **Корнієнко Л. Є.**, проф. (Україна), **Коцюмбас І. Я.**, проф., акад. НААН (Україна), **Кузьмак Я.**, проф. (Польща), **Куцан О. Т.**, проф., член-кор. НААН (Україна), **Лиманська О. Ю.**, д-р біол. наук, ст. наук співроб. (Україна), **Ломако Ю. В.**, канд. вет. наук, доц. (Білорусь), **Мазуркевич А. І.**, проф., член-кор. НААН (Україна), **Мандигра М. С.**, проф., член-кор. НААН (Україна), **Меженський А. О.**, канд. вет. наук (Україна), **Мельничук С. Д.**, проф., член-кор. НААН (Україна), **Мінухін В. В.**, проф. (Україна), **Музика Д. В.**, д-р вет. наук, ст. наук співроб. (Україна), **Немчук К.**, проф. (Польща), **Ничик С. А.**, проф., член-кор. НААН (Україна), **Оробченко О. Л.**, д-р вет. наук, ст. наук співроб. (Україна), **Палій А. П.**, проф. (Україна), **Пантін-Джеквуд М.**, проф. (США), **Потконьяк А.**, д-р філософії (вет. мед.), доц. (Сербія), **Ріхт Ю.**, проф. (США), **Романько М. Є.**, д-р біол. наук, ст. наук співроб. (Україна), **Рубленко М. В.**, проф., акад. НААН (Україна), **Солодянкін О. С.**, канд. біол. наук (Україна), **Співак М. Я.**, проф., акад. НААН (Україна), **Стегній М. Ю.**, канд. біол. наук, доц. (Україна), **Стибель В. В.**, проф. (Україна), **Ушкалов В. О.**, проф., член-кор. НААН (Україна), **Фещенко Ю. І.**, проф., акад. НАМН (Україна), **Філатов С. В.**, канд. вет. наук (Україна), **Фотіна Т. І.**, проф. (Україна), **Цвіліховський М. І.**, проф., акад. НААН (Україна), **Чорний М. В.**, проф. (Україна)

Міжвідомчий тематичний науковий збірник «Ветеринарна медицина» входить до «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук» у галузі ветеринарних наук (остання перереєстрація згідно з наказом Міністерства освіти і науки України № 261 від 06.03.2015 р.).

Повні тексти статей розміщені на сайтах: видання ([jvm.kharkov.ua](http://jvm.kharkov.ua)), Національної бібліотеки України ім. В. І. Вернадського ([nbuv.gov.ua/j-tit/vetmed](http://nbuv.gov.ua/j-tit/vetmed)), наукової електронної бібліотеки «eLibrary» ([elibrary.ru/title\\_about.asp?id=51320](http://elibrary.ru/title_about.asp?id=51320)) та індексуються у Google Scholar і ПІНЦ.

Затверджено до друку Вченою радою Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (протокол № 10 від 05.08.2019 р.).

### Адреса редакційної колегії:

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

ISSN 0321-0502

© ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», 2019

ISSN 0321-0502

**NATIONAL ACADEMY OF AGRARIAN SCIENCES OF UKRAINE**

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

# **VETERINARY MEDICINE**

---

**INTER-DEPARTMENTAL  
SUBJECT  
SCIENTIFIC  
COLLECTION**

---

**105**

**KHARKIV  
2019**

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

## **EDITORIAL BOARD**

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

Vice Editor-in-Chief: **Gerilovych A. P.**, Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine)

Responsible Secretary: **Unkovska O. M.**, Cand. Sci. (Agr.) (Ukraine)

## **EDITORIAL BOARD MEMBERS**

**Afonso C.**, Dr. Sci. (Biol.) (USA), **Baillie L.**, Prof. (United Kingdom), **Baranovskyi D. I.**, Prof. (Ukraine), **Bogach M. V.**, Prof. (Ukraine), **Bolotin V. I.**, Cand. Sci. (Vet. Med.), Senior Researcher (Ukraine), **Borel N.**, Prof. (Switzerland), **Busol V. O.**, Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Chorny M. V.**, Prof. (Ukraine), **Doletskyi S. P.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Assoc. Prof. (Ukraine), **Feshchenko Yu. I.**, Prof., Academician of NAMS (Ukraine), **Filatov S. V.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Fotina T. I.**, Prof. (Ukraine), **Gamkrelidze A.**, Prof. (Georgia), **German V. V.**, Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine), **Gladiy M. V.**, Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Golovko A. M.**, Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Golovko V. O.**, Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Goraichuk I. V.**, Cand. Sci. (Biol.) (USA), **Gorbatenko S. K.**, Cand. Sci. (Vet. Med.), Assoc. Prof. (Ukraine), **Imnadze P.**, Prof. (Georgia), **Kalashnik M. V.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Komisarenko S. V.**, Prof., Academician of NAS and NAMS (Ukraine), **Korneikov O. M.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Kornienko L. Ye.**, Prof. (Ukraine), **Kotsiumbas I. Ya.**, Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Kovalenko L. V.**, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher (Ukraine), **Kutsan O. T.**, Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine), **Kuzmak J.**, Prof. (Poland), **Lomako Yu. V.**, Cand. Sci. (Vet. Med.), Assoc. Prof. (Belarus), **Lymanska O. Yu.**, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher (Ukraine), **Mandygra M. S.**, Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine), **Mazurkevych A. Yo.**, Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine), **Melnychuk S. D.**, Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine), **Mezhenskyi A. O.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Minukhin V. V.**, Prof. (Ukraine), **Muzyka D. V.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Senior Researcher (Ukraine), **Niemczuk K.**, Prof. (Poland), **Nychyk S. A.**, Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine), **Orobchenko O. L.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Senior Researcher (Ukraine), **Paliy A. P.**, Prof. (Ukraine), **Pantin-Jackwood M.**, Prof. (USA), **Potkonjak A.**, PhD (Vet. Med.), Assoc. Prof. (Serbia), **Richt J.**, Prof. (USA), **Romanko M. Ye.**, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher (Ukraine), **Rublenko M. V.**, Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Solodiantkin O. S.**, Cand. Sci. (Biol.) (Ukraine), **Spivak M. Ya.**, Prof., Academician of NAS (Ukraine), **Stegniy M. Yu.**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof. (Ukraine), **Stybel V. V.**, Prof. (Ukraine), **Tsvilikhovsky M. I.**, Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Ushkalov V. O.**, Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine), **Vilcek S.**, Prof. (Slovakia), **Vlasenko V. M.**, Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Vlizlo V. V.**, Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Vovk S. I.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Wölfel R.**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Colonel (MC) (Germany), **Yilmaz H.**, Prof. (Turkey), **Zadorozhna V. I.**, Prof., Cor.-member of NAMS (Ukraine), **Zavgorodniy A. I.**, Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine), **Zhegunov G. F.**, Prof. (Ukraine)

Inter-departmental subject scientific collection 'Veterinary Medicine' included in the 'List of scientific professional editions of Ukraine, which can be published results of dissertations for the degree of doctor and candidate of sciences' in the field of 'veterinary science' (last re-registration by a decree of the Ministry of Education and Science of Ukraine № 261 from 03.06.2015).

The full text of articles posted on websites of: the edition ([jvm.kharkov.ua](http://jvm.kharkov.ua)), the Vernadsky National Library of Ukraine ([nbuv.gov.ua/j-tit/vetmed](http://nbuv.gov.ua/j-tit/vetmed)), the scientific electronic library «eLibrary» ([elibrary.ru/title\\_about.asp?id=51320](http://elibrary.ru/title_about.asp?id=51320)), and indexed in Google Scholar and RSCI.

Publication authorized by the Scientific Council of the National Scientific Center 'Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine' (protocol № 10 from 05.08.2019).

### **Editorial Board Address:**

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

**ISSN 0321-0502**

© NSC 'Institute of Experimental  
and Clinical Veterinary Medicine', 2019

# 1. ПРОБЛЕМИ БІОБЕЗПЕКИ ТА БІОЗАХИСТУ. ЕМЕРДЖЕНТНІ ІНФЕКЦІЇ

УДК 619:616.98:579.852.11

DOI 10.36016/VM-2019-105-1

## ПРО ПОХОДЖЕННЯ ТА ЕВОЛЮЦІЮ *BACILLUS ANTHRACIS*

**Білоконов І. І.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [admin@vet.kharkov.ua](mailto:admin@vet.kharkov.ua)

У статті наведені результати моніторингових досліджень за матеріалами сайтів Promed-mail, монографій вітчизняних і закордонних авторів про походження та еволюцію *B. anthracis*, у результаті якої мікроб набув вірулентність для людей і тварин шляхом трансформації на першому етапі у групу *B. cereus* ряду близькоспоріднених видів бацил, від величезної кількості спороутворюючих мікроорганізмів, що мешкають у ґрунті. Далі відбулося відділення *B. anthracis* від інших видів *B. cereus* у результаті придбання факторів вірулентності у вигляді плазмід рХО1 і рХО2, детермінуючих синтез основних властивостей вірулентності — токсину та капсули

**Ключові слова:** *B. anthracis*, *B. cereus*, геном, плазміди, еволюція, сибірка

Сибірка (сибирская язва — рус., anthrax — англ., milzbrand — нім., febris carbunculosa — лат.) — особливо небезпечна інфекційна хвороба домашніх і диких тварин, а також людини, що протікає з явищами септицемії або утворенням карбункулів. Зараз сибірка зустрічається в усіх країнах світу як серед тварин, так і серед людей. Не спостерігається тільки на Крайній Півночі Американського континенту, в Антарктиді і нечисленних острівних територіях [1, 3].

За останні роки в ряді країн світу намітилася тенденція до зниження захворюваності на сибірку людей і тварин, проте, ця особливо небезпечна інфекція набула трансконтинентального характеру, у зв'язку з чим необхідний постійний нагляд і аналіз, а в разі необхідності вжиття термінових заходів. Незважаючи на проведені в багатьох країнах профілактичні заходи проти сибірки, у жодній країні світу ця хвороба не ліквідована [1].

Про появу на землі збудника сибірки і його еволюцію, а разом з тим і сибіркової інфекції існують різні тлумачення. Ряд авторів вважають, що збудник сибірки виник із сапрофітного спороутворюючого мікроба, можливо, з *Bac. cereus*, як найбільш близького за багатьма біологічними ознаками до *Bac. anthracis* [1].

Процес трансформації *Bac. cereus* у *Bac. anthracis* стався у стародавні часи, напевно, коли з'явилися траводітні тварини та їх зіткнення на пасовищі зі спороутворюючими ґрунтовими сапрофітами. Ці мікроби, проникаючи в організм тварин через травми слизових оболонок, адаптувалися шляхом мутації до умов життя в макроорганізмі, де вони набули нові властивості у вигляді патогенності, зберігши при цьому здатність до спорогенезу і, тим самим, високу життєздатність і стійкість у зовнішньому середовищі [1].

На думку І. А. Бакулова [1] еволюційний процес *Bac. anthracis* і самої хвороби відбувається і в даний час, можливо, і в зворотному напрямку, про що свідчать численні спостереження, які підтверджують циркуляцію безкапсульних авірулентних форм в організмі тварин, а також у зовнішньому середовищі.

Новий етап еволюції *Bac. anthracis* почався у зв'язку з проведенням масових вакцинацій тварин проти сибірки живими споровими вакцинами. В умовах вакцинації та при наявності активного імунітету бацила антракса позбавляється здатності заразити тварину і зробити величезне потомство, а потім потрапити в зовнішнє середовище і перейти у спорову форму. Вегетація збудника сибірки в інших умовах зовнішнього середовища, на відміну від розмноження в живому організмі, веде до втрати вірулентних властивостей, так як ці властивості стають не потрібними для проживання у ґрунті [1].

Не виключаються й інші механізми еволюції *Bac. anthracis* у період перебування її в ґрунті, особливо у старих скотомогильниках, де в літню теплу пору збудник сибірки може вегетувати і піддаватися дії бактеріофагів у вигляді генетичної трансдукції, а також трансформації або кон'югації.

Вірулентність збудника сибірки визначається в основному капсулою, наявністю якої детермінується плазмідною рХО2. Втрата даної плазміди веде до втрати вірулентності. За ступенем вірулентності, пов'язаної з наявністю або відсутністю капсули, розрізняють 4 типи збудників:

1. Вірулентний штам *Bac. anthracis* (cap<sup>x</sup> токс<sup>x</sup>), що містить плазмиди рХО1 і рХО2, патогенний для людини і тварин;
2. Вакцинний штам *Bac. anthracis* (кап-, токс<sup>x</sup>) включає плазмиду рХО1 при відсутності плазміди рХО2;
3. Авірулентний штам *Bac. anthracis* (cap<sup>x</sup>, токс-), що містить плазмиду рХО2, при відсутності плазміди рХО1 патогенний для лабораторних тварин.
4. Непатогенний штам *Bac. anthracis* (кап-, токс-) — відсутні обидві плазмиди, втрачена вірулентність.

Відомо, що рід *Bacillus* об'єднує понад 100 аеробних і факультативно-анаеробних спороутворюючих видів бацил. *B. anthracis* є єдиним облігатним патогеном для тварин і людини у групі близькоспоріднених бацил, іменованій *B. cereus sensu lato* [7, 8].

До цієї групи також віднесені *B. cereus sensu stricto*: *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. thuringiensis* і *B. weihenstephanensis*. *B. cereus* є ґрунтовим сапрофітом, але окремі його штами здатні викликати харчові токсикози з ознаками діареї. *B. mycoides* і *B. pseudomycoides* — непатогенні сапрофіти [11].

Багато штамів *B. thuringiensis* містять параспорові кристалічні білки, токсичні для комах і деяких видів безхребетних [9, 10].

*B. weihenstephanensis* мешкає у ґрунті, адаптований до низьких температур навколишнього середовища [12].

Деякі вчені стверджують, що всі види бацил, які входять до групи *B. cereus* s.l., становлять один вид з незначними генетичними відмінностями [13].

На основі молекулярно-генетичних досліджень встановлено, що види, які входять до групи *B. cereus*, складають три клади [14, 16, 17].

До першого клади віднесені всі вивчені штами *B. anthracis* і частина штамів *B. cereus*. Інші штами *B. cereus* і більшість штамів *B. thuringiensis* включені у другий клад. Штами *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis* складають 3-й клад. Ці штами позначені як кластери С, Т і W [18].

В останні роки в ряді лабораторій були проведені молекулярно-генетичні дослідження, у результаті яких отримані нові дані, які поглиблюють раніше висловлені припущення про походження і еволюцію *B. anthracis* [2, 4, 5, 6].

Результати проведеного аналізу свідчать про те, що еволюція збудника сибірки призвела до виникнення штамів бацил з аналогічними для *B. anthracis* плазмідами вірулентності (рХО1 і рХО2), які при цьому зберегли певні властивості *B. cereus* та здатні спричиняти антраксоподібні захворювання людини і деяких видів тварин. Вірулентний потенціал бацил даної групи, генетично близьких до *B. anthracis*, є досить високим.

Еволюція *B. anthracis*, у результаті якої мікроб набув вірулентність для тварин і людей, на думку ряду вчених включає два етапи [7, 20].

На першому етапі відбулася трансформація у групу *B. cereus* близькоспоріднених видів бацил від величезної кількості спороутворюючих бактерій, що мешкають у ґрунті. На другому етапі *B. anthracis* відокремився від інших видів групи *B. cereus* у зв'язку з придбанням найважливіших факторів вірулентності — плазмід рХО1 і рХО2, що детермінують синтез токсину та капсули.

Останнім часом все частіше стали виявляти так звані «антраксоподібні» захворювання тварин і людини, які викликані вірулентними штамми *B. cereus* і, рідше, *B. thuringiensis* [21, 22].

У 1994 р. у штаті Луїзіана (США) від зварювальника з ознаками важкої пневмонії, був виділений штам *B. cereus* G9241. У 2003 р. з різницею у три тижні у двох різних місцях штату Техас сталося два смертельних випадки захворювання робітників, пов'язаних з обробкою металу,

які клінічно нагадували інгаляційну форму сибірки. При лабораторних дослідженнях у першому випадку з крові був ізольований штам *B. cereus* 03 BB102. Зі зразків із робочого місця було виділено штам *B. cereus* 03 BB108. З крові другого померлого робочого виділено штам *B. cereus* 03 BB87, який майже не відрізнявся від штаму *B. cereus* G9241, ізольованого в 1994 р. у Луїзіані, за винятком ступеня експресії генів капсули. Штами *B. cereus* 03 BB102 і *B. cereus* 03 BB108 були ідентичні за багатьма ознаками, за винятком генетичного профілю плазмиди рХО1 і морфології колоній. Ці штами філогенетично були більш схожі з *B. anthracis*, ніж з *B. cereus* 03 BB87, G9241, *B. thuringiensis* 97–27, *B. cereus* E33 L і двома токсигенними ізолятами *B. cereus* D17 і 3 A. Штами *B. cereus* 03 BB102 і 03 BB108 віднесені до сіквенс-типу 11, *B. cereus* 03 BB87 і *B. cereus* G9241 — до сіквенс-типу 78. Усі штами віднесені до кладу 1. Епідеміологічного зв'язку між випадками захворювання в Луїзіані та Техасі не виявлено [23, 24].

При секвенуванні штаму *B. cereus* G9241 виявлено дві плазмиди вірулентності близькі до рХО1 і рХО2 *B. anthracis*. При цьому, плазміда рBCXA кодувала раg A1-гомолг протективного антигену *B. anthracis* і hasACB, який детермінував синтез капсули з гіалуронової кислоти. Плазміда рBC218 кодувала у ps-n-екзополісахарид *B. cereus*, що утворює другу капсулу. Напевно ці дві капсули грали істотну роль у патогенезі при антраксоподібних захворюваннях людей, що були викликані *B. cereus* G9241 [25].

За даними Wilson et al. [26] штам *B. cereus* G9241 був авірулентним для кроликів при підшкірному зараженні і у 100 разів менш вірулентним, ніж референтний штам *B. anthracis* Ames при аерозольному зараженні. Для мишей декількох ліній LD<sub>50</sub> даного штаму була значно вище, ніж для *B. anthracis* Ames, але мало чим відрізнялася від безкапсульного токсигенного вакцинного штаму *B. anthracis* Sterne.

У Західній Африці (Камерун) у 2001–2002 рр. у національному парку Тан від 6 шимпанзе та горил, а також від 6 диких шимпанзе, що раптово загинули з ознаками сибірки, були ізольовані штами *B. cereus*, що містять дві плазмиди патогенності *B. anthracis* рХО1 і рХО2. [28, 29, 30, 31].

Один із тих штамів, ізольований від шимпанзе «Лео» (С1), був підданий повному секвенуванню генома [27].

Однак на відміну від класичних штамів *B. anthracis*, штам С1 *B. cereus* виявився рухомим, у нього ідентифіковані чотири реплікони на хромосомі та три плазмиди. При порівняльному геномному аналізі встановлено, що його хромосома нагадує хромосому інших видів групи *B. cereus*, але не *B. anthracis*. Водночас, виявлені в ньому дві плазмиди були ідентичні плазмідам вірулентності рХО1 і рХО2 *B. anthracis*. Функція вперше виявленої третьої плазмиди залишається поки не відомою. При аналізі геномних локусів, що кодують основні функції, підтвердили більш тісну близькість даного штаму зі штамами *B. thuringiensis* 97–25 і *B. cereus* E33 L, ніж зі штамами *B. anthracis*. Для порівняльного аналізу ці два штами були обрані у зв'язку з тим, що вони є вірулентними і тісно пов'язані з *B. anthracis*. Слід зауважити, що штам *B. thuringiensis* 97–27 був ізольований від людини з важким некрозом тканини, а *B. cereus* E. 33 L від зебри, ймовірно загиблої від сибірки. Штам С1 *B. cereus*, що викликає захворювання та нагадує сибірку за генетичною структурою, не може бути віднесений до штамів *B. anthracis*. Автори припустили, що цей штам еволюціонував зі штаму *B. cereus* і придбав нові властивості, характерні для *B. anthracis*, зберігши при цьому риси *B. cereus*. У зв'язку з цим, запропоновано іменувати цей штам, як *B. cereus* var. *anthracis* [24].

Подальші дослідження показали, що, так звані «дивні сибіркові штами» у Камеруні стали причиною спалахів смертельної хвороби не тільки мавп, але і великої рогатої худоби, від якої був виділений штам JF3964. За висновком Pilo зі співавт. [25] цей штам філогенетично проявляв себе як *Bac. cereus*, для якого була характерна резистентність до специфічного для *B. anthracis* v-фагу та пеніциліну, але на відміну від *B. cereus* не виявляв гемолітичної активності. У цього штаму були відсутні хромосомні маркери Sap і Ba S13, використовувані при ідентифікації *B. anthracis*, але він містив гени вірулентності властиві плазмідам збудника сибірки рХО1 і рХО2. Автори показали, що штами, ізольовані в Західній і Центральній Африці від великої рогатої худоби, належать до філогенетичної групи АВ, раніше вони не виявлялися поза цією зоною. Було зроблено висновок, що в цьому регіоні присутній субтип *B. anthracis*, який належить до нового кладу (Д). Даний субтип має спорідненість з *B. cereus*, що викликає у великої рогатої худоби і приматів симптоми антраксу.

Плазмиди вірулентності рХО1 і рХО2 *B. anthracis* виявлені і у інших видів роду *Bacillus*, що не входять до групи *B. cereus*. Капсульний оперон плазмиди рХО2 *B. anthracis* був виявлений у



складі великих плазмід у двох штамів бацил, ізольованих із зовнішнього середовища. Один з цих штамів не належить до жодного з відомих видів бацил, за винятком *B. luciferensis*, другий був ідентифікований як *B. arculat* [26].

Виявлення вірулентних для людини і тварин штамів бацил, у яких фенотип відрізнявся за рядом ознак від класичних штамів *B. anthracis*, підтверджує можливе еволюційне походження. Відомі також думки, про те, що *B. anthracis* має вкрай обмежені природні можливості обміну генетичним матеріалом з іншими бацилами, у тому числі і близькородинними видами групи *B. cereus*. Це підтверджується тим, що *B. anthracis* у споровій формі може протягом багатьох років перебувати у ґрунті у спочиваючому стані, при якому неможливі генетичні рекомбінації. Однак існує думка, заснована на експериментальних даних, що спори *B. anthracis* можуть проростати в ризосфері певних трав'янистих рослин у вегетативні форми, в яких можливий обмін плазмідями [27].

Природний генетичний обмін у вигляді горизонтального переносу генів плазмід вірулентності рХО1 і рХО2 можливий в період інфекційного захворювання. Але такий обмін не призводить до істотних генетичних змін навіть в середині виду [28, 29].

Відомо, що найбільш відрізняються між собою штами *B. anthracis* мають понад 99,99 % ідентичності нуклеотидної послідовності [32].

Ряд дослідників [29,32] відзначають, що в даний час не є достатньо експериментальних даних, які підтверджують можливість природного генетичного обміну плазмідями між *B. anthracis* та іншими бацилами в організмі людини і тварин, хоча в лабораторних умовах здійснення перенесення плазмід між штамми в середині групи *B. cereus* не становить серйозних труднощів [26, 32].

Передбачається, що кон'югація — найбільш реальний спосіб перенесення плазмід у групі *B. cereus* [33].

Вірулентний потенціал бацил з групи *B. cereus*, обумовлений отриманням плазмід рХО1 і рХО2 генетично близьких до *B. anthracis*, дуже високий [34].

У минулому — 20–30 тисяч років тому *B. anthracis* здійснив таку можливість і поширився по всьому світу [35].

За даними Нап зі співавт. [36] *B. cereus* і *B. thuringiensis* мають повний набір генів для кодування токсину та капсули — факторів вірулентності. В еволюції вірулентних штамів бацил з групи *B. cereus*, що спричиняють антраксоподібні захворювання, залишається багато не відомого. Необхідні подальші дослідження вірулентних штамів збудників антраксоподібних захворювань, щоб встановити час, місце і причини їх появи, звернувши особливу увагу на можливість їх розмноження та поширення в навколишньому середовищі, тим більше, не можна виключати і того, що ці штами могли бути генетично створені в лабораторних умовах для певних цілей.

Для діагностики сибірки протягом багатьох десятиліть успішно застосовували загальновідомі мікробіологічні методи, такі як мікроскопія мазків, ідентифікація збудника за культурально-біохімічними властивостями, серологічні реакції та біопроби на лабораторних тваринах. Поставити правильний діагноз на сибірку досить складно у зв'язку з можливим отриманням неоднозначних результатів. У цьому випадку найбільш надійним методом є молекулярно-генетичний [4, 5, 6, 36], в основі якого лежить виявлення двох плазмід вірулентності — рХО1 і рХО2. Однак необхідно враховувати можливе виявлення штамів *B. anthracis* з елементацією однієї або двох плазмід. Такі штами іноді виділяються з навколишнього середовища. При діагностиці інфекційних захворювань з клінічними і патологоанатомічними ознаками сибірки необхідно враховувати можливе виявлення незвичайних штамів *B. anthracis* або інших бацил. Тому правильний діагноз на сибірку може бути поставлений тільки при комплексному підході, що включає бактеріологічні, серологічні дослідження, біологічну пробу на лабораторних тваринах з обов'язковим застосуванням молекулярно-генетичних методів.

**Висновки та перспективи подальших досліджень:** 1. Еволюція *B. anthracis*, у результаті якої мікроб набув вірулентність для людей і тварин, більш ймовірно, включає два етапи. На першому етапі відбулася трансформація у групу *B. cereus* ряду близькоспоріднених видів бацил від величезної кількості спороутворюючих мікроорганізмів, що мешкають у ґрунті. На другому етапі *B. anthracis* відокремився від інших видів групи *B. cereus*, у зв'язку з придбанням найважливіших факторів вірулентності-плазмід рХО1 і рХО2, що детермінують синтез токсину та



капсули і, можливо, до виникнення штамів бацил з аналогічними для *B. anthracis* плазмідами вірулентності, але зберегли певні властивості *B. cereus*, що спричиняють антраксоподібні захворювання людини і деяких видів тварин. Вірулентний потенціал бацил даної групи, генетично близьких до *B. anthracis*, є досить високим. В еволюції *B. anthracis* і вірулентних штамів, що спричиняють антраксоподібні захворювання людей і деяких видів тварин, багато залишається невідомого. Необхідні подальші дослідження в цьому напрямку.

2. При діагностиці інфекційних захворювань з клінічними і патологоанатомічними ознаками збудника сибірки необхідно враховувати можливе виявлення незвичайних штамів *B. anthracis* або інших бацил. Правильний діагноз на сибірку може бути поставлений тільки при комплексному підході, включаючи бактеріологічні, серологічні дослідження і біологічну пробу на лабораторних тваринах з обов'язковим застосуванням молекулярно — генетичних методів.

### **Список літератури**

1. Бакулов И. А., Гаврилов В. А., Селиверстов В. В. Сибирская язва (Антракс). Владимир : Посад, 2001. 278 с.
2. Білоїван О. В., Стегній Б. Т., Герілович А. П. [та ін.]. Розробка позитивного ПЛР-контролю для виявлення генетичного матеріалу *B. anthracis* // *Вет. медицина* : міжвід. тематич. наук. зб. 2018. Вип. 104. С. 305–309.
3. Бусол В., Постой В., Блажко А. Епізоотологічний моніторинг: сибірка. *Вет. медицина України*. 2002. № 3. С. 12–14.
4. Лиманская О. Ю., Лиманский А. П. Маркеры для видоспецифической детекции бацилл группы *Bacillus cereus*. *Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол.* 2008. № 3. С. 20–26.
5. Лиманская О. Ю., Муртазаева Л. А., Кли С., Лиманский А. П. Детекция возбудителя сибирской язвы с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. *Biotechnologia Acta*. 2012. Т. 5, № 5. С. 65–71.
6. Лиманская О. Ю., Муртазаева Л. О., Лиманский О. П. Видоспецифічна детекція збудника сибірки. *Biotechnologia Acta*. 2012. Т. 5, № 1. С. 92–99.
7. Yu G. X. Pathogenic *Bacillus anthracis* in the progressive gene losses and gains in adaptive evolution. *BMC Bioinform.* 2009; 10 (suppl. 1): S3.
8. Turnbull P. Introduction: anthrax history, disease and ecology. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2002; 271: 1–19.
9. Berry C., O'Neil S., Ben-Dov E. [et al.]. Complete sequence and organization of pBtoxis, the toxin-coding plasmid of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68(10): 5082–5095.
10. Roh J., Choi J., Li M. [et al.]. *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2007; 17(4): 547–559.
11. Nakamura L., Jackson M. Clarification of the taxonomy of *Bacillus mycoides*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1995; 45: 46–49.
12. Lechner S., Mayr R., Francis K., [et al.]. *Bacillus weihenstephanensis* sp. nov. is a new psychrotolerant species of the *Bacillus cereus* group. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1998; 4: 1373–1382.
13. Daffonchio D., Cherif A., Brusetti L. [et al.]. Nature of polymorphisms in 16 S–23 S rRNA gene intergenic transcribed spacers fingerprinting of *Bacillus* and related genera. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003; 69: 5128–5137.
14. Priest F., Barker M., Baillie L. [et al.]. Population structure and evolution of the *Bacillus cereus* group. *J. Bacteriol.* 2004; 186: 7959–7970.
15. Rasko D., Worsham P., Abshire T. [et al.]. Microbial forensic applications of comparative genome analysis: Identification of *Bacillus anthracis* genetic markers in the Amerithrax investigation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011; 108(12): 5027–5032. <https://doi.org/10.1073/pnas.10166571108>
16. Helgason E., Okstad O., Caugant D. [et al.]. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* — one species on the basis of genetic evidence. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000; 66: 2627–2630.
17. Ko K., Kim J. W., Kim J. M. [et al.]. Population structure of the *Bacillus cereus* group as determined by sequence analysis of six housekeeping genes and the *plcR* gene. *Infect. and Immun.* 2004; 72: 5253–5261.
18. Sorokin A., Candelon B., Guilloux K. [et al.]. Multiple-locus sequence typing analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* reveals separate clustering and a distinct population structure of psychrotrophic strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006; 72(2): 1569–1578.
19. Didelot X., Barker M., Falush D., Priest F. Evolution of pathogenicity in the *Bacillus cereus* group. *Syst. Appl. Microbiol.* 2009; 32(2): 81–90.
20. Pilo P., Frey J. *Bacillus anthracis*: Molecular taxonomy, population genetics, phylogeny and patho-evolution (Review) *Infect. Genet. Evol.* 2011; 11: 1218–1224.
21. Hernandez E., Ramisse F., Ducoureaux J. [et al.]. *Bacillus thuringiensis* subsp. *konkukian* (serotype H 34) superinfection: case report and experimental evidence of pathogenicity in immunosuppressed mice. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36(7): 2138–2139.
22. Challacombe J. F., Altherr M. R., Xie G. [et al.]. The complete genome sequence of *Bacillus thuringiensis* Al Hakam. *J. Bacteriol.* 2007; 189: 3680–3681.
23. Hoffmaster A., Ravel J., Rasko D. [et al.]. Identification of anthrax toxin genes in a *Bacillus cereus* associated with an illness resembling inhalation anthrax. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004; 101(22): 8449–8454.
24. Hoffmaster A., Novak R., Marston C. [et al.]. Genetic diversity of clinical isolates of *Bacillus cereus* using multilocus sequence typing. *BMC Microbiol.* 2008; 8: 191.
25. Oh S. Y., Budzik J. M., Garufi G., Schneewind O. Two capsular polysaccharides enable *Bacillus cereus* G 9241 to cause anthrax like disease. *Mol. Microbiol.* 2011; 80: 455–470.

26. Wilson M., Vergis J., Alem F. [et al.]. *Bacillus cereus* G 9241 makes anthrax toxin and capsule like highly virulent *B. anthracis* Ames but behaves like attenuated toxigenic nonencapsulated *B. anthracis* Sterne in rabbits and mice. *Infect. and Immun.* 2011; 79(8): 3012–3019.
27. Klee S., Brzuszkiewicz E., Nattermann H. [et al.]. The genome of a *Bacillus* isolate causing anthrax in chimpanzees combines chromosomal properties of *B. cereus* with *B. anthracis* virulence plasmids. *PLoS One.* 2010; 5: e 10986.
28. Pilo P., Rossano A., Bamanga H. [et al.]. Bovine *Bacillus anthracis* in Cameroon. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(16): 5818–5821.
29. Luna V., King D., Peak K. [et al.]. *Bacillus anthracis* virulent plasmid pXO2 genes found in large plasmids of two other *Bacillus* species. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44(7): 2367–2377.
30. Leendertz F., Ellerbrok H., Boesch C. [et al.]. Anthrax kills wild chimpanzees in a tropical rainforest. *Nature.* 2004; 430: 451–452.
31. Keim P., Price L., Klevytska A. [et al.]. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J. Bacteriol.* 2000; 182: 2928–2936.
32. Van Ert M., Easterday W., Huynh L. [et al.]. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS One.* 2007; 2: e 461.
33. Hu X., Van der Auwera G., Timmerly S. [et al.]. Distribution, diversity, and potential mobility of extrachromosomal elements related to the *Bacillus anthracis* pXO1 and pXO2 virulence plasmids. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009; 75: 3016–3028.
34. Van der Auwera G., Andrup L., Mahillon J. Conjugative plasmid pAw63 brings new insights into the genesis of the *Bacillus anthracis* virulence plasmid pXO2 and of the *Bacillus thuringiensis* plasmid pBT972. *BMC Genom.* 2005; 6: 103.
35. Keim P., Wagner D. Humans and evolutionary and ecological forces shaped the phylogeography of recently emerged diseases. *Nature. Rev. Microbiol.* 2009; 7: 813–821.
36. Han C., Xie G., Challacombe J. [et al.]. Pathogenomic sequence analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolates closely related to *Bacillus anthracis*. *J. Bacteriol.* 2006; 188: 3382–3390.

## ON THE ORIGIN AND EVOLUTION OF *BACILLUS ANTHRACIS*

**Bilokonov I. I.**

*National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine*

*The paper presents data on the monitoring of the origin and evolution of *B. anthracis*, which show that the microbe became virulent for humans and animals through the initial transformation into *B. cereus* group containing a number of closely related species of many spore forming microorganisms inhabiting soil. This was followed by the divergence of *B. anthracis* from the rest of *B. cereus* group as a result of obtaining virulence factors such as plasmids pXO1 and pXO2, which determine synthesis of the main virulence factors — the toxin and the capsule. The evolution of *Bac. anthracis* and the disease caused by the pathogen occurs at the present time as well, possibly even in a reversed direction, as suggested by multiple observations on the circulation of capsule devoid, avirulent forms in animals and in the environment. The new stage in the evolution of *Bac. anthracis* has started in conjunction with the mass vaccination of animals against anthrax with spore vaccines. In these conditions of vaccination and the presence of active immunity the anthrax bacillus is incapable of infecting an animal, subsequent multiplication, passage to the environment and conversion to the spore form. According to several authors, vegetation of the anthrax microbe in the environmental conditions different from a living organism where the reproduction occurs leads to the loss of virulent properties because they are not required to live in the soil. Other mechanisms of *Bac. anthracis* evolution cannot be excluded when it resides in the soil, especially at old burial sites where the anthrax bacillus can vegetate during the warm season and to be influenced by action of bacteriophages in the form of genetic transduction, transformation and conjugation. At present, the «anthrax-like» diseases of animals and humans caused by virulent strains of *Bac. cereus* and *Bac. thuringiensis* are being registered at increased rate. Diagnosing infectious diseases with clinical and gross-pathological findings of anthrax it is necessary to account the possibility of detection of unusual strains of *Bac. anthracis* or other bacilli. The correct diagnosis of anthrax can be made only with a complex approach including bacteriological and serological examination, biological assays in laboratory animals, and, essentially, molecular-genetic methods*

**Keywords:** *B. anthracis, B. cereus, genome, plasmids, evolution, anthrax*

**ФОРМИРОВАНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕМУ ПРЕПАРАТУ «ДЕЗАКТИН» У МИКОБАКТЕРИЙ****Завгородний А. И., Позмогова С. А.***Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», Харьков, Украина, e-mail: [svetlanapozmogova@gmail.com](mailto:svetlanapozmogova@gmail.com)*

*В условиях постоянного воздействия «Дезактина» на микобактерии установлено, что механизмы формирования резистентности у патогенов и сапрофитов имеют различные пути. Адаптационный ответ возбудителей туберкулёза и паратуберкулёза на неблагоприятные условия *in vitro* аналогичен процессу, происходящему *in vivo* и характеризуется трансформацией в dormantные и CWD-формы. Механизм резистентности у *M. phlei* к «Дезактину» заключается в формировании гетероморфных популяций с частичной или полной утратой кислотоустойчивости, утолщении клеточной стенки, увеличении адгезивных и гидрофобных свойств. Наибольшую устойчивость к биоциду имели *M. phlei*, из патогенных культур — MAP. После 13 последовательных пассажей критическая концентрация «Дезактина» в среде для *M. bovis* и *M. avium* возросла в 100 раз, для MAP — в 7, для *M. phlei* — 1,4 раза*

**Ключевые слова:** адаптация, дезинфектант, изменчивость, микобактерии, резистентность

Известно, что бактерии имеют характерный спектр и уровень естественной устойчивости к конкретной группе химических средств или конкретному дезинфицирующему средству. Наряду с естественной (природной) устойчивостью, может формироваться приобретённая резистентность, в результате которой бактерия приобретает новые или утрачивает исходные признаки. Появление и распространение устойчивых к дезинфектантам вариантов бактерий, вероятно, является следствием генетического и фенотипического механизмов резистентности и селекции устойчивых культур при длительном применении биоцидов на основе одной группы активно действующих веществ. [1, 2].

Высокая естественная резистентность микобактерий к действию природных, физических и химических факторов во многом обусловлена структурно-биохимическими особенностями микобактерий и, в первую очередь, строением и свойствами уникальной клеточной стенки, большим количеством арабиногалактана, разнообразных липидов, причём некоторые липиды (например, миколовые кислоты), характерные только для микобактерий, придают выраженную гидрофобность клеточной стенке. Кроме того, микобактерии, адаптируясь к неблагоприятным условиям, могут варьировать содержание миколовых кислот на поверхности клеток, тем самым изменяя плотность микобактериальной мембраны, вследствие чего гидрофильные молекулы дезинфектантов не способны проникать через клеточную стенку в количествах, необходимых для достижения микобактерицидного эффекта [3, 4, 5, 6].

Многочисленные исследования в области гуманной медицины (туберкулёз, саркоидоз, болезнь Крона) свидетельствуют, что проявлением адаптивного ответа, в частности на антибиотики, является реверсия вегетативных форм в состояние персистенции покоящихся некультивируемых (dormantных) клеток и CWD-форм (от англ. «cell wall deficient/defective» — бактерии с отсутствующей/дефектной клеточной стенкой) [7–13].

Тогда как работ по изучению приобретённой резистентности микобактерий к дезинфектантам представлено меньше. Большинство исследований, посвящённых вопросам дезинфекции, связаны с определением чувствительности тестовых культур микобактерий к новым препаратам и их апробации с использованием методов, не предусматривающих возможности формирования приобретённой резистентности. Бактериоцидные/бактериостатические эффекты химических средств изучают путём одноразового воздействия различных концентраций растворов и экспозиций на микобактерии тест-культур с последующим высевом на плотную питательную среду. Эта методика позволяет судить о природной устойчивости микобактерий и не совсем корректна в вопросах изучения приобретённой

резистентности, мутаций, степени повышения устойчивости мутантов, по сравнению с их исходными вариантами и т. д. При однократном, недостаточно продолжительном действии дезинфектантов на микроорганизмы мутация, приводящая к приобретённой резистентности к биоцидам, вряд ли произойдёт, но при длительном применении одного и того же препарата существует риск формирования устойчивых, не поддающихся биоцидному воздействию микроорганизмов.

**Целью** работы было изучение формирования резистентности у микобактерий при многократных пассажах в присутствии дезинфицирующего препарата «Дезактин», сравнение критических концентраций «Дезактина» при многократном и однократном воздействии, а также в зависимости от фазы роста посевного материала.

**Материалы и методы.** В работе применяли хлорсодержащий дезинфицирующий препарат «Дезактин», использующийся для проведения текущей и заключительной дезинфекции в учреждениях охраны здоровья, объектах водоснабжения и канализации, а также в многопрофильных лабораториях. Действующие вещества препарата: 1,3-дихлор-5,5-диметилгидантоин, 5,5-диметилгидантоин; рекомендованная концентрация при туберкулёзе: 0,3–2,5 %-й раствор, время воздействия (экспозиция) — 30–360 минут.

Приобретённую резистентность изучали на референтных культурах возбудителей туберкулёза (*M. bovis* штам Vallee, *M. avium* штам D4ER), паратуберкулёза (*M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP)), а также на сапрофитных микобактериях — *M. phlei*, путём их последовательного пассажирования на среде с увеличивающейся концентрацией (от 0,025 до 55,0 мг) препарата. Кроме того, была установлена чувствительность к «Дезактину» у культур при однократном действии препарата, путём их высева непосредственно с картофельной среды Павловского на среду с определённой концентрацией биоцида.

Влияние фазы роста на чувствительность к биоциду изучали на культурах в логарифмической (20–25-дневных — для патогенов и 3-дневных — для *M. phlei*) и стационарной (2-месячных) фазах роста. Из-за очень медленного естественного роста MAP исследования проводили только с культурой в логарифмической фазе роста (3-х месячной). До начала опыта все культуры (кроме MAP) культивировали на среде Павловского, MAP — на селективной среде с фактором роста.

**Приготовление сред с «Дезактином».** Среды с соответствующей концентрацией препарата готовили за 24 часа перед высевом культур. На поверхность готовой «Сухой яичной среды для культивирования микобактерий» вносили по 0,5 см<sup>3</sup> раствора, содержащего 0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1,5; 2,5; 5,0; 15,0; 25,0; 35,0; 50,0; 55,0 мг «Дезактина». После внесения препарата пробирки выдерживали в горизонтальном положении при комнатной температуре для равномерного пропитывания. На следующий день проводили посев суспензии культур.

**Приготовление суспензии культур микобактерий.** Суспензию микобактерий готовили из адаптированных к картофельной среде Павловского культур в концентрации 1,0 мг бакмассы в 1,0 см<sup>3</sup> 0,85 %-го раствора NaCl. Взвесь культур гомогенизировали и высевали по 0,5 см<sup>3</sup> на четыре пробирки с «Дезактином» и одну без препарата (контроль). Две пробирки с препаратом культивировали до логарифмической фазы, две другие — до стационарной фазы роста, затем пересеивали на среду с большей концентрацией препарата. Посевы культивировали при 37,5±0,5 °С. Всего было проведено 11 последовательных пассажей *M. bovis* штам Vallee и *M. avium* штам D4ER, 12 пассажей — MAP и 13 пассажей — *M. phlei*.

Морфологию колоний (цвет, форма) и клеток (форма, размер, кислотоустойчивость) микобактерий после воздействия «Дезактина» изучали в сравнении с исходными штаммами и в мазках, окрашенных по методу Циль-Нильсена.

**Результаты исследований.** Полученные нами результаты расходились с результатами исследований зарубежных авторов [3, 9], в частности в том, что быстрорастущие культуры микобактерий, по сравнению с медленно растущими, являются более чувствительными к хлору, а также в том, что культуры в стационарной фазе роста менее чувствительны, в отличие от культур логарифмической фазы роста.

В наших исследованиях для патогенных культур стационарной фазы критическая концентрация препарата в среде составила 0,25 мг. При этом рост колоний выявляли намного позже как на среде с препаратом, так и на контрольной среде, тогда как для культур, пересеиваемых в логарифмической фазе роста, максимальные концентрации препарата были в

100 раз більше. Результати досліджень показали, що швидкозростаючі культури і патогенні культури в логарифмічній фазі росту швидше пристосовувалися до присутності «Дезактина» (табл.). Для *M. phlei* фаза росту не оказувала якогось-либ значення на чутливість до дезінфектанту.

**Таблиця — Результати вивчення чутливості мікобактерій до «Дезактину»**

Myc. ssp.	Многоразовое воздействие препарата (логарифмическая фаза роста)													К
	Содержание «Дезактина» в среде, мг													
	0,025	0,05	0,1	0,25	0,5	1,5	2,5	5,0	15,0	25,0	35,0	50,0	55,0	
<i>M. bovis</i>	#	#	#	#	#	#	#	# <sup>2</sup>	#	++	-	-	-	#
<i>M. avium</i>	#	#	#	#	#	#	#	#	#	+++	-	-	-	#
<i>M. phlei</i>	++	++	++	++	++ <sup>2</sup>	++	++	++	++	++	+	-	-	+++
<i>M. phlei</i>	#	#	#	#	#	#	#	#	# <sup>1</sup>	#	#	+++	-	#
Многоразовое воздействие препарата (стационарная фаза роста <sup>4</sup> )														
<i>M. bovis</i>	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#
<i>M. avium</i>	+++	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#
<i>M. phlei</i>	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	+	-	#
Одноразовое воздействие препарата (логарифмическая фаза роста)														
<i>M. bovis</i>	#	#	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#
<i>M. avium</i>	#	#	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#
<i>M. phlei</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+++
<i>M. phlei</i>	#	#	#	#	#	#	#	#	# <sup>3</sup>	#	#	++	-	#

Примечания: К — контрольная среда; «+» — 1–10 колоний; «++» — 10–30 колоний; «+++» — 30–50 колоний; «#» — колоний больше 50; <sup>1</sup> — формирование изогенного варианта оранжевого цвета R-формы (№ 1); <sup>2</sup> — формирование изогенного варианта S-формы; <sup>3</sup> — формирование изогенного непигментированного варианта S-формы (№ 2); <sup>4</sup> — из-за медленного естественного роста *M. phlei* исследование не проводили.

Вероятно, вследствие замедленного метаболизма старых культур стационарной фазы процесс репликации приостановлен или находится на очень низком уровне, следовательно, формирование адаптационных наследственных изменений к неблагоприятным условиям не будет таким же интенсивным, как у активно размножающихся клеток в логарифмической фазе роста. Кроме того, установлено, что быстро растущая культура атипичных микобактерий *M. phlei* обладала наибольшей степенью естественной и приобретённой резистентности, нежели представители медленно растущих культур *M. bovis*, *M. avium* и *M. phlei*.

Из патогенных культур *M. phlei* оказались менее чувствительными к дезинфектанту, в отличие от возбудителей бычьего и птичьего туберкулёза. Критическая концентрация «Дезактина» в среде, при которой выявляли рост постепенно адаптированных *M. bovis* и *M. avium*, составляла 25,0 мг, для *M. phlei* эта концентрация была в два раза выше и составляла 50,0 мг, для *M. phlei* — 35,0 мг.

Что касается одноразового воздействия «Дезактина» на культуры, было установлено, что *M. bovis* и *M. avium* в 100 раз чувствительнее к препарату, по сравнению с их постепенно адаптированными вариантами. Максимальная концентрация препарата для этих штаммов составила 0,25 мг (для постепенно адаптированных — 25,0 мг). Из патогенных культур возбудитель паратуберкулёза был наиболее резистентным к препарату, критическая концентрация, при которой наблюдали рост неадаптированных колоний *M. phlei*, составила 5,0 мг, количество колоний при этом не превышало 2–5. По нашему мнению, высокую устойчивость *M. phlei* к «Дезактину» обеспечивали структурные особенности клеточной стенки, поскольку этот вид микобактерий, в отличие от других видов, характеризуется самым большим содержанием миколовых кислот и очень толстой клеточной стенкой.

При сравнении морфологии колоний *M. avium* после многократного и одноразового действия «Дезактина» с исходным штаммом каких-либо изменений не наблюдали, в отличие от *M. bovis* и *M. avium* subsp. *paratuberculosis*. В процессе последовательных пересевов в присутствии «Дезактина» у *M. bovis* и *M. phlei* наблюдали трансформацию R-колоний в S-форму. В результате S-диссоциации у *M. bovis* резко снижались адгезивные свойства клеток, а у *M. phlei* —

увеличивались, что отразилось на способности бактерий по-разному эмульгироваться в физиологическом растворе. Однако главная родовая характеристика — кислотоустойчивость — у всех патогенных микобактерий сохранялась. С увеличением концентрации «Дезактина» происходило истончение и постепенное разрушение клеточной стенки, что отражалось на интенсивности окрашивания клеток из ярко красного в более бледные цвета, а в конечном итоге формировались слабо окрашивающиеся или неокрашивающиеся структуры с дефектной или отсутствующей клеточной стенкой. При микроскопии соскобов, где отсутствовал видимый рост патогенов, кроме небольшого количества кислотоустойчивых палочек, были выявлены изменённые формы: CWD-формы в виде сфероидов, скоплений кислотоустойчивых кокковых форм, зёрен и аморфной массы. При последующих пассажах изменённых форм на среде без биоцида роста колоний не наблюдали, но при микроскопии выявляли медленно увеличивающееся количество классических бациллярных форм. Таким образом, переход к состоянию покоя, при котором из-за крайне низкого метаболизма сильно замедляется или прекращается репликация клеток, можно рассматривать как часть адаптивного ответа на «Дезактин».

Полученные результаты исследований свидетельствуют, что в основе адаптации патогенных микобактерий к неблагоприятным условиям *in vitro* лежат механизмы, аналогичные процессам, происходящим *in vivo*, проявляющимся генетическими мутациями и фенотипическими изменениями, ведущими к формированию CWD- и некультивируемых покоящихся форм.

В отношении представителя атипичных микобактерий *M. phlei* установлено, что эти сапрофитные микобактерии обладали очень высокой природной устойчивостью к «Дезактину» и быстрой адаптацией к неблагоприятным условиям культивирования. Так, под нарастающим воздействием препарата, начиная с концентрации в среде 15,0 мг и выше, а также при одноразовом воздействии препарата в тех же концентрациях у данного штамма наблюдали диссоциацию с формированием гетероморфных популяций клеток. Гетерогенные варианты *M. phlei* характеризовались морфологическими изменениями колоний и клеток (цвет и форма, толщина клеточной стенки, кислотоустойчивость). У изогенной популяции № 1, формирующейся при постепенной адаптации к биоциду, наблюдали изменение цвета колоний от светло-жёлтого до ярко-оранжевого. При микроскопии выявляли лиловые (сиреневые) кокки и разной длины толстые палочки, а также полностью утратившие кислотоустойчивость ярко-синие бочонко-подобные клетки с очень толстой клеточной стенкой. Причём у этого варианта резко увеличились адгезивные свойства и гидрофобность. Кислотостойких палочек с типичной для этого вида микобактерий морфологией клеток не выявляли. У изогенного варианта № 2, сформировавшегося после одноразового воздействия препарата в той же концентрации, что и вариант № 1, наблюдали полную утрату пигментации колоний, изменение R-формы колоний на S-форму, при микроскопии выявляли кислотостойкие (красные) и не кислотостойкие (синие) палочки и кокки с очень толстой стенкой. Следует отметить, что изменения, возникшие в результате воздействия «Дезактина», не были необратимыми. Так, после двух-четырёх пассажей на среде без дезинфицирующего препарата изменённые варианты постепенно восстанавливали свои изначальные характеристики, причём непигментированный изовариант № 2 восстановился быстрее (через 2 пассажа). Это, вероятно, связано с тем, что более стойкие изменения изоварианта № 1 с полной утратой кислотоустойчивости сформировались в результате накопления и закрепления мутаций на протяжении нескольких генераций (13 пассажей), тогда как после одноразового воздействия «Дезактина» спонтанная трансформация изоварианта № 2 затронула лишь часть популяции клеток.

Итак, наблюдаемый гетероморфный рост *M. phlei* и резкое утолщение клеточной стенки является отражением адаптивной изменчивости, следовательно, высокой приспособляемости сапрофитных бактерий в зависимости от условий их существования.

Результаты исследований позволяют сделать заключение, что процессы приспособления патогенных и сапрофитных МБ к негативному воздействию окружающей среды имеют разные пути, которые, по нашему мнению, обусловлены эволюционно сложившейся нишей их существования, а именно, одни являются внутриклеточными паразитами, а другие — экологическими микобактериями.

**Выводы.** Постоянное воздействие одного и того же дезинфектанта формирует резистентные формы микобактерий. Механизм резистенции возбудителей туберкулёза и паратуберкулёза к «Дезактину» характеризуется деформацией и постепенной утратой клеточной стенки, трансформацией в дормантные и CWD-формы; у сапрофитных микобактерий (*M. phlei*) — утолщением клеточной стенки, увеличением адгезивных и гидрофобных свойств, формированием гетероморфных популяций с частичной или полной утратой кислотоустойчивости.

### Список литературы

1. Вишневский Б. И. Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулёза. *Медицинский альянс*. 2017. № 1. С. 29–32.
2. Котова А. Л., Ракишева А. С. Резистентность микобактерий туберкулёза к дезинфицирующим веществам. *Вестник КазНМУ*. 2014. № 1. С. 254–256.
3. Steed K. A., Falkinham J. O. Effect of growth in biofilms on chlorine susceptibility of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006. Vol. 72, No. 6. P. 4007–4011.
4. Falkinham J. O. Surrounded by mycobacteria: nontuberculous mycobacteria in the human environment. *J. Appl. Microbiol.* 2009. Vol. 107, No. 2. P. 356–367.
5. Лучинин Д. Н., Ротов К. А., Спиридонов В. А., Викторов Д. В. Основные механизмы резистентности микроорганизмов к антисептикам и дезинфектантам. *Дезинфекционное дело*. 2014. № 1. С. 24–30.
6. Oriani A. S., Sierra F., Baldini M. D. Effect of chlorine on *Mycobacterium gordonae* and *Mycobacterium chubuense* in planktonic and biofilm state. *Int. J. Mycobacteriol.* 2018. Vol. 7, No. 2. P. 122–127.
7. Wayne L. G. Dormancy of *Mycobacterium tuberculosis* and latency of disease. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1994. Vol. 13. P. 908–914.
8. Wayne L. G., Hayes L. G. An *in vitro* model for sequential study of shiftdown of *Mycobacterium tuberculosis* through two stages of non-replicating persistence. *Infect. Immun.* 1996. Vol. 64, No. 6. P. 2062–2069.
9. Lim A., Eleuterio M., Hutter B. [et al.]. Oxygen depletion-induced dormancy in *Mycobacterium bovis* BCG. *J. Bacteriol.* 1999. Vol. 181. P. 2252–2256.
10. Domingue, G. Demystifying pleomorphic forms in persistence and expression of disease. *Discovery Medicine*. 2010. Vol. 10, No. 52. P. 234–246.
11. Hulten K., El-Zimaity H., Karttunen T. [et al.]. Detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Crohn's diseased tissues by *in situ* hybridization. *American Journal of Gastroenterology*. 2001. Vol. 96, No. 5. P. 1529–1535.
12. El-Zaatari F., Naser S., Markesich D. [et al.]. Identification of *Mycobacterium avium* complex in sarcoidosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1996. Vol. 34, No. 9. P. 2240–2245.
13. Onwuamaegbu M., Belcher R., Soare C. Cell wall-deficient bacteria as a cause of infections: a review of the clinical significance. *Journal of International Medical Research*. 2005. Vol. 33, No. 1. P. 1–20.

### FORMATION OF RESISTANCE TO THE DISINFECTANT DRUG “DEZAKTIN” IN MYCOBACTERIA

**Zavgorodniy A. I., Pozmogova S. A.**

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

*The purpose of the work was to study the resistance formation in mycobacteria at multiple passages in the presence of the disinfectant “Dezaktin”, to compare the critical concentrations of “Dezaktin” at repeated and single exposure, as well as depending on the phase of growth of the seed. Under the conditions of the constant effect of “Dezaktin” on mycobacteria, it has been established that the mechanisms of resistance formation in pathogens and saprophytes have different paths. The adaptive response of pathogens of tuberculosis and paratuberculosis to adverse conditions *in vitro* is similar to the process that occurs *in vivo* and was characterized by transformation into dormant and CWD-forms. The mechanism of resistance in *M. phlei* to “Dezaktin” consisted in the formation of heteromorphic populations with a partial or complete loss of acid resistance, thickening of the cell wall, and an increase in adhesive and hydrophobic properties. *M. phlei* had the highest biocide resistance, and MAP among pathogenic cultures. After 13 consecutive passages, the critical concentration of “Dezaktin” in the medium for *M. bovis* and *M. avium* increased 100 times, for MAP — 7, for *M. phlei* — 1.4 times. The research results allow us to conclude that the processes of adaptation of pathogenic and saprophytic mycobacteria to the negative effects of the environment have different paths, which, in our opinion, is due to the evolutionary niche of their existence, namely, the first group are intracellular parasites, and others are environmental mycobacteria*

**Keywords:** adaptation, disinfectant, variability, mycobacteria, resistance



## 2. ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ ТА МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 619:579.842.14:615.33.015.8(477.63)

DOI 10.36016/VM-2019-105-3

### АНАЛІЗ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ *SALMONELLA* SPP. У ДНІПРОПЕТРОВСЬКІЙ ОБЛАСТІ (УКРАЇНА)

**Мартиненко Г. А.**

Дніпровська експериментально-інноваційна група ветеринарної медицини  
Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної  
ветеринарної медицини», Дніпро, Україна, e-mail: [anna29.10.76@i.ua](mailto:anna29.10.76@i.ua)

У статті наведені узагальнені результати бактеріологічних досліджень різних груп тварин, що були проведені протягом 2014–2018 рр. у Дніпропетровській області, та доведено стабільно високий рівень ( $86 \pm 3,7$  %) висівання грам-негативних мікроорганізмів. Встановлено, що домінуючими збудниками в досліджуваному регіоні були представники родини *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Salmonella* spp.), дані щодо яких можна використовувати в якості сурогатних маркерів резистентності. Визначені епізоотологічні закономірності сальмонельозу тварин і представлені дані стосовно резистентності збудника одного із найбільш поширених зоонозів. Також показана можливість прогнозування розповсюдження антибіотикорезистентних штамів у MS Excel у графічному вигляді за допомогою додавання лінії тренду

**Ключові слова:** антибіотикорезистентність, *Salmonella* spp., тварини, прогнозування

На сьогоднішній день однією з актуальних проблем ветеринарної та гуманної медицини залишається сальмонельоз [1]. Джерелом інфекції можуть бути тварини і люди, причому роль тварин в епідеміології є основною [2]. Існує безліч публікацій щодо харчових отруєнь у людей, що були спричинені стійкими штамми цього збудника. Спектр резистентності *Salmonella* spp., виділених від тварин, нерідко є наслідком селекційного тиску антибіотиків, які використовуються у тваринництві. Більш того, дані з країн ЄС свідчать, що нечутливість сальмонели, ізольованої від свиней, ВРХ і курчат, у значній мірі подібна спектру резистентності до антибактеріальних препаратів сальмонели, яка виділена з відповідних харчових продуктів і від людей [3].

**Мета роботи.** Вивчення видового складу циркулюючих у регіоні патогенів та резистентності до антибактеріальних препаратів у збудника одного із найбільш поширених зоонозів — сальмонельозу.

**Матеріали та методи.** У період 2014–2018 рр. у Дніпропетровській області вивчали якісний склад мікрофлори з біологічного та патологічного матеріалів від різних груп тварин. Аналізували власні дослідження, а також результати ветеринарної статистичної звітності регіону. Бактеріологічні дослідження проводили за загальноприйнятою методикою, ідентифікуючи бактерії до виду. Одночасно з вивченням морфологічних, культуральних, ферментативних і патогенних властивостей бактерій виконували типізацію культур у реакції аглютинації з використанням тест-реагентів Sifin, Німеччина. Антибіотикочутливість ізольованих штамів визначали диско-дифузійним методом із застосуванням стандартних паперових дисків, виробництва ТОВ «Аспект». Оцінку зон пригнічення росту бактерій здійснювали за нормами для клінічних ізолятів, згідно до методичних вказівок [4]. У роботі застосовували антибактеріальні препарати з п'яти груп, які найбільш часто використовують у ветеринарній практиці. Усі отримані кількісні результати досліджень піддавали статистичній обробці з використанням спеціалізованої комп'ютерної програми Microsoft Excel.

**Результати досліджень.** Аналіз результатів бактеріологічних досліджень у Дніпропетровській області свідчить, що виділення грам-негативних бактерій від ДРХ, ВРХ, хутових, свиней, птиці, риб, бджіл, ембріонів у всі строки спостереження залишалося стабільно високим ( $86 \pm 3,7$  %). Усього за п'ять років було виявлено та вивчено 237 культур грам-негативних бактерій. Так, домінуючим представником у досліджуваному регіоні була *E. coli* (56,7 %) з родини

Enterobacteriaceae. Друге місце за частотою виявлення у патологічному матеріалі посідала *Salmonella spp.* (10,5 %), що підтверджує убіквітарність цієї інфекції.

Усього було ізольовано 29 культур збудника сальмонельозу від шести видів тварин (цесарок, курей, гусей, свиней, ВРХ, нутрій) із переважанням частки пташиних ізолятів (86 %). Дані бактеріологічних досліджень свідчать, що для сільськогосподарської птиці різних вікових груп характерним було виявлення *S. Gallinarum-Pullorum* (56 %) та *S. Enteritidis* (32 %).

Виділення нерухомих серотипів *S. Gallinarum-Pullorum* доводить можливість вертикального шляху інфікування поголів'я і є одним із основних факторів ризику для птиці у регіоні. Присутність рухливих серотипів сальмонели (*S. Enteritidis*), здатної спричиняти системні ураження організму птиці, підтверджують потенціальний ризик розвитку зоонозів. Також у поодиноких випадках зафіксовано наявність нетипізованої пташиної сальмонели групи В (4 %). Під час підтвердження діагнозу на сальмонельоз характерним для ВРХ був сероваріант *S. Enteritidis Gartneri*, а для свиней — *S. Typhimurium* та *S. Typhi*. Отже, на території Дніпропетровської області доведено домінування сальмонели групи D (86,2 %).

Окрім видового типування циркулюючого у Дніпропетровській області збудника сальмонельозної інфекції було визначено спектр його антибіотикорезистентності. Так, розповсюдження стійкої до антибіотиків *Salmonella spp.* складало 96,55 %. Під час зіставлення результатів досліджень встановлено переважання частки культур збудника резистентних до двох препаратів (58,6 %), у той час як кількість культур резистентних до п'яти антибіотиків складала 20,69 %.

У процесі роботи визначено високу активність шести β-лактамів (цефазолін, цефаклор, цефтріаксон, ампіцилін, амоксицилін, карбеніцилін), нечутливими до них були від 3,4 до 13,8 % досліджених культур *Salmonella spp.* Одним із представників цієї групи з підтвердженою клінічною ефективністю є ампіцилін. Його високу активність доводить низький рівень виявлення нечутливих культур сальмонели у 2014–2017 рр. — 3,4 %.

Оцінка резистентності до трьох представників групи тетрациклінів (тетрациклін, доксициклін, хлортетрациклін) показала, що нечутливими були від 6,9 до 17,2 % досліджених культур сальмонели.

Аналіз резистентності до двох представників групи поліміксинів (поліміксин, фосфоміцин) засвідчив, що кількість нечутливої *Salmonella spp.* коливалась від 6,9 до 17,2 %.

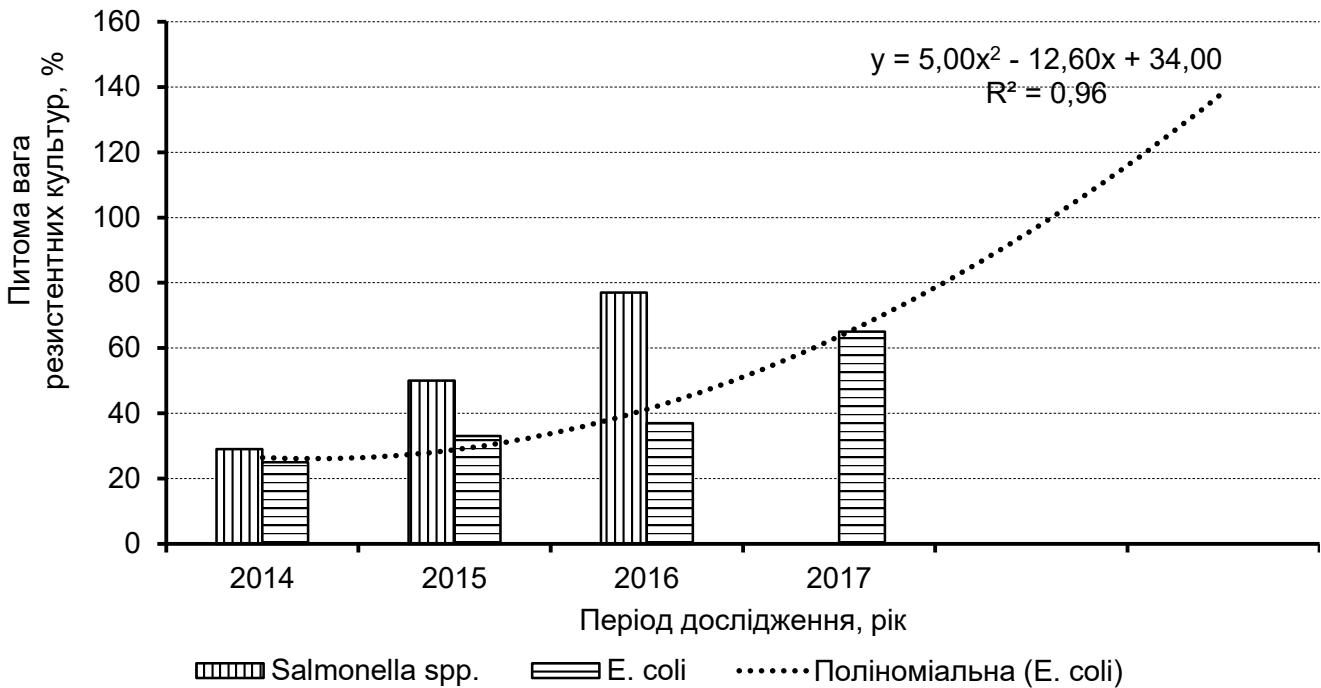
Стійкість досліджених культур *Salmonella spp.* до трьох представників аміноглікозидів (гентаміцин, стрептоміцин, канаміцин) реєструвалась у межах від 17,2 до 31,0 %.

Вивчення резистентності до чотирьох представників фторхінолонового ряду (норфлораксацин, офлораксацин, енрофлораксацин, флюмеквін) продемонструвало, що питома вага стійких культур *Salmonella spp.* варіювала від 3,4–44,8 %. Так, найбільш високі показники резистентності визначалися до норфлораксацину (44,8 %) і офлораксацину (24,1 %), які входять до рекомендованого переліку антибіотиків першого ряду для встановлення чутливості Enterobacteriaceae, виділених при кишкових інфекціях. Зважаючи, що *E. coli* — домінуючий представник у досліджуваному регіоні (56,7 %), були проаналізовані дані та встановлено, що відсоток її резистентних культур до норфлораксацину складав 37,9 %.

Враховуючи високий рівень резистентності до норфлораксацину серед домінуючих у Дніпропетровській області збудників родини Enterobacteriaceae було проведено її прогнозування у MS Excel у графічному вигляді за допомогою додавання лінії тренду (рис.). Під час вибору залежностей враховували величину достовірності (R), шляхом їх порівняння. Графічне відображення прогнозу проводили на один період вперед.

**Обговорення.** Переважання культур збудника *Salmonella spp.*, виділених від птиці, пояснює сучасну епідеміологічну особливість виникнення позалікарняного сальмонельозу, а саме збільшення числа харчових спалахів, що пов'язані насамперед із вживанням птахопродуктів [5].

Оскільки при генералізованих інфекціях, спричинених мікроорганізмами роду *Salmonella* (виділення збудника зі стерильних локусів), у дослідження рекомендовано включати цефалоспорини III покоління [4], у процесі роботи було проведено порівняння рівня резистентності *Salmonella spp.* до цефтріаксону з даними по Україні за 2006–2012 рр. [6] і встановлено збереження його низького рівня (13,8 %). Також, аналіз показників по країні за 2006–2012 рр. свідчить про збільшення питомої ваги резистентних *Salmonella spp.* до тетрацикліну на 15,6 %.



**Рис.** Прогнозування розповсюдження культур Enterobacteriaceae, резистентних до норфлораксацину.

Окрім того, зіставлення власних результатів із даними по Україні за 1996–2012 рр. показало формування тенденції до збільшення питомої ваги резистентних *Salmonella* spp. до поліміксину на 17,2 %, оскільки у попередні роки згідно з повідомленнями В. О. Бубало [6] спостерігали 100 % чутливість штамів. Порівняльний аналіз із показниками за 2006–2012 рр. свідчить про збільшення питомої ваги резистентних культур сальмонели до гентаміцину на 31 %, стрептоміцину на 15,7 % та до канаміцину на 14,0 %.

Таким чином, як видно з наведених даних, збільшення антибіотикорезистентності у патогенної *Salmonella* spp. спостерігали до β-лактамних антибіотиків (цефазолін, цефтріаксон), до аміноглікозидів (гентаміцин, стрептоміцин, канаміцин), а також до тетрацикліну та поліміксину. Особливе занепокоєння викликає зростання стійкості до хінолонів і цефалоспоринів, бо ці групи протимікробних препаратів входять до складеного ВОЗ списку антибіотиків, критично важливих для медицини [7].

Запропонована можливість використання рівняння лінійного тренду для опису довготривалої тенденції зміни резистентності також відображена і в роботах закордонних авторів [8].

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** 1. У процесі роботи доведено, що Дніпропетровська область є географічною зоною зі стабільно високим рівнем (86 ± 3,7 %) висівання грам-негативних мікроорганізмів серед бактерій, виділених від різних груп тварин.

2. Встановлено, що домінуючими збудниками в досліджуваному регіоні були представники родини Enterobacteriaceae (*E. coli*, *Salmonella* spp.), дані щодо яких можна використовувати в якості сурогатних маркерів резистентності.

3. Визначені епізоотологічні закономірності сальмонельозу тварин, а саме: провідна роль птиці, як джерела інфекції для птахопоголів'я (*S. Gallinarum-Pullorum*, *S. Enteritidis*) і людей (*S. Enteritidis*); домінування полірезистентних культур *Salmonella* spp. (93,1 %) та їх високий рівень резистентності до норфлораксацину (44,8 %).

4. Показана можливість прогнозування розповсюдження антибіотикорезистентних штамів у MS Excel у графічному вигляді за допомогою додавання лінії тренду, шляхом використання кількісної інформації щодо чутливості бактерій.

5. Перспективами подальших досліджень є попередження та контроль виникнення стійкості до антибактеріальних препаратів у ветеринарній медицині та сільському господарстві регіону й країни в цілому.

### Список літератури

1. Глебова, Е. В. Изучение антибиотикорезистентности сальмонелл, выделенных от сельскохозяйственной птицы [Электронный ресурс] / Е. В. Глебова, О. В. Майборода // Актуал. вопр. вет. биологии. — 2014. — № 2 (22). — С. 40–43. — Режим доступа : <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21607393>.
2. Сальмонеллез [Электронный ресурс]: справочник // Библиотека «Здоровье Украины». — Режим доступа : <http://www.dovidnyk.org/dir/27/156/1672.html>.
3. European Food Safety Authority. The Community Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic agents from animals and food in the European Union in 2004–2007 [Electronic resource] // EFSA Journal. — 2010. — Vol. 8, iss. 4. — P. 1309–1615. — Access mode : <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1309>.
4. Методичні вказівки щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів [Текст] / Т. О. Гаркавенко [та ін.]. — Київ : Держ. наук.-досл. ін-т з лаб. діагностики та вет.-сан. експертизи, 2014. — 78 с.
5. Куликовский, А. Сальмонеллез: мониторинг необходим [Электронный ресурс] / А. Куликовский // Животноводство России. Спецвыпуск по птицеводству. — 2016. — № 1 — С. 63–64. — Режим доступа : <http://zsr.ru/zsr-2016-pt-025>.
6. Bubalo, V. O. Sensitivity to antibiotics among strains of *Salmonella* current, which circulates in the past 10 years in Ukraine / V. O. Bubalo // The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series : Medicine. — 2013. — No. 26(1090). — P. 9–16. — Access mode : [http://nbuv.gov.ua/UJRN/VKhM\\_2013\\_1090\\_26\\_4](http://nbuv.gov.ua/UJRN/VKhM_2013_1090_26_4).
7. ВОЗ. Борьба с устойчивостью к антибиотикам с позиций безопасности пищевых продуктов в Европе [Электронный ресурс]. — Копенгаген, 2011. — Режим доступа : <http://www.euro.who.int/ru/publications/abstracts/tackling-antibiotic-resistance-from-a-food-safety-perspective-in-europe>.
8. Каркач, А. С. Прогнозирование распространения резистентных штаммов гонореи [Электронный ресурс] / А. С. Каркач, К. К. Авилов // XII Всероссийское совещание по проблемам управления ВСПУ-2014 (Москва, 16–19 июня 2014 г.) : труды. — Москва, 2014. — С. 6722–6731. — Режим доступа: <http://vspu2014.ipu.ru/proceedings/prcdngs/6722.pdf>.

### ANALYSIS AND FORECASTS OF *SALMONELLA* SPP. ANTIBIOTIC RESISTANCE IN DNIPROPETROVSK REGION (UKRAINE)

**Martynenko H. A.**

*Dnipro Veterinary Medicine Experimental-Innovative Group of the National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Dnipro, Ukraine*

*The paper presents data of the research aimed at studying the species composition of major pathogens circulating in the region and the resistance to antibacterial drugs in pathogens of salmonella, one of the most common zoonoses. Within the period 2014–2018 the qualitative composition of microflora from biological and pathological materials from different groups of animals was studied in Dnipropetrovsk region. Own research results and the results of the regional veterinary statistical reporting were analyzed. Within the short period of five years, 237 cultures of Gram-negative bacteria were detected and studied. The dominant agent in the studied region was *E. coli* (56.7%) from the Enterobacteriaceae family. The second most frequent agent in the pathology was *Salmonella* spp. (10.5%). In total, 29 cultures of salmonella infection were isolated from six species of animals with a predominance of bird isolates. Thus, for different age groups of poultry the most common were *S. Gallinarum-Pullorum* (56%) and *S. Enteritidis* (32%). An antibiotic resistance increase in pathogenic salmonella was observed for  $\beta$ -lactam antibiotics (cefazolin, ceftriaxone), aminoglycosides (gentamicin, streptomycin, kanamycin), as well as for tetracycline and polymyxin. Taking into consideration the high level of resistance against norfloxacin in the region's dominant pathogens of the Enterobacteriaceae family, we performed a forecast in MS Excel graphically and added a trend line. In the course of work it was proved that the Dnipropetrovsk region is a geographic zone with a stable high ( $86 \pm 3.7\%$ ) allocation from different groups of animals of Gram-negative microorganisms. It was found that local dominant pathogens are representatives of the Enterobacteriaceae family (*E. coli*, *Salmonella* spp.). This data can be used as surrogate resistance markers. The epizootological patterns of animal salmonellosis are determined. It is shown the possibility of forecasting the distribution of antibiotic resistant strains in MS Excel in graphical form by adding a trend line, using quantitative information on the sensitivity of bacteria. Prospects for further research are the prevention and control of the emergence of resistance to antibiotics in veterinary medicine and agriculture in the region and in the country*

**Keywords:** antibiotic resistance, *Salmonella* spp., animals, forecasts

## ДЕТЕКЦІЯ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ ЦИРКОВІРУСУ СВИНЕЙ II ТИПУ МЕТОДОМ ПЕТЛЕВОЇ ІЗОТЕРМАЛЬНОЇ АМПЛІФІКАЦІЇ (LAMP)

**Рудова Н. Г., Солодянкін О. С., Герілович А. П.**

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [rudovanatawa@ukr.net](mailto:rudovanatawa@ukr.net)*

*Для детекції ЦВС-II розроблено достатню кількість молекулярно-генетичних на основі класичної ПЛР та ПЛР у реальному часі. Проте, ці методи потребують використання дорогого обладнання, теплових циклів для ампліфікації та чималої кількості часу для виконання дослідження. Метою нашої роботи було розробити альтернативний метод детекції ЦВС-II на основі ізотермальної ампліфікації, який характеризується високою швидкістю та економічністю аналізу. Нами було розроблено систему праймерів на основі таргетної послідовності гену *sar* для детекції цирковірусу свиней II типу та проведено оптимізацію протоколу ампліфікації. Ампліфікація відбувалась протягом 60 хвилин на водяній бані, а результат можна було спостерігати в УФ-світлі з використанням транслюмінатора шляхом додавання барвника SYBR green I до реакційної суміші. Розроблена нами система праймерів для детекції генетичного матеріалу ЦВС-II методом петлевої ізотермальної ампліфікації (LAMP) показала високу чутливість та специфічність. Метод LAMP, заснований на використанні системи праймерів, розробленої з урахуванням молекулярно-генетичних особливостей ЦВС, може суттєво доповнити, розширити спектр існуючих методик молекулярно-генетичного скринінгу ЦВС-II*

**Ключові слова:** ЦВС-II, петлева ізотермальна ампліфікація, система праймерів

Цирковірусна інфекція свиней за останні 30 років (з 1991 р.) значно поширилась у всьому світі. Результати епізоотологічних досліджень, проведених у різних країнах світу, свідчать про широке розповсюдження цирковірусу серед свинопоголів'я [1].

Імуносупресуюча активність цирковірусу свиней II типу (ЦВС-II) робить організм тварин більш сприятливим до інших патогенів [2].

У даний час для детекції ЦВС-II широко використовують молекулярно-генетичні методи — класичну ПЛР та ПЛР у реальному часі. Проте, ці методи мають деякі обмеження, а саме: використання теплових циклів для ампліфікації (30–40 циклів), використання дорогого обладнання та брак часу в умовах необхідності швидкої постановки діагнозу [3].

Відсутність достатнього фінансування обмежує впровадження сучасних методів аналізу в українських діагностичних лабораторіях, що, у свою чергу, спонукає до пошуку інших альтернативних методів, які характеризуються високою швидкістю та економічністю аналізу. Альтернативним методом діагностики інфекційних захворювань тварин є петлева ізотермічна ампліфікація (LAMP).

Метод LAMP уперше був розроблений у 1998 р. співробітниками компанії Eiken Chemical Company (Японія). Цей метод характеризується використанням чотирьох-шести спеціально підібраних праймерів, розроблених для розпізнавання від шести до восьми ділянок цільового гена, а ампліфікація протікає при постійній температурі з використанням ДНК-полімерази з активністю витіснення ланцюга. Це забезпечує високу ефективність та специфічність ампліфікації, а ДНК ампліфікується за 15–60 хвилин у залежності від кількості пар праймерів, що використовуються у реакції [4, 5].

При цьому, у ході реакції LAMP утворюється велика кількість побічного продукту — пірофосфату магнію, що призводить до появи білого осаду в реакційній суміші. Оскільки збільшення помутніння реакційної суміші корелює з кількістю синтезованої ДНК, це робить можливим візуалізацію напрацювання ПЛР-продукту навіть у реальному часі шляхом вимірювання каламутності реакційної суміші [4].

Типовою картиною результатів електрофоретичного аналізу ПЛР-продукту є утворення «сходинок», оскільки під час реакції за методом LAMP формуються амплікони різного розміру, що складаються з почергових інвертованих повторів послідовності-мішені на тому ж ланцюзі. [4, 5].

У світовій практиці метод петлевої ізотермічної ампліфікації застосовувався дослідниками для ідентифікації та диференціації різних патогенних мікроорганізмів, зокрема, *Mycobacterium tuberculosis*, *Nocardia* spp., *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* та ряду інших бактерій, а також збудників вірусних захворювань людини та тварин [3].

Китайськими науковцями були розроблені системи праймерів для детекції методом LAMP генетичного матеріалу цирковірусів свиней II типу, які циркулюють переважно на території Китаю [6, 7].

Але, зважаючи на високу мінливість ЦВС-II та варіабельність його генотипів, що циркулюють у різних регіонах світу [8], не існує універсального методу детекції генетичного матеріалу цього збудника. Тому, важливим для розробки простого і, водночас, достатньо чутливого методу діагностики цирковірусу свиней II типу на основі петлевої ізотермальної ампліфікації, адаптованого до місцевих умов, є урахування цих факторів.

**Мета досліджень.** Метою наших досліджень була розробка системи праймерів для детекції генетичного матеріалу ЦВС-II методом LAMP на основі даних молекулярно-генетичної структури вірусів, ізольованих на території східної Європи.

**Матеріали і методи.** Для відпрацювання методики були використані зразки клінічного матеріалу від свиней — клінічно здорових і позитивних щодо наявності генетичного матеріалу ЦВС-II, а також розплодки штамів інших вірусів в якості гетерологічних зразків.

Екстракцію нуклеїнових кислот з досліджуваних зразків здійснювали за методом афінної сорбції. Для проведення ПЛР у звичайному форматі використовували базові набори «Maxima Hot Start Green PCR Master Mix» виробництва фірми Thermo Scientific (Литва) та систему праймерів PCV2\_F/R з використанням температури відпалу відповідно до затвердженої методики [9].

Обрання таргетних генів для розробки праймерних систем здійснювали за аналізом послідовностей з різних географічних зон, наявних у базах даних GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

Розробку системи праймерів виконували за допомогою інтернет-сервісу PrimerExplorer (V.3) у режимі онлайн. Дослідження теоретичної якості розроблених праймерів виконували з використанням алгоритму BLAST [10].

Реакцію петлевої ізотермальної ампліфікації проводили за допомогою реагентів виробництва фірми Thermo Fisher Scientific (Німеччина) і BioLabs (Великобританія) у відповідності до рекомендацій виробників цих наборів.

Електрофоретичний аналіз продуктів ампліфікації проводили в 1,5 %-му агарозному гелі, забарвленому бромистим етидієм, за напруги електричного поля  $U=120$  В протягом 45 хв. Подальшу візуалізацію здійснювали в УФ-світлі з використанням трансільюмінатора. Також для візуалізації флуоресценції з метою контролю напрацювання ДНК використовували барвник SYBR green I у концентрації 1 X, який додавали безпосередньо до пробірок, які потім вносили до трансільюмінатора.

**Результати досліджень.** З метою розробки системи праймерів для детекції цирковірусу свиней II типу методом петлевої ізотермальної ампліфікації необхідно було обрати таргетний ген та провести його біоінформатичний аналіз.

Дані літературних джерел та результати досліджень, проведених науковцями закордонних країн, вказують на те, що геном цирковірусу свиней II типу містить лише два гени, які кодуєть первинну структуру реплікативного протеїну (*rep*-ген) і капсидного протеїну (ген *cap*). Решта генетичного матеріалу вірусу являє собою некодуючі області, котрі фланкують означені гени [11].

Аналіз літературних джерел показав, що для розробки праймерних систем для методу LAMP науковці використовують секвеновану послідовність вірусу, актуального для даної місцевості [12].

Зважаючи на це, було проведено філогенетичний аналіз ізолятів цирковірусів свиней II типу на основі раніше секвенованих послідовностей гену *rep* ЦВС-II [13]. За результатами біоінформатичного аналізу з використанням алгоритму BLAST були вибрані послідовності вірусів ЦВС-II, ізольованих на території східної Європи, найбільш ідентичні гену *rep* (421 п. н.). Найбільш придатною для розробки системи праймерів, на нашу думку, виявилась послідовність капсидного протеїну цирковірусу свиней II типу, виділеного у Словаччині (KP768467.1 штам 2333-SE).

На основі цієї таргетної послідовності при користуванні опцією програмного забезпечення PrimerExplorer 3 у режимі on-line (<http://primerexplorer.jp/e/>) було сконструйовано 36 систем праймерів. Обрання праймерів з числа запропонованих програмою здійснювали з урахуванням

ключових факторів, здатних впливати на якість реакції: Т<sub>m</sub>, стабільність кінців кожного з праймерів, вміст GC та здатність до утворення вторинних структур.

За результатами біоінформатичної розробки було обрано пари праймерів, які теоретично задовольняли усі вимоги до їх якості. Перевірка теоретичної якості розробленої нами системи праймерів з використанням алгоритму BLAST встановила, що обрані олігонуклеотидні послідовності комплементарні та теоретично можуть гібридизуватись з 132 секвенованими послідовностями ізолятів ЦВС-II, виділених у різних країнах світу. Ідентичність олігонуклеотидних послідовностей до матриці складала 100 %. Отже, розроблена система праймерів за результатами теоретичних біоінформатичних методів дослідження відповідала всім необхідним вимогам (табл.).

**Таблиця — Система праймерів для детекції ЦВС-II методом LAMP**

Назва праймера	Позиція в геномі	Нуклеотидна послідовність (5'→3')
PCV-F3	267–290	CTCTATACCCTTTGAATACTACAG
PCV-B3	458–475	GGGAGTGGTAGGAGAAGG
PCV-FIP	348–367, 306–323	TAGCACTGGATCCAACTCCC-GGTTGAATTCTGGCCCTG
PCV-BIP	378–402, 432–449	TGACAACCTTTGTAATAAAGGCCACA-ATTGTATGGCGGGAGGAG

З метою апробації розробленої системи праймерів використовували зразки ДНК від свиней, які за результатами попереднього дослідження виявилися позитивними щодо наявності генетичного матеріалу ЦВС-II.

LAMP проводили на водяній бані та з використанням програмованого ампліфікатора (Biometra, Німеччина). Посилаючись на результати досліджень розробників методу та закордонних науковців [4–7], нами були оптимізовані концентрації компонентів реакційної суміші в загальному обсязі реакції 25 мкл: зовнішніх і внутрішніх праймерів, дезоксинуклеозидів, MgSO<sub>4</sub>, Bst-полімерази та води. Реакційну суміш інкубували при 55–65 °C протягом 60 хв, а потім нагрівали при 80 °C протягом 5 хв для припинення реакції (за використання ампліфікатору), або не нагрівали (за використання водяної бані).

Напрацювання ПЛР-продукту методом LAMP можна було отримати при температурах у діапазоні 58–63 °C протягом 60 хв. Для подальших досліджень нами було обрано показник температури 58 °C.

Після ампліфікації при проведенні електрофоретичного аналізу ПЛР-продуктів в агарозному гелі було встановлено наявність специфічних смуг у вигляді шлейфів і «сходинок» у зразках, позитивних щодо наявності генетичного матеріалу ЦВС-II. У зразку, що містив бідистильовану воду в якості негативного контролю, ПЛР-продукт не утворювався (рис. 1).

Ті ж самі зразки після додавання барвника SYBR green I до реакційної суміші були опромінені в ультрафіолетовому світлі на транслюмінаторі. Зразки, позитивні щодо наявності ДНК ЦВС-II, в залежності від обраного кольорового фільтру давали флюоресценцію на відміну від негативного контролю ампліфікації (рис. 2).

За даними дослідників, можливий випад осадку та помутніння реакційної суміші, що видно неозброєним оком, але у нашій роботі ми не спостерігали цього явища.

Для оцінювання чутливості розроблених праймерів вивчали можливість виявлення різної кількості специфічної ДНК. Для цього проводили розведення зразку ДНК ЦВС-II (зразок № 8, рис. 1) водою, очищеною від нуклеаз, у співвідношенні: 1:10, 1:100, 1:1 000, 1:10 000, 1:100 000, 1:1 000 000.

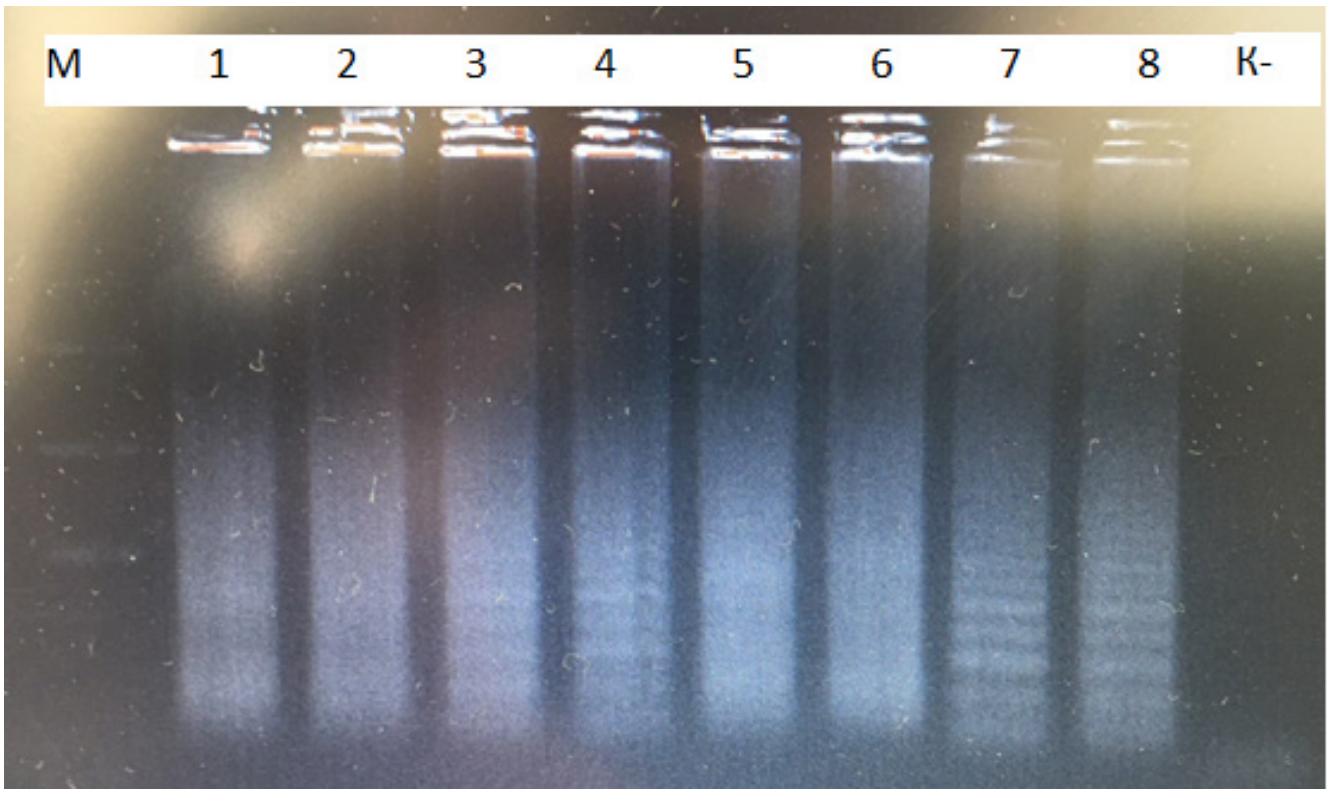
За результатами електрофоретичного аналізу було встановлено, що розроблені нами праймери були здатні виявляти навіть незначну кількість ДНК ЦВС-II (при розведенні 1:1 000 000), що говорить про високу чутливість методики (рис. 3).

З метою визначення специфічності розроблених нами праймерів була сформована панель гетерологічних зразків ДНК. Для цього використовували ДНК, виділену зі зразків вірусу хвороби Ауескі (шт. «Барта»), парвовірусу свиней (шт. «К-5»), зразку культури РК-15 та крові клінічно здорової свині. Для контролю використовували зразок ДНК ЦВС-II.

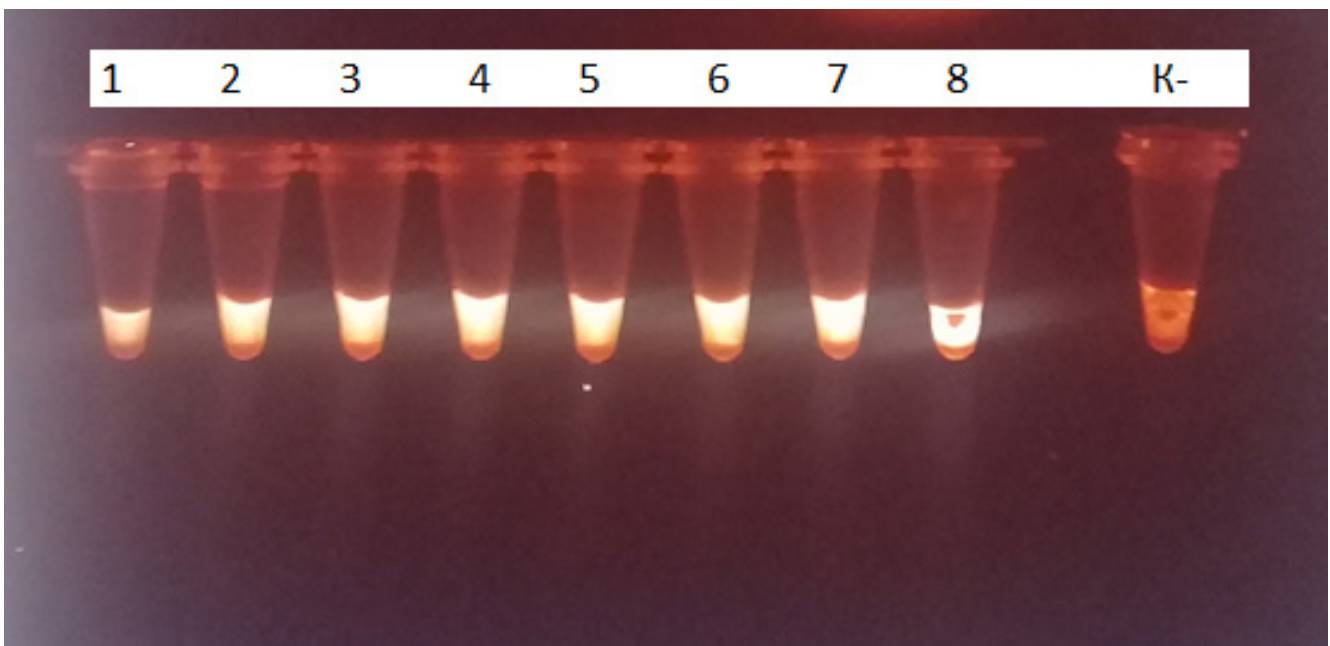
За результатами цих досліджень встановлено, що у зразку, позитивному щодо наявності генетичного матеріалу ЦВС-II, спостерігалось утворення специфічного ПЛР-продукту, тоді як у



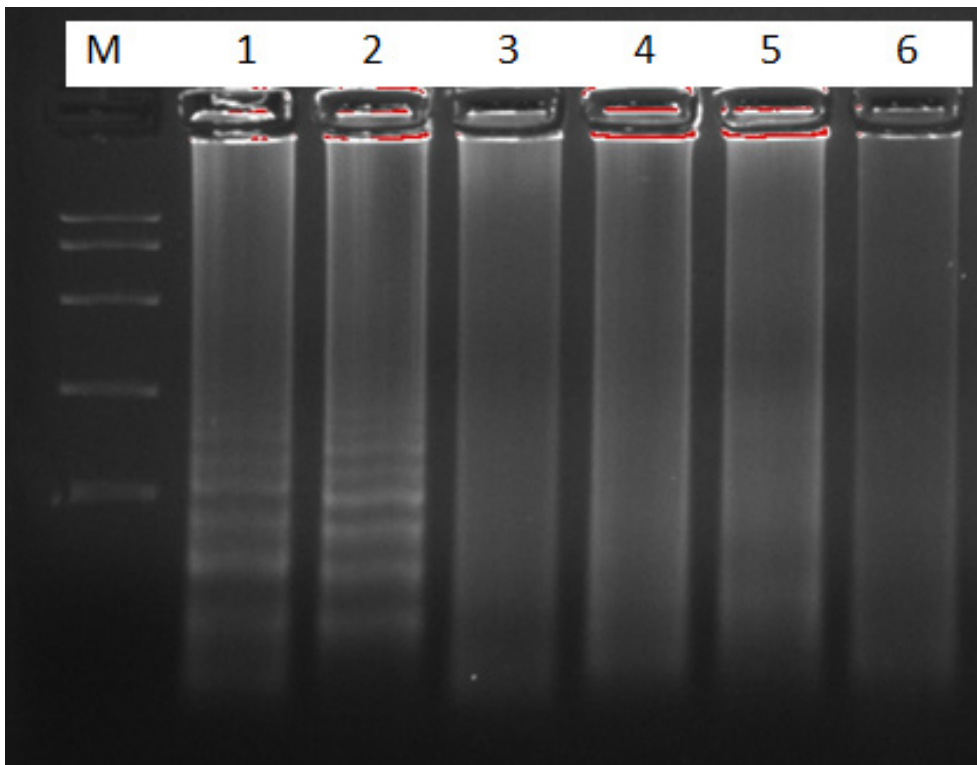
зразках гетерологічних матриць ПЛР-продукт не утворювався. Була встановлена відсутність перехресної реакції системи праймерів із генетичним матеріалом цирковірусу свиней I типу (ЦВС-I), вірусу хвороби Ауескі, парвовірусу свиней (ПВС), а також з генетичним матеріалом організму хазяїна за тих самих умов реакції (рис. 4).



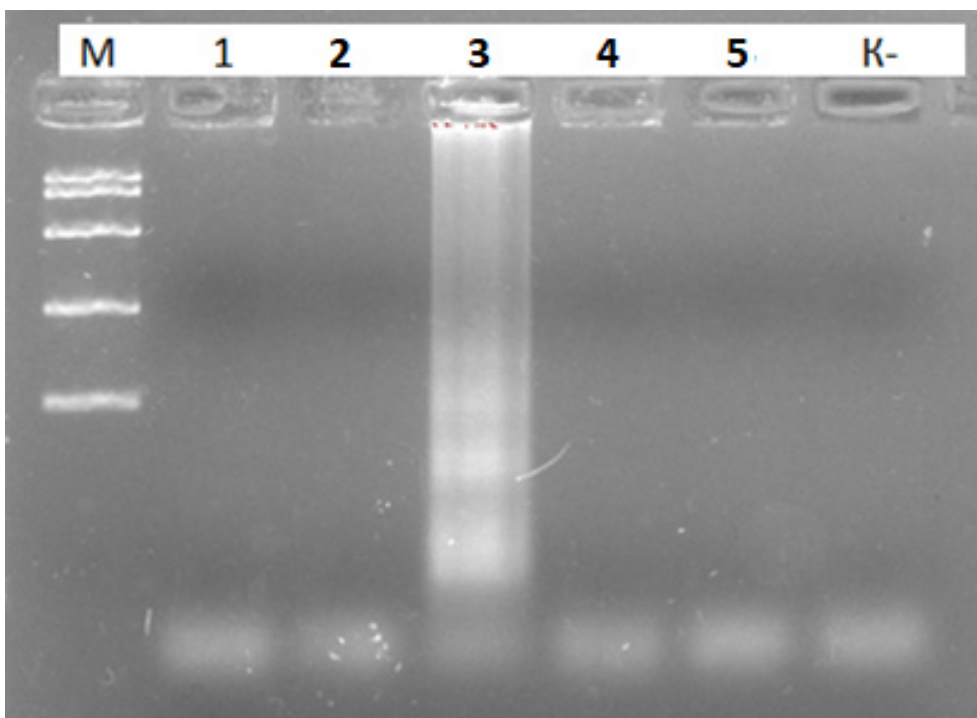
**Рис. 1.** Результати електрофоретичного аналізу в 1,5 %-му агарозному гелі (типова картина електрофорезу ампліфікованого продукту): М — маркер молекулярної маси; 1–8 — досліджувані зразки; К<sup>-</sup> — негативний контроль.



**Рис. 2.** Візуалізація результатів LAMP за допомогою УФ-опромінювання та після додавання барвника SYBR green до реакційної суміші: 1–8 — досліджувані зразки; К<sup>-</sup> — негативний контроль.



**Рис. 3.** Результати електрофоретичного аналізу чутливості розробленої системи праймерів в 1,5 %-му агарозному гелі: М — маркер молекулярної маси; 1–6 — досліджуваний зразок у розведеннях: 1 — 1:10, 2 — 1:100, 3 — 1:1 000; 4 — 1:10 000; 5 — 1:100 000; 6 — 1:1 000 000.



**Рис. 4.** Результати електрофоретичного аналізу в 1,5 %-му агарозному гелі: М — маркер молекулярної маси; 1–5 — досліджувані зразки: 1 — зразок РК-15 (ЦВС-I); 2 — зразок ДНК із крові клінічно здорової свині; 3 — зразок ЦВС-II; 4 — ДНК вірусу хвороби Ауескі; 5 — ДНК парвовірусу свиней; К<sup>-</sup> — негативний контроль.

Відсутність гібридизації системи праймерів з матрицею, виділеної від інтактною свині або інших вірусів свідчить про специфічність розробленої системи праймерів.

**Висновки.** Розроблена система праймерів для детекції генетичного матеріалу ЦВС-II методом петлевої ізотермальної ампліфікації (LAMP) показала високу чутливість та специфічність. Ампліфікація відбувалась протягом 60 хвилин на водяній бані, а результат можна було спостерігати в УФ-світлі з використанням транслюмінатора шляхом додавання барвника SYBR green I до реакційної суміші. Метод виявлення ДНК ЦВС-II з використанням LAMP є менш трудомістким у порівнянні з класичною ПЛР і доступним для відтворення у діагностичних лабораторіях в умовах відсутності спеціального обладнання (ампліфікаторів) або приладів для проведення електрофорезу.

**Перспективи подальшого використання отриманих результатів.** Метод LAMP, заснований на використанні системи праймерів, розробленої з урахуванням молекулярно-генетичних особливостей ЦВС, може суттєво доповнити і розширити спектр існуючих методик молекулярно-генетичного скринінгу ЦВС-II та може бути використаний як додатковий інструмент діагностики та ефективного контролю цирковірусної інфекції свиней.

### Список літератури

1. Неволько О. М., Ситюк М. П.. Результати серологічних моніторингових досліджень щодо цирковірусної інфекції серед свійських свиней на території України за період 2010–2012 рр. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2013. Вип. 12. С. 40–45.
2. Segales J. [et al.]. Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. *Veterinary Microbiology*. 2004. Vol. 98, No. 2. P. 151–158.
3. Keikha M. LAMP method as one of the best candidates for replacing with PCR method. *Malaysian Journal of Medical Sciences*. 2018. Vol. 25, No. 1. P. 121–123.
4. Notomi T. [et al.]. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*. 2000. Vol. 28, No. 12. P. e63.
5. Nagamine K., Hase T., Notomi T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. *Molecular and Cellular Probes*. 2002. Vol. 16, No. 3. P. 223–229.
6. Chen H. [et al.]. Rapid detection of porcine circovirus type 2 by loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Virological Methods*. 2008. Vol. 149, No. 2. P. 264–268.
7. Zhou S. [et al.]. Loop-mediated isothermal amplification for detection of porcine circovirus type 2. *Virology Journal*. 2011. Vol. 8, No. 1. P. 497.
8. Franzo G., Segalés J. Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology. *PLoS one*. 2018. Vol. 13, No. 12. P. e 0208585.
9. Стегній Б. Т. [та ін.]. Полімеразна ланцюгова реакція у практиці ветеринарної медицини та біологічних дослідженнях : наук.-метод. посібник. Харків, 2010. 228 с.
10. Altschul S. F. [et al.]. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*. 1990. Vol. 215, No. 3. P. 403–410.
11. Ситюк М. П. [та ін.]. Цирковірусні інфекції. Київ: Аграрна наука, 2017. 128 с.
12. Parida M. [et al.]. Loop mediated isothermal amplification (LAMP): a new generation of innovative gene amplification technique; perspectives in clinical diagnosis of infectious diseases. *Reviews in Medical Virology*. 2008. Vol. 18, No. 6. P. 407–421.
13. Gerilovych A. P., Stegnyy B. T., Rudova N. G., Buzun A. I.. Study of the genetic variability of the porcine circovirus type 2 in Ukraine. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*. 2015. Vol. 1, No. 2. P. 25–31.

### DETECTION OF GENETIC MATERIAL OF PORCINE CIRCOVIRUS TYPE II BY LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP)

**Rudova N. G., Solodiankin O. S., Gerilovych A. P.**

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

*There is a sufficient number of molecular-genetic methods for the Porcine Circovirus type II (PCV-II) detection, based on conventional or real-time PCR. However, these methods require expensive equipment, heat cycles for amplification, and considerable time to perform the study. The aim of our work was to develop an alternative method of the PCV-II detection based on isothermal amplification (LAMP), which characterized by cost-effectiveness and short time of study performing. By this reaction a few copies of DNA to 10<sup>9</sup> molecules might be amplified in about one hour at a constant temperature which is suitable for the field conditions. We designed a set of primers using the target cap gene sequence with the further parameters optimizing of the amplification protocol. Amplification was performed for 60 minutes in a water bath, and the result was observed in UV light using a transilluminator by the adding SYBR green I to the reaction mixture. The elaborated set of primers for LAMP showed high sensitivity and specificity. The set of primers was designed to take into account the molecular genetic features of PCV, and it can significantly expand the range of existing molecular genetic screening techniques for PCV –II detection*

**Key words:** PCV-II, loop-mediated isothermal amplification, set of primers

## КОМІСІЙНІ ВИПРОБУВАННЯ ТЕСТ-СИСТЕМИ «НАБІР ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ ДО ВІРУСУ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ В РЕАКЦІЇ ЗАТРИМКИ ГЕМАГЛЮТИНАЦІЇ»

**Стегній Б. Т., Музика Д. В., Ткаченко С. В., Рула О. М.,  
Стегній А. Б., Колесник О. С., Вовк С. І.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної  
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [semen270181@gmail.com](mailto:semen270181@gmail.com)

**Напненко О. О.**

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

У статті наведена інформація щодо проведення раунду комісійних випробувань компонентів тест-системи «Набір для визначення антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби в реакції затримки гемаглютинації». При тестуванні зашифрованих антигену та сироваток з раніше охарактеризованими та референтними зразками вони виявилися активними та специфічними, що відповідає вимогам ТУУ на зазначений препарат. Так, позитивний антиген мав активність в реакції гемаглютинації 1:256, реагував лише з позитивною до вірусу ньюкаслської хвороби сироваткою та не затримував аглютинацію у присутності референтних до вірусу грипу підтипів H5 та H7 сироваток. У присутності позитивних сироваток до вірусу ньюкаслської хвороби у зашифрованому вигляді позитивний антиген відповідного вірусу затримував аглютинацію еритроцитів півня в розведеннях 1:256–1:512

**Ключові слова:** антиген, ньюкаслська хвороба, грип птиці, реакція затримки гемаглютинації, тест-система

Ньюкаслська хвороба або псевдочума — це висококонтагіозна вірусна хвороба птиці, яка характеризується ураженням органів дихання та травлення, а також порушеннями у роботі центральної нервової системи. З середини минулого століття це захворювання набуло широкого розповсюдження у багатьох європейських країнах. Ньюкаслська хвороба (НХ) поширена на всіх континентах і належить до особливо небезпечних.

Збудником НХ є РНК-вмісний вірус з роду *Avulavirus* родини Paramyxoviridae. Виявлені штами вірусу є імунологічно однорідними, однак їхня патогенність (здатність спричинити захворювання у чутливих організмів) значно відрізняється, що впливає на ступінь прояву хвороби та її епізоотологічні особливості. При першому занесенні збудника до господарства захворюваність може охоплювати до 100 % поголів'я та закінчуватися загибеллю до 60–90 % птиці.

У природних умовах НХ частіше за все реєструють у птиці з ряду курячих, тобто у курей, індичок, цесарок тощо. Однак у природі також реєструють випадки інфікування дикої птиці, наприклад голубів та горобців, які можуть переносити збудника захворювання на значні відстані та сприяти перезараженню домашніх птахів. За даними деяких дослідників [1–4], до хвороби також певною мірою чутлива водоплавна птиця, як домашня, так і дика. До того ж, птиця різних порід і віку має різну чутливість до вірусу. Так, молоді індичата більш чутливі до збудника, ніж дорослі індички. Це уможлиблює випадки контакту хворого молодняка зі здоровою дорослою птицею без її зараження. У літературі також зустрічається опис зараження вірусом НХ людини [5, 6]. Таке зараження може бути при нехтуванні правилами гігієни під час роботи на птахопідприємствах серед персоналу. Клінічними проявами хвороби у людей є кон'юнктивіти, лімфаденіти, генералізовані симптоми.

При діагностиці НХ застосовують комплексний підхід з урахуванням епізоотологічних даних, клінічних ознак і патологоанатомічних змін, а також результатів лабораторних досліджень із виділенням вірусу. Виділення вірусу проводять шляхом інфікування курячих ембріонів і дослідженням у реакції аглютинації (РГА) їх навколоплідної рідини, яку отримують після охолодження та розтину. Для серологічної ідентифікації виділеного ізоляту вірусу та визначення

наявності антитіл у сироватках крові та жовтках яєць використовують реакцію затримки гемаглютинації (РЗГА).

Диференціювати ньюкаслську хворобу необхідно від курячого грипу, інфекційного ларинготрахеїту та інфекційного бронхіту, а також пастерельозу й мікоплазмозу. Подібний прояв захворювання також характерний для ураження спірохетами. Серед незаразних причин слід розглядати можливі отруєння.

**Метою** цієї роботи було проведення комісійних випробувань тест-системи «Набір для визначення антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби в реакції затримки гемаглютинації» (серія № 1, контроль № 1, виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина», дата виготовлення 2 липня 2019 року, придатний до 2 липня 2021 року), за участі фахівців Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ) з метою реєстрації зазначеного препарату.

**Матеріали і методи.** Тест-система «Набір для визначення антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби в реакції затримки гемаглютинації» складається з наступних компонентів:

— антиген вірусу ньюкаслської хвороби, інактивований, ліофілізований, з активністю в РГА 1:512 (2 флакони);

— позитивний контроль з антитілами до вірусу ньюкаслської хвороби, ліофілізований, з активністю в РЗГА 1:512 (1 флакон);

— негативний контроль без антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби, ліофілізований (1 флакон);

— набір солей для виготовлення фосфатно-сольового буфера (натрій фосфорнокислий однозаміщений (1 флакон); натрій фосфорнокислий двоаміщений (1 флакон) і натрій хлористий (2 флакони);

— цитрат натрію — для виготовлення розчину для стабілізації еритроцитів півня (1 флакон).

Дослідження показників якості компонентів тест-системи проводили у відповідності до вимог нормативних документів на зазначений препарат, а саме: наявність вакууму у флаконах, які містять ліофілізовані компоненти тест-системи; активність антигену в РГА та специфічність, а також активність і специфічність позитивних контролів у РЗГА. Постановку реакцій гемаглютинації (РГА) і затримки гемаглютинації (РЗГА) проводили згідно з вимогами Міжнародного епізоотичного бюро (МЕБ) і згідно з листівкою-вкладкою до тест-системи по «стікаючій краплі». Також наголошено на тому, що отримані значення активності антигенів і сироваток можуть коливатися  $\pm 2 \log_2$  в різні сторони (згідно з вимогами МЕБ).

Зазначені дослідження проводили у відділі біотехнології та контролю вірусних препаратів ДНКІБШМ (м. Київ).

З метою проведення комісійних випробувань розробником препарату та фахівцями ДНКІБШМ надано наступні раніше охарактеризовані та референтні матеріали, які в зашифрованому вигляді використовували для проведення досліджень:

— антиген вірусу грипу А підтипу Н5 препарату «Тест-система для виявлення антитіл до вірусу грипу А підтипів Н5 та Н7 у реакції затримки гемаглютинації» серія № 3, контроль № 3, інактивований, ліофілізований з активністю в РГА 1:256;

— антиген вірусу грипу А підтипу Н7 препарату «Тест-система для виявлення антитіл до вірусу грипу А підтипів Н5 та Н7 у реакції затримки гемаглютинації» серія № 3, контроль № 3, інактивований, ліофілізований з активністю в РГА 1:256;

— антиген вірусу ньюкаслської хвороби, нативний, виробництва ДНКІБШМ з активністю в РГА 1:1 024;

— позитивний контроль з антитілами до вірусу грипу А підтипу Н5 препарату «Тест-система для виявлення антитіл до вірусу грипу А підтипів Н5 та Н7 у реакції затримки гемаглютинації» серія № 3, контроль № 3, ліофілізований, з активністю в РЗГА 1:256;

— позитивний контроль з антитілами до вірусу грипу А підтипу Н7 препарату «Тест-система для виявлення антитіл до вірусу грипу А підтипів Н5 та Н7 в реакції затримки гемаглютинації» серія № 3, контроль № 3, ліофілізований, з активністю в РЗГА 1:1 024;

— позитивна сироватка крові курей з антитілами до вірусу ньюкаслської хвороби, інактивована, ліофілізована, виробництва ДНКІБШМ, з активністю в РЗГА 1:128;

— екстракт жовтка яєць з антитілами до вірусу грипу підтипу Н5 (виробництва ННЦ «ІЕКВМ») з активністю в РЗГА 1:512;

— референтна сироватка крові до вірусу грипу А підтипу H5N3 виробництва Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Італія з активністю в РЗГА 1:1 024;

— референтна сироватка крові до вірусу грипу А підтипу H7N7 виробництва OIE Avian Influenza and Newcastle Disease Reference Laboratory, Велика Британія з активністю в РЗГА 1:1 024.

**Результати досліджень.** Згідно з наданою співробітниками ДНКІБШМ схемою досліджень, розробникам тест-системи надано 8 зашифрованих антигенів з номерами від 1 до 8. На першому етапі необхідно було визначити їх активність в РГА.

Отримані результати активності антигенів наведено в табл. 1.

**Таблиця 1** — Результати визначення активності антигенів у РГА

<b>Номер антигену</b>	<b>Активність в РГА</b>
антиген № 1	1:256
антиген № 2	1:128
антиген № 3	1:256
антиген № 4	1:1 024
антиген № 5	1:512
антиген № 6	1:128
антиген № 7	1:256
антиген № 8	1:128

Після цього з антигенів «1», «2», «3», «4», «7» та «8» необхідно було приготувати 4 гемаглютинуючі одиниці та дослідити з ними також зашифровані зразки (у залежності від вимог схеми дослідження — різну кількість). Результати РЗГА наведено в табл. 2–7.

**Таблиця 2** — Результати визначення специфічності антигену «1»

<b>№ зашифрованого зразка</b>	<b>Активність в РЗГА</b>
9	1:1 024
10	1:0
11	1:0
12	1:0
13	1:0
14	1:0
15	1:0
16	1:0
17	1:0
18	1:128
19	1:1 024
20	1:0

**Таблиця 3** — Результати визначення специфічності антигену «2»

<b>№ зашифрованого зразка</b>	<b>Активність в РЗГА</b>
9	1:0
10	1:1 024
11	1:0
12	1:0
13	1:0
14	1:0
15	1:512
16	1:128–1:256
17	1:0
18	1:512

## Розділ 2. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

Таблиця 4 — Результати визначення специфічності антигену «3»

№ зашифрованого зразка	Активність в РЗГА
9	1:0
10	1:0
11	1:256–1:512
12	1:128
13	1:0
14	1:0
18	1:0
19	1:0
20	1:256–1:512

Таблиця 5 — Результати визначення специфічності антигену «4»

№ зашифрованого зразка	Активність в РЗГА
9	1:0
10	1:0
11	1:256–1:512
12	1:256
13	1:0
14	1:0
18	1:0
20	1:256

Таблиця 6 — Результати визначення специфічності антигену «7»

№ зашифрованого зразка	Активність в РЗГА
9	1:0
10	1:1 024
11	1:0
12	1:0
13	1:0
14	1:0
15	1:256
16	н/д*
17	1:0
18	1:512
19	1:16
20	н/д*

Примітка: \* — через нестачу сироватки реакцію не проводили.

Таблиця 7 — Результати визначення специфічності антигену «8»

№ зашифрованого зразка	Активність в РЗГА
9	1:2 048
10	1:0
11	1:0
12	1:0
13	1:0
14	1:0
15	1:0
16	н/д*
17	1:256
18	1:2 048

Примітка: \* — через нестачу сироватки реакцію не проводили.



Після проведення зазначених досліджень зашифровані проби антигенів і сироваток були розшифровані (табл. 8–9).

**Таблиця 8** — Розшифровка антигенів після проведених досліджень

Номер антигену	Вид антигену після розшифрування
Антиген № 1	Антиген вірусу грипу підтипу Н7 (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина»)
Антиген № 2	Антиген вірусу грипу підтипу Н5 (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина») в розведенні 1:2
Антиген № 3	Антиген вірусу ньюкаслської хвороби (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина»)
Антиген № 4	Антиген вірусу ньюкаслської хвороби (виробництва ДНКІБШМ)
Антиген № 5	Антиген вірусу ньюкаслської хвороби (виробництва ДНКІБШМ) в розведенні 1:2
Антиген № 6	Антиген вірусу ньюкаслської хвороби (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина») в розведенні 1:2
Антиген № 7	Антиген вірусу грипу підтипу Н5 (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина»)
Антиген № 8	Антиген вірусу грипу підтипу Н7 (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина») в розведенні 1:2

**Таблиця 9** — Розшифровка контролів, які мали антитіла до вірусу НХ, та без них

Номер контролю	Вид контролю після розшифрування
Контроль № 9	Позитивний контроль з антитілами до вірусу грипу підтипу Н7 (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина»)
Контроль № 10	Позитивний контроль з антитілами до вірусу грипу підтипу Н5 (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина»)
Контроль № 11	Позитивний контроль з антитілами до вірусу ньюкаслської хвороби (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина»)
Контроль № 12	Позитивна сироватка до вірусу ньюкаслської хвороби (виробництва ДНКІБШМ)
Контроль № 13	Негативний контроль без антитіл до вірусу грипу (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина»)
Контроль № 14	Негативний контроль без антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина»)
Контроль № 15	Позитивний контроль з антитілами до вірусу грипу підтипу Н5 (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина») в розведенні 1:2
Контроль № 16	Референтна сироватка з антитілами до вірусу грипу підтипу Н5N3 (виробництва OIE, FAO and EU Reference Laboratory for Avian Influenza and Newcastle Disease, м. Вейбридж, Велика Британія) розведена 1:8 дистильованою водою, прогріта за температури 56 °С та оброблена вуглекислим газом
Контроль № 17	Референтна сироватка з антитілами до вірусу грипу підтипу Н7N7 (виробництва OIE, FAO and EU Reference Laboratory for Avian Influenza and Newcastle Disease, м. Вейбридж, Велика Британія) розведена 1:8 дистильованою водою, прогріта за температури 56 °С та оброблена вуглекислим газом
Контроль № 18	Суміш 1:1 позитивного контролю з антитілами до вірусу грипу підтипу Н5 та позитивного контролю з антитілами до вірусу грипу підтипу Н7 (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина»)
Контроль № 19	Екстракт жовтка яєць з антитілами до вірусу грипу підтипу Н5 (виробництва ННЦ «ІЕКВМ») в розведенні 1:10
Контроль № 20	Референтна сироватка до вірусу ньюкаслської хвороби (виробництва ДНКІБШМ) в розведенні 1:32

**Висновки.** За результатами проведених досліджень встановлено, що антиген вірусу ньюкаслської хвороби (виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина») високоактивний (активність в РГА складає 1:256) і специфічний (не реагує з позитивним контролем з антитілами до вірусу грипу підтипу Н5, позитивним контролем з антитілами до вірусу грипу підтипу Н7 і референтними сироватками до вірусу грипу підтипу Н5Н3 та Н7Н7. З позитивним контролем з антитілами до вірусу ньюкаслської хвороби реагує в розведенні 1:256–1:512. З референтною сироваткою до вірусу ньюкаслської хвороби затримує аглютинацію еритроцитів у розведенні 1:128).

Отримані результати дозволили винести позитивне рішення щодо реєстрації цього препарату на території України. На тест-систему отримане реєстраційне посвідчення та вона може використовуватися в наукових установах і лабораторіях ветеринарної медицини з метою контролювання епізоотичної ситуації щодо ньюкаслської хвороби.

### Список літератури

1. Особо опасные болезни животных : список группы А по классификации Международного эпизоотического бюро : справочник / И. А. Бакулов, В. М. Котляров, А. С. Донченко [и др.]. — 2-е изд., перераб. и доп. — Покров ; Новосибирск, 2002. — 184 с.
2. Бирман, Б. Я. Эпизоотическая ситуация в мировом и отечественном птицеводстве и задачи по обеспечению эпизоотического благополучия птицеводства Белоруссии / Б. Я. Бирман, И. В. Насонов // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. — 2005. — № 2. — С. 2–4.
3. Изра, В. Н. Проблемы респираторных заболеваний в современном птицеводстве / В. Н. Изра, А. В. Борисов, В. В. Борисов // 1-й международный ветеринарный конгресс по птицеводству : материалы конгресса. — Москва, 2005. — С. 14–22.
4. Старов, С. К. Современные принципы профилактики ньюкаслской болезни птиц / С. К. Старов // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных : материалы международной конференции, посвященной 45 летию ФГУ ВНИИЗЖ. — Москва, 2003. — С. 284–289.
5. Papageorgion, C. Pouvoir immunisant du virus de Newcastle B 1 parvoil Intramusculaire chez les ponssins / C. Papageorgion // Bull. Soc. Sci. Vet. Med. Compare Lyon. — 1965. — Vol. 67. — P. 173–174.
6. Alexander, D. E. The structural polypeptides of avian paramyxoviruses / D. E. Alexander, M. S. Collins // Arch. Virol. — 1981. — Vol. 67. — P. 309–323.

### COMMISSION TESTING OF THE TEST SYSTEM “A KIT FOR THE DETECTION OF ANTIBODIES TO NEWCASTLE DISEASE VIRUS IN HEMAGGLUTINATION INHIBITION TEST”

**Stegniy B. T., Muzyka D. V., Tkachenko S. V., Rula O. M., Stegnyy A. B., Kolesnyk O. S., Vovk S. I.**  
*National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine*

**Napnenko O. O.**

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

*Newcastle disease or pseudo-plague is a highly contagious viral bird disease, characterized by damage to the respiratory and digestive organs, as well as impaired central nervous system function. Since the middle of the last century, this disease has become widespread in many European countries. Newcastle disease is common in all continents and is especially dangerous. The article provides information on conducting a round of commission tests of the components of the test system “A Kit for Detection of Antibodies to Newcastle Disease Virus in Hemagglutination Inhibition Test”. When testing encrypted antigens and sera with previously characterized and referent samples, they were active and specific, meeting the requirements of the technical specifications of Ukraine for the specified drug. Thus, the positive antigen had activity in the hemagglutination test of 1:256, reacted only with positive to the Newcastle disease virus serum, and did not delay agglutination in the presence of referent to avian influenza virus subtypes H5 and H7 sera. In the presence of positive sera to the Newcastle disease virus in encrypted form, the positive antigen of the corresponding virus delayed the agglutination of the cock erythrocytes in dilutions 1:256–1:512. The results obtained allowed to make a positive decision on the registration of this preparation in the territory of Ukraine*

**Keywords:** antigen, Newcastle disease, avian influenza, hemagglutination inhibition test, test system

### 3. ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 619:616.98-078:578.828.11.083.33:636.22/.28

DOI 10.36016/VM-2019-105-6

#### ПОРІВНЯЛЬНА ДІАГНОСТИКА ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ МЕТОДОМ ІФА В ТЕСТ-СИСТЕМАХ РІЗНИХ КОНСТРУКЦІЙ

**Стегній Б. Т., Завгородній А. І., Горбатенко С. К.,  
Корнєйков О. М., Стегній М. Ю., Болотін В. І.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна e-mail: [admin@vet.kharkov.ua](mailto:admin@vet.kharkov.ua)

**Горлов Ю. І., Ганова Л. О., Чумак О. М., Співак М. Я.**  
ПрАТ «Науково-виробнича компанія «Діапроф-Мед», Київ, Україна

У роботі наведені результати порівняльного дослідження в імуноферментних тест-системах різних конструкцій сироваток крові ВРХ, які містять антитіла до BLV у різних концентраціях, а також негативних зразків, що попередньо перевірено в РІД і тест-системі «Bovine leukemia virus antibody test kit» (IDEXX). У тест-системі «DIA®-BLV-Ab» реакція проводиться в форматі непрямого ІФА, а в тест-системі «ID Screen® BLV Competition» — у конкурентному. Отримані дані показали, що обидва діагностичуми мають досить високу діагностичну спроможність і виявляють антитіла до BLV у різних концентраціях в усіх позитивних сироватках. При аналізі 34 сироваток крові ВРХ, в яких відсутність специфічних антитіл підтверджено кількома тестами, тест-система «ID Screen® BLV Competition» визначила 5 зразків з хибнопозитивним результатом

**Ключові слова:** BLV, діагностика, імуноферментні тест-системи

Лейкоз великої рогатої худоби — інфекційне хронічне захворювання, яке спричиняється вірусом BLV (bovine leukaemia virus) із сімейства Retroviridae, який уражає В-лімфоцити і завдає значних економічних збитків тваринництву [1]. Вірусна частка довжиною 80–100 нм складається із одностанцюгової РНК, нуклеопротеїну р12, капсидного білка р24, трансмембранного глікопротеїну гр30, глікопротеїну оболонки гр51 і декількох ферментів, включаючи зворотну транскриптазу [2]. Послідовність нуклеотидів BLV багато в чому схожа з Т-лімфотропними вірусами людини 1 та 2 (HTLV-1 і HTLV-2). У зв'язку з цим, з огляду на можливість подолання збудником лейкозу міжвидових бар'єрів, м'ясо та молоко інфікованих тварин є неповноцінними продуктами харчування, оскільки можуть бути небезпечними для людини [3].

Захворювання найчастіше протікає в субклінічній формі, у 30 % інфікованих тварин старше трьох років розвивається лімфоцитоз, рідше (0,1–10 %) — лімфосаркома [4]. Неможливо спростувати також генетичну схильність тварин до персистуючого лімфоцитозу та розвитку пухлини. Велика рогата худоба з пухлинами майже завжди гине раптово або через кілька тижнів чи місяців після появи клінічних симптомів [5].

Зараження BLV відбувається від інфікованих тварин через кров, контаміновану збудником, молоко, загальні годівниці та поїлки, під час отелення, від матері до плоду. Найбільш уразливими органами є черевна порожнина, серце, селезінка, кишечник, печінка, нирки, яєчники, легені та матка [6].

Наявність лейкозу обмежує міжнародну торгівлю, оскільки країни, які вільні від BLV, не закуповують інфікованих тварин і вимагають їх регулярного тестування на лейкоз [3].

В Україні з 1953 по 1965 роки спорадичні випадки лейкозу великої рогатої худоби виявляли тільки в деяких областях — Кіровоградській, Дніпропетровській, Херсонській, Черкаській. З 1970 року була відзначена тенденція до різкого поширення даного захворювання і на сьогодні інфікованих вірусом лейкозу тварин виявляють майже в усіх областях України [5]. Тому проведення заходів, спрямованих на зниження поширення вище зазначеної інфекції, стало актуальним завданням. У комплексі заходів з оздоровлення господарств від лейкозу великої

рогатої худоби провідне місце відводиться своєчасній і точній діагностиці [3,4]. Реакція імунодифузії в гелі (РІД), яка широко застосовувалася раніше, в Європі і США не використовується. Цей метод замінений імуноферментним аналізом, як більш чутливим і специфічним [2].

**Мета роботи.** Провести порівняльний аналіз позитивних і негативних на лейкоз сироваток крові великої рогатої худоби в імуноферментних тест-системах різних конструкцій.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проводилось на базі Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (м. Харків).

Для визначення антитіл до BLV використовували дві імуноферментні тест-системи.

Діагностикум «DIA®-BLV-Ab», виробництва ПрАТ «НВК Діапроф-Мед» (Україна), сконструйований у форматі твердофазного непрямого ІФА. При внесенні в лунки планшета досліджуваних зразків сироваток специфічні антитіла зв'язуються з рекомбінантними антигенами р24 і гр51, які входять до складу імуносорбенту, утворюючи комплекси антиген-антитіло. Імунні комплекси виявляються на другому етапі реакції пероксидазним кон'югатом на основі рекомбінантного білка G Streptococcus.

Тест-система «ID Screen® BLV Competition», виробництва IDvet (Франція) призначена тільки для виявлення антитіл гр51 до вірусу лейкозу ВРХ методом конкурентного твердофазного імуноферментного аналізу. Лунки планшета адсорбовані очищеним глікопротеїном гр51. При внесенні в лунки планшета досліджуваних сироваток крові, які містять антитіла до антигену гр51 BLV, утворюється комплекс антиген-антитіло, що маскує епітопи гр51. На другому етапі реакції після промивки імуносорбенту в лунки додають пероксидазний кон'югат на основі антитіл анти-гр51, який при відсутності в досліджуваному зразку специфічних антитіл зв'язується з антигеном гр51 у складі імуносорбенту.

В обох тест-системах в якості проявника використовують однокомпонентний ТМБ. Реакцію зупиняють розчином 0,5 М сірчаної кислоти і визначають оптичну густину (ОГ) у лунках у тест-системі «DIA®-BLV-Ab» при 450 нм/620 нм, у тест-системі «ID Screen® BLV Competition» при 450 нм.

У тест-системі «DIA®-BLV-Ab» для розрахунку граничного значення (ГЗ) до середньої величини трьох значень негативного контролю додають константний коефіцієнт 0,2. Результат аналізу вважається позитивним, якщо ОГ досліджуваного зразку більше ГЗ і негативним при ОГ менше ГЗ.

У тест-системі «ID Screen® BLV Competition» розраховують співвідношення ОГ досліджуваного зразка до середнього значення негативного контролю, яке помножують на 100 % (значення S/N%). Якщо значення  $S/N \leq 50$  %, то результат аналізу вважається позитивним, якщо значення  $S/N \geq 60$  % — негативним, якщо  $50 \% < S/N < 60$  % — сумнівним.

Для аналізу використовували:

- 15 сироваток крові ВРХ, які містять антитіла до BLV, що підтверджено в РІД та дослідженням у тест-системі «Bovine leukemia virus antibody test kit» (IDEXX);
- 10 сироваток крові ВРХ, які позитивні за результатами РІД;
- 10 сироваток крові ВРХ, які слабопозитивні в РІД;
- 10 сироваток крові ВРХ, які зі слабкою смужкою в РІД;
- 24 зразків сироваток крові ВРХ, які не містять антитіл до BLV за результатами РІД і в тест-системі «Bovine leukemia virus antibody test kit» (IDEXX);
- 10 сироваток крові ВРХ, які негативні на BLV за результатами РІД.

**Результати досліджень.** Дослідження показали, що при тестуванні 25 сироваток крові ВРХ, які позитивні в РІД, а 15 зразків підтверджені також на наявність антитіл до BLV в ІФА, у тест-системах «DIA®-BLV-Ab» і «ID Screen® BLV Competition», усі зразки визначені позитивними (табл. 1). У той же час при аналізі в обох тест-системах сироваток крові, які слабопозитивні в РІД та зі слабкою смужкою в даному тесті, результати не співпадали (табл. 2).

При дослідженні 10 зразків, які слабопозитивні в РІД, у тест-системі «DIA®-BLV-Ab» 8 сироваток визначені позитивними, а 2 зразки — негативними. Тест-система «DIA®-BLV-Ab» виявила антитіла до BLV у всіх сироватках. При аналізі 14 сироваток зі слабкою смужкою в РІД тест-система «DIA®-BLV-Ab» визначила 9 зразків позитивними, а 5 — негативними. У тест-системі «ID Screen® BLV Competition» специфічні антитіла виявлені в більшій кількості сироваток — в 11 зразках. При дослідженні 3 сироваток результат аналізу був негативним в обох тест-системах.

**Таблиця 1** — Результати порівняльного дослідження сироваток крові ВРХ, які містять антитіла до BLV, у різних імуноферментних тест-системах

№ зразка	Тест-система					
	DIA-BLV-Ab (непрямий ІФА)			ID Screen BLV Competition (конкурентний ІФА)		
	Результати ІФА					
	ОГ	ОГ/ГЗ*	оцінка результату	ОГ	SN%**	оцінка результату
Сироватки крові ВРХ, які містять антитіла до BLV, позитивні в РІД і тест-системі «Bovine leukemia virus antibody test kit»						
107	2,486	9,1	позитивний	0,060	7,2	позитивний
108	3,452	12,7	позитивний	0,059	7,0	позитивний
109	1,736	6,4	позитивний	0,063	7,5	позитивний
111	3,125	11,5	позитивний	0,059	7,0	позитивний
114	2,758	10,1	позитивний	0,053	6,3	позитивний
115	2,363	8,7	позитивний	0,059	7,0	позитивний
117	2,200	8,1	позитивний	0,069	8,2	позитивний
133	1,838	6,8	позитивний	0,111	13,2	позитивний
145	3,298	12,1	позитивний	0,065	7,7	позитивний
144	3,204	11,8	позитивний	0,063	7,5	позитивний
143	3,419	12,6	позитивний	0,048	5,7	позитивний
141	3,484	12,8	позитивний	0,055	6,6	позитивний
140	3,248	11,9	позитивний	0,052	6,2	позитивний
126	1,739	6,4	позитивний	0,063	7,5	позитивний
123	2,303	8,5	позитивний	0,066	7,9	позитивний
Сироватки крові ВРХ, які містять антитіла до BLV, позитивні в РІД						
1	0,916	3,4	позитивний	0,078	9,3	позитивний
2	0,987	3,6	позитивний	0,082	9,8	позитивний
3	1,479	5,4	позитивний	0,059	7,0	позитивний
4	1,454	5,3	позитивний	0,054	6,4	позитивний
5	1,961	7,2	позитивний	0,061	7,3	позитивний
6	0,342	1,3	позитивний	0,071	8,5	позитивний
7	0,504	1,9	позитивний	0,083	9,9	позитивний
8	2,903	10,7	позитивний	0,074	8,8	позитивний
9	2,294	8,4	позитивний	0,063	7,5	позитивний
10	0,685	2,5	позитивний	0,052	6,2	позитивний

Примітки: \* — результат аналізу в тест-системі більше 1,0 — позитивний, менше 1,0 — негативний; \*\* — результат аналізу в тест-системі менше 50 % — позитивний, більше 60 % — негативний, у межах 50 % — 60 % — сумнівний.

У табл. 3 наведені результати досліджень 34 сироваток крові ВРХ, які не містять антитіл до BLV. Усі 34 зразка негативні в РІД, а у 24 сироватках відсутність специфічних антитіл підтверджена також методом ІФА. При аналізі в тест-системі «DIA®-BLV-Ab» усі зразки визначені негативними. При дослідженні в тест-системі «ID Screen® BLV Competition» 19 зразків визначені негативними, а в 5 сироватках виявлені антитіла до BLV (хибнопозитивний результат).

**Висновки.** Таким чином, при порівняльному дослідженні в тест-системах зразків сироваток, які містять різні концентрації специфічних антитіл, зокрема, їх низький рівень, а також негативних зразків, встановлено, що обидва діагностикуми, незважаючи на різну конструкцію та принцип реакції, мають досить високу діагностичну спроможність. В усіх сироватках, що підтверджені позитивними в декількох тестах, в обох тест-системах виявлено антитіла до вірусу лейкозу. При цьому не можна не враховувати, що імуносорбент у тест-системі «ID Screen® BLV Competition» сенсibilізований тільки одним антигеном gp51 (оболонковим), а в тест-системі «DIA®-BLV-Ab» двома — gp51 і p24 (оболонковим і капсидним), використання якого на думку деяких авторів [7] необхідно при створенні ELISA тест-систем для діагностики BLV.

### Розділ 3. Епізоотологія та інфекційні хвороби

**Таблиця 2** — Результати порівняльного дослідження сироваток крові ВРХ, які за результатами РІД слабопозитивні та зі слабкою смужкою, у різних імуноферментних тест-системах

№ зразку	Тест-система					
	DIA-BLV-Ab (непрямий ІФА)			ID Screen BLV Competition (конкурентний ІФА)		
	Результати ІФА					
	ОГ	ОГ/ГЗ	оцінка результату	ОГ	SN%	оцінка результату
сироватки крові ВРХ, які слабопозитивні в РІД						
21	0,233	0,9	негативний	0,060	7,2	позитивний
22	0,683	2,5	позитивний	0,058	6,9	позитивний
23	0,485	1,8	позитивний	0,083	9,9	позитивний
24	0,852	3,1	позитивний	0,055	6,6	позитивний
25	0,290	1,1	позитивний	0,056	6,7	позитивний
26	0,813	3,0	позитивний	0,078	9,3	позитивний
27	0,150	0,6	негативний	0,077	9,2	позитивний
28	0,498	1,8	позитивний	0,052	6,2	позитивний
29	0,329	1,2	позитивний	0,057	6,8	позитивний
30	1,897	7,0	позитивний	0,057	6,8	позитивний
сироватки крові ВРХ, які зі слабкою смужкою в РІД						
31	0,207	0,8	негативний	0,064	7,6	позитивний
32	1,336	4,9	позитивний	0,075	8,9	позитивний
33	3,076	11,3	позитивний	0,060	7,2	позитивний
34	0,850	3,1	позитивний	0,062	7,4	позитивний
35	1,166	4,3	позитивний	0,073	8,7	позитивний
36	0,342	1,3	позитивний	0,076	9,1	позитивний
37	3,466	12,7	позитивний	0,066	7,9	позитивний
38	0,840	3,1	позитивний	0,071	8,5	позитивний
39	0,109	0,4	негативний	0,760	90,6	негативний
40	0,354	1,3	позитивний	0,071	8,5	позитивний
41	1,015	3,7	позитивний	0,095	11,3	позитивний
42	0,170	0,6	негативний	0,668	79,6	негативний
43	0,087	0,3	негативний	0,765	91,2	негативний
44	0,226	0,8	негативний	0,066	7,9	позитивний

Примітки: \* — результат аналізу в тест-системі більше 1,0 — позитивний, менше 1,0 — негативний;  
 \*\* — результат аналізу в тест-системі менше 50 % — позитивний, більше 60 % — негативний, у межах 50 % — 60 % — сумнівний.

**Таблиця 3** — Результати дослідження сироваток крові ВРХ, які не містять антитіл до BLV, у різних імуноферментних тест-системах

Сироватки крові ВРХ	Кількість зразків	Тест-системи			
		DIA-BLV-Ab (непрямий ІФА)		ID Screen BLV Competition (конкурентний ІФА)	
		кількість негативних результатів	кількість позитивних результатів	кількість негативних результатів	кількість позитивних результатів
Негативні в РІД і в тест-системі «Bovine leukemia virus antibody test kit»	24	24	0	19	5
Негативні в РІД	10	10	0	10	0
Усього:	34	34	0	29	5

Отримані дані показали, що тест-система «ID Screen® BLV Competition» при аналізі 34 сироваток, в яких відсутність специфічних антитіл підтверджено кількома тестами, визначила 5 зразків з хибнопозитивним результатом.

### Список літератури

1. Косовский Г. Ю., Глазко В. И., Андрейченко И. А., Ковальчук С. Н., Глазко Т. Т. Инфекционная опасность носителей вируса бычьего лейкоза и её оценка в связи с лейкоцитозом. *Сельскохозяйственная биология*. 2016. Т. 51, № 4. С. 475–482.
2. Зубова Т. В., Плешков В. А., Миронов А. Н. Современные методы и опыт борьбы с лейкозом крупного рогатого скота. *В мире научных открытий*. 2018. Т. 10, № 5. С. 119–124.
3. Явников Н. В. Стратегия оздоровительных мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота в современных условиях. *Проблемы и перспективы инновационного развития агротехнологий : материалы XX международной научно-практической конференции (г. Белгород, 23–25 мая, 2016 г.)*. Белгород, 2016. С. 172–174.
4. Гулюкин М. Н. Победить лейкоз можно. *Животноводство России*. 2016. № 2. С. 29–31.
5. Стегний Б. Т., Шаповалова О. В., Горбатенко С. К., Корнейков А. Н., Горжеев В. М. Современные аспекты лейкоза крупного рогатого скота. *Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб.* 2013. Вип. 95. С. 242–255.
6. Россельхознадзор. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации. 2015 год [Электронный ресурс]. Режим доступа : <http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/2015/files/iac2015.pdf>.
7. Bai L., Yokoyama K., Watanuki S., Ishizaki H., Takeshima S. N., Aida Y. Development of a new recombinant p24 ELISA system for diagnosis of bovine leukemia virus in serum and milk. *Archives of Virology*. 2019. Vol. 164, No. 1. P. 201–211. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-018-4058-5>.

### COMPARATIVE DIAGNOSTICS OF CATTLE LEUKEMIA BY ELISA METHOD IN TEST KITS OF VARIOUS CONSTRUCTIONS

**Stegniy B. T., Zavgorodnyy A. I., Gorbatenko S. K., Kornieikov O. M., Stegnyy M. Yu., Bolotin V. I.**  
*National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine*

**Gorlov Yu. I., Ganova L. O., Chumak O. M., Spivak M. Ya.**  
*PJSC «Scientific and Production Company "Diaproph-Med", Kyiv, Ukraine*

*The purpose of the work was to carry out comparative analysis of the positive and negative on leukemia cattle blood sera in ELISA kits of different constructions. Research was carried out using "DIA®-BLV-Ab" kit, in which the reaction had been performed in the indirect ELISA, and "ID Screen® BLV Competition" kit in a competitive format. There were used 15 cattle blood sera for testing, in which antibodies to BLV were confirmed in the ID and the ELISA "Bovine leukemia virus antibody test kit" (IDEXX), as well as 10 positive cattle blood sera confirmed in ID, 10 weak positive sera tested in ID and 10 sera with a weak line of precipitate in ID, 34 negative for leukemia blood sera tested in ID, from which 24 were also tested in the ELISA "Bovine leukemia virus antibody test kit". The "DIA®-BLV-Ab" kit and "ID Screen® BLV Competition" kit determined positive 25 blood sera with antibodies to BLV, which were positive in ID, and 15 samples were also confirmed in IDEXX test kit. When analyzing 10 sera, that were weak positive in ID, the "DIA®-BLV-Ab" kit determined 8 sera as positive and 2 samples as negative. The "ID Screen® BLV Competition" kit detected specific antibodies to all sera. When analyzing 14 sera with a weak precipitate line in ID, the "DIA®-BLV-Ab" kit determined 9 samples as positive and 5 as negative. The "ID Screen® BLV Competition" determined specific antibodies in 11 samples. When analyzing 3 sera, the test result was negative in both ELISA kits. The "DIA®-BLV-Ab" kit determined as negative all 34 sera, which were negative in ID, 24 samples from them were negative in IDEXX test kit. In the "ID Screen® BLV Competition" kit 5 false positive results were received. Studies have shown that both test kits have a high diagnostic capacity and detect antibodies to BLV at different concentrations in all positive sera. The "DIA®-BLV-Ab" kit determined 34 sera as negative, in which specific antibodies were absent, and the "ID Screen® BLV Competition" kit identified 5 samples with a false positive result*

**Keywords:** BLV, diagnostics, ELISA kits



**СУЧАСНІ ПІДХОДИ ЩОДО ОЗДОРОВЛЕННЯ  
ТВАРИННИЦТВА УКРАЇНИ ВІД ЛЕЙКОЗУ ВРХ****Корнейков О. М., Горбатенко С. К., Завгородній А. І., Стегній Б. Т.***Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [korneykov@ukr.net](mailto:korneykov@ukr.net)***Мандигра М. С.***Національна академія аграрних наук України, Київ, Україна, e-mail: [mandyhra.iawp@gmail.com](mailto:mandyhra.iawp@gmail.com)*

Проведене визначення ефективності різних підходів оздоровлення поголів'я ВРХ від лейкозу та їх впливу на продуктивність ВРХ та рентабельність тваринництва господарства. Оздоровлення господарств шляхом виявлення та забою інфікованих тварин є економічно виправданим лише у випадку інфікованості поголів'я до 5–10 %. В інших випадках оздоровлення доцільно проводити методом поступової заміни інфікованого поголів'я, що дозволяє впродовж 2–4 років забезпечити благополуччя господарств зі збереженням чисельності та продуктивності поголів'я

**Ключові слова:** реакція імунодифузії (РІД), метод імуноферментного аналізу (ІФА), продуктивність ВРХ, оздоровлення

Прибутковість скотарської галузі можлива лише за умов благополуччя поголів'я з інфекційних захворювань, відсутності порушень технологічного плану, що призводять до зниження кількості та якості продукції. Незважаючи на впровадження системи оздоровлення поголів'я великої рогатої худоби від лейкозу, основу якої складає виявлення та ізоляція (забій) інфікованої вірусом лейкозу великої рогатої худоби (ВЛ ВРХ) на ранніх стадіях розвитку інфекційного процесу, захворювання у тваринництві світу та ряду країн Східної Європи залишається найбільш економічно значущим серед хронічних інфекцій [1]. Необхідність забезпечення благополуччя щодо лейкозу великої рогатої худоби зумовлена не тільки прямими економічними збитками (вибракування цінних племінних тварин, втрата генофонду, зниження якості та кількості тваринницької продукції, загибель) [2] але й непрямыми, як то імуносупресивний стан з причини персистенції ВЛ ВРХ, який, в свою чергу, призводить до зниження ефективності засобів специфічної профілактики інших інфекційних захворювань з відповідними наслідками. Не слід забувати й соціальну складову непрямих збитків, а саме високий рівень ідентичності антигенної структури ВЛ ВРХ та збудника Т-клітинного лейкозу людини [3, 4]. Аналізом результативності впроваджених протилейкозних заходів в країнах Західної Європи визначено, що їх ефективність була досягнута лише після широкомасштабного впровадження засобів серологічної діагностики (спочатку реакція імунодифузії (РІД), а в подальшому метод імуноферментного аналізу (ІФА) та різних підходів оздоровчих та загально-господарських заходів, а саме вилучення зі стада (забій) виявлених інфікованих тварин або ізоляція та короткострокова перетримка вірусоносіїв з подальшою їх поступовою заміною тваринами із благополучних стад [5]. Оздоровлення поголів'я за першим підходом характеризувалося короткими часовими рамками та високою ефективністю, проте й високими фінансовими затратами (60 млн. доларів в Великобританії), які були відшкодовані в рамках державних програм (Бельгія, Нідерланди, Данія, Великобританія) [6]. Що стосується іншого підходу, то його ознаками було дещо більш тривале в часі забезпечення благополуччя щодо лейкозу, а контрольні заходи базувались на короткочасній, в умовах ізоляції, перетримці інфікованих ВЛ ВРХ тварин [7, 8], дослідженнях поголів'я з реєстрацією позитивних випадків, охороні кордону від заносу збудника та ін. (Естонія, Фінляндія, Франція, Словаччина та інші) [6].

Саме тому, **метою** нашої роботи є аналіз ефективності різних підходів в оздоровленні тваринницьких господарств України від лейкозу, які б максимально забезпечували рентабельність галузі за умов відсутності державної програми щодо вирішення цієї проблеми.

**Матеріали та методи.** Під час виконання роботи використовували два методи серологічних досліджень, а саме РІД та ІФА [9]. При постановці РІД використовували комерційну тест-систему

«Набір компонентів рідких стабілізованих для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії (РІД)» виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина» (м. Харків). Постановку ІФА проводили з використанням тест-системи «Bovine Leukemia Virus Ab Test Kit» (VMRD, США). Проведення та облік результатів РІД та ІФА виконували згідно до настанов виробників. Вибір заходів щодо забезпечення благополуччя того чи іншого господарства визначали за показниками інфікованості стада, чисельності поголів'я в господарстві, наявності умов для ізолюваного утримання тварин, наявності ремонтного молодняку власного приплоду або можливості завезення його з благополучних щодо лейкозу господарств.

Роботи щодо серологічної діагностики захворювання, розробки та впровадження заходів оздоровлення щодо лейкозу ВРХ проводились фахівцями лабораторії вивчення лейкозу ННЦ «ІЕКВМ» за узгодженням з інспекторською ланкою ветеринарної служби району чи області. Питаннями щодо організації заходів з пастеризації молока, поточної та заключної дезінфекції, а також організацією загальногосподарських заходів опікувались фахівці лабораторії вивчення туберкульозу ННЦ «ІЕКВМ».

Методичною основою роботи стала регулярна серологічна диспансеризація умовно благополучного щодо лейкозу поголів'я в РІД — один раз на 20–30 дів або за допомогою ІФА — з інтервалом 45–50 дів. За результатами кожного дослідження, в залежності від обраного підходу оздоровлення господарства, інфіковані вірусом лейкозу тварини відправлялися на забій або виділялися зі стада в ізолювану групу. Новонароджених телиць протягом 4–5 дів випоювали молозивом матері, а в подальшому — збірним пастеризованим молоком від корів серонегативного стада. З 6-місячного віку теличок обстежували серологічними методами на лейкоз. Серонегативних тварин переводили у відповідну групу неінфікованих вірусом лейкозу тварин та, за умов регулярного серологічного контролю, вирощували для комплектування здорового молочного стада. В господарствах, де проводили вилучення інфікованих тварин, за умов нестачі молодняку власного приплоду, відновлення чисельності поголів'я проводили завезенням тварин з благополучних щодо лейкозу господарств після відповідних заходів щодо їх карантинування.

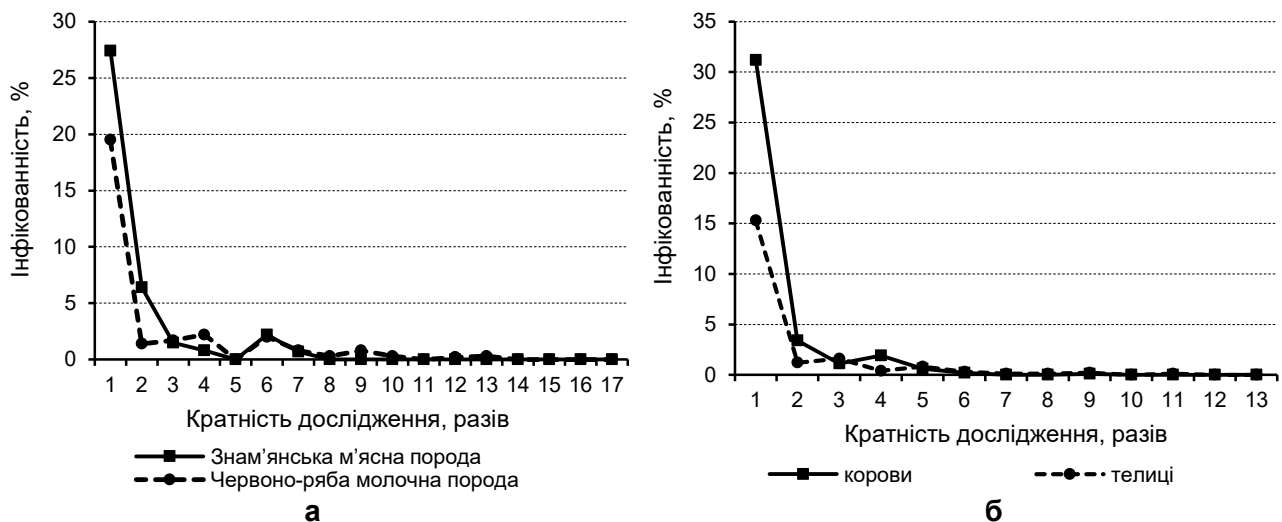
**Результати досліджень.** За результатами проведеної роботи було встановлено, що початковий рівень серопозитивності тварин до вірусу лейкозу у більшості господарств (37 підприємств 10 областей України), де проводились оздоровчі заходи за участі фахівців ННЦ «ІЕКВМ», був на рівні 20–30 %. В окремих випадках інфікованість сягала 40–45 %, що було характерним для підприємств, що утримували 1500 голів ВРХ та більше. Невисокий рівень серопозитивності (5–10 %) був характерним здебільшого для тваринницьких підприємств, які налічували до 500–700 голів ВРХ. З метою визначення стартових показників інфікованості поголів'я тварин в кожному конкретному господарстві були проведені первинні серологічні дослідження. У переважній більшості за результатами першого серологічного обстеження видалення зі стада або ротацію тварин-вірусоносіїв не проводили. Через 15–20 дів після означеного дослідження проводили повторну серологічну диспансеризацію серонегативного, за результатами первинного дослідження, поголів'я. Здебільшого, за результатами цього дослідження виявляли додатково 5–8 % інфікованих вірусом лейкозу тварин — це вже було підґрунтям для прийняття рішення щодо обрання того чи іншого підходу для оздоровлення господарства від лейкозу.

Аналізом даних щодо початкової інфікованості стада, адміністративно-господарських особливостей господарств, чисельності тваринницьких приміщень та відстані між ними, а також враховуючи економічні показники підприємств та досвід оздоровлення аналогічних господарств, нами було визначено, що викоренення збудника лейкозу шляхом виявлення та забою інфікованих тварин було економічно виправданим лише у випадку ураження поголів'я не більше 5–10 %. В усіх інших випадках, забій усіх інфікованих тварин призводив до значних втрат продуктивності та рентабельності тваринництва господарства. До того ж, вилучення для забою значної чисельності продуктивних тварин в господарстві унеможлиблювало проведення відтворення поголів'я за рахунок молодняку власного приплоду, а завезення тварин для компенсації чисельності втраченого поголів'я не завжди було можливе з причини економічної невиправданості або відсутності господарств, спроможних забезпечити такою кількістю нетелей. Позитивним моментом оздоровлення поголів'я означеним шляхом було те, що викоренення збудника лейкозу в них проходило впродовж одного року і потребувало 8–10 досліджень в РІД або 5–6 досліджень

за допомогою ІФА. За умов високої серопозитивності стада в господарстві, а також наявності можливостей ізолюваного утримання тварин з різним епізоотичним щодо захворювання фоном використовували другий підхід оздоровлення поголів'я ВРХ від лейкозу — короткострокова ізолювана перетримка інфікованих тварин та відтворення поголів'я господарства молодняком власного приплоду. За узгодженням з державною інспекторською ветеринарною службою, базуючись на результати первинних серологічних досліджень організували відокремлене утримання інфікованих та вільних від вірусу лейкозу ВРХ тварин.

Ізолюване утримання тварин забезпечувалось в умовах окремих ферм, а за необхідності, у відокремлених приміщеннях благополучної ферми, секціях загальних приміщень, за умов використання для доїння інфікованих вірусом лейкозу корів окремих доїльних пристроїв або дотримання черговості їх використання. Теличок, отриманих від інфікованих корів, з моменту народження випоювали молозивом здорових корів. У разі дефіциту останнього, протягом 5–6 діб молодняк випоювали молозивом матері, а в подальшому переводили у режим випоювання збірним пастеризованим молоком корів умовно благополучного стада. З 6 місячного віку вирощених за умов ізолюваного утримання телиць піддавали серологічним дослідженням на лейкоз. Серонегативних тварин об'єднували в гурт нетелей для поступової заміни корів неблагополучного щодо лейкозу стада.

Середня тривалість проведення оздоровчих протилейкозних заходів складала 2–4 роки. В окремих випадках цей термін збільшувався (до 6 років) або скорочувався (до 1 року), що, перш за все, було пов'язане з чисельністю поголів'я, його ураженістю, технологією утримання та вибраного методу серологічної діагностики (РІД чи ІФА). Як приклад, наводимо динаміку інфікованості ВРХ господарств, де оздоровчі заходи були проведені з використанням діагностики за допомогою РІД та ІФА (рис.).



**Рис.** Динаміка інфікованості тварин за умов використання РІД (а) та ІФА (б) в гуртах ВРХ господарства Кіровоградської області.

За результатами 5–6 (ІФА) або 8–10 (РІД) серологічних досліджень, якщо часовий відрізок між ними витримувався, рівень інфікованості оздоровлюваної групи худоби знижувався до 0,5–1,0 %. У випадках тимчасових розривів в дослідженнях, а вони в наших дослідіах іноді становили 3–3,5 місяця (як правило, період табірного утримання влітку), інфікованість стада зростала до рівня 2,5–3,5 %. Однак, у всіх випадках дотримання режиму регулярних серологічних досліджень з ізоляцією вірусноносіїв зі стада призводило в 10–14 місячний термін до повного очищення стада від інфікованих вірусом лейкозу тварин або, в окремих випадках, залишкової серопозитивності в межах 0,08–0,2 %. Надалі мова йшла вже про остаточне очищення гуртів від поодиноких інфікованих тварин.

Принциповим питанням під час організації протилейкозних заходів у кожному випадку була мінімізація можливості інфікування тварин аліментарним шляхом (через молоко) та через доїльне устаткування. Саме тому, дотриманню черговості використання доїльної установки під час проведення кожного циклу доїння приділялась особлива увага, а саме першочергове

обслуговування корів умовно благополучного щодо лейкозу стада. Кожний цикл доїння завершували поточною дезінфекцією доїльного обладнання. А молоко, отримане від тварин з різним у відношенні лейкозу епізоотичним фоном, піддавали пастеризації, з обов'язковим визначенням її якості. Кожне переміщення тварин, маніпуляції, пов'язані з відбором проб крові, завершували обов'язковими заходами з дезінфекції приміщень та обладнання.

Запропонований комплекс заходів, разом з організаційно-господарськими та ветеринарно-санітарними заходами, дозволив, не застосовуючи радикальних методів боротьби з лейкозом ВРХ, провести оздоровлення поголів'я господарств без втрати основних показників продуктивності молочного тваринництва (табл.).

**Таблиця —** Динаміка основних показників тваринництва господарства Донецької області в період реалізації протилейкозних оздоровчих заходів

Роки роботи	Чисельність стада, гол.		Валова молочна продуктивність, т	Реалізовано м'ясної продукції, т	Вартість реалізованої продукції, тис. грн	
	усього	у т. ч. корів			молочної	м'ясної
1	3 934	1 700	6 928,606	442	9 366,0	2 952,8
2	4 327	1 719	6 824,565	666	9 022,2	3 578,3
3	3 890	1 590	5 469,936	488	9 444,3	3 222,9
4	3 887	1 668	6 895,934	395	13 850,0	3 047,0

Заключним етапом оздоровлення господарств за впровадження обох підходів був обов'язковий контроль благополуччя стада після отримання двократного негативного результату серологічних досліджень у всіх вікових групах тварин. Нами доведено, що в перші 12–18 місяців після зняття обмежень з причини лейкозу, обов'язковим є проведення серологічного контролю не рідше одного разу в квартал, причому бажано з використанням методу ІФА, з можливим дослідженням збірних проб молока, а в подальшому, з огляду на сучасну епізоотичну обстановку щодо лейкозу ВРХ, двічі протягом календарного року. У тих випадках, коли в обмеженій групі тварин реєструються навіть поодинокі випадки виявлення антитіл до вірусу лейкозу в сироватці крові або молоці, вона обов'язково досліджується серологічно, з короткими інтервалами, до отримання дворазових негативних результатів.

**Висновки.** 1. Викоренення збудника лейкозу шляхом виявлення та забою інфікованих тварин є економічно виправданим лише у випадку ураження поголів'я до 5–10 %. В усіх інших випадках забій усіх інфікованих тварин призводить до значних втрат продуктивності та рентабельності тваринництва господарства.

2. Доведено, що впроваджений нами комплекс заходів з оздоровлення неблагополучних щодо лейкозу ВРХ господарств методом поступової заміни інфікованого поголів'я, дозволяє провести його впродовж 2–4 років за рахунок введення ремонтного молодняка власного приплоду, отриманого від корів з різним епізоотичним статусом, забезпечуючи збереження чисельності та продуктивності маточного поголів'я.

3. Стадо ВРХ, що оздоровлене від лейкозу, в перші 12–18 місяців необхідно щоквартально контролювати серологічними методами з подальшою щорічною дворазовою серологічною диспансеризацією.

### Список літератури

1. Nagy D. W. Overview of bovine Leukosis. *Merck Veterinary Manual*. Kenilworth, New Jersey : Merck Inc., 2014. Access mode : <https://www.merckvetmanual.com/generalized-conditions/bovine-leukosis/overview-of-bovine-leukosis>.
2. Новосельцев Г. Г., Карабактян В. А., Симонян Г. А., Репникова Н. В. Эффективный и безущербный метод борьбы с лейкозом крупного рогатого скота. *Сайт Департамента ветеринарии Краснодарского края*. Режим доступа : [http://www.kubanvet.ru/journal\\_n1\\_20113.html](http://www.kubanvet.ru/journal_n1_20113.html).
3. Buehring G. C. [et al.]. Bovine leukemia virus discovered in human blood. *BMC Infectious Diseases*. 2019. Vol. 19. P. 297. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-019-3891-9>.
4. Rodríguez S. M. [et al.]. Preventive and therapeutic strategies for bovine leukemia virus: Lessons for HTLV. *Viruses*. 2011. Vol. 3, No. 7. P. 1210–1248. DOI: <https://doi.org/10.3390/v3071210>.
5. OIE (World Organisation for Animal Health). Chapter 3.4.9. Enzootic bovine leukosis. *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. Paris: OIE, 2018. Access mode : [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.04.09\\_EBL.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.09_EBL.pdf)
6. Околелов В. И. Борьба с лейкозом крупного рогатого скота. Москва : Владос, 1999. 141 с.

7. Иванов О. В., Иванов О. Ю. Рекомендации по практической диагностике и оздоровлению стад крупного рогатого скота от лейкоза. *Farm Animals*. 2015. № 1. С. 22–24.
8. Зубова Т. В., Плешков В. А., Миронов А. Н. Современные методы и опыт борьбы с лейкозом крупного рогатого скота. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2018. Т. 10, № 5. С. 119–131.
9. Інструкція з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу : затв. наказом Держ. ком. вет. медицини України 21.12.2007, № 21 ; зареєстр. в Мінюсті України 11.01.2008 р., № 12/14703. Київ, 2008. 8 с.

**CURRENT APPROACHES TO THE LIVESTOCK RECOVERY FROM CATTLE LEUKEMIA**

**Korneikov O. M., Gorbatenko S. K., Zagorodniy A. I., Stegnyy B. T.**

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

**Mandyhra M. S.**

*National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

*The purpose of the work was to determine the effectiveness of different approaches to the recovery of cattle population from leukemia, and their impact on cattle productivity and profitability of livestock farming. The choice of measures to ensure the safety of a particular farm was determined by indicators of herd infection, number of livestock population in the holding, availability of conditions for isolated keeping of animals, availability of herd replacements. Two methods of serological testing were used during the work, namely ID and ELISA. The methodological basis of the work was the regular serological examination of conditionally safe concerning leukemia livestock in the ID — once every 20–30 days, or by ELISA — with an interval of 45–50 days. According to the results of each study, depending on the approach of farm recovery, infected with leukemia animals were slaughtered or isolated from the herd in an isolated group. Improvement of farms by detecting and slaughtering infected animals is economically justified only in the case of livestock infections up to 5–10 %. In other cases, it is advisable to carry out rehabilitation by the method of gradual replacement of the infected livestock, which allows to ensure the safety of the farms during 2–4 years while saving the population and productivity of the livestock*

**Keywords:** *immunodiffusion test (ID), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), cattle productivity, recovery*

УДК 619:616-078:579.873.21.083.337:636.21.3

DOI 10.36016/VM-2019-105-8

**ДОСЛІДЖЕННЯ ЕПІЗООТИЧНИХ СИРОВАТОК КРОВІ ЖУЙНИХ  
ТВАРИН У РЕАКЦІЇ ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ (РЗК)  
З ПАРАТУБЕРКУЛЬОЗНИМ АНТИГЕНОМ**

**Завгородній А. І., Позмогова С. А., Гончарова Н. В., Калашник М. В., Білушко В. В.**

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

*У статті наведені результати дослідження епізоотичних проб сироваток крові від великої та дрібної рогатої худоби у реакції зв'язування комплекменту з паратуберкульозним антигеном, який виготовлений у лабораторії вивчення туберкульозу ННЦ «ІЕКВМ» із культурального фільтрату *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). У реакції зв'язування комплекменту було досліджено 1 098 сироваток крові з 19 господарств 9 областей України, а також 24 сироватки крові від дрібної рогатої худоби, отриманих із 2 господарств, які розташовані у Харківській та Одеській областях. За результатами проведених досліджень у РЗК специфічні до MAP антитіла були виявлені у 17 пробах сироваток крові від великої рогатої худоби у діагностичному титрі 1:10, а в 9 пробах отримано сумнівний результат. У сироватках крові від дрібної рогатої худоби антитіл до MAP не було виявлено*

**Ключові слова:** *антиген, велика рогата худоба, дрібна рогата худоба, паратуберкульоз, реакція зв'язування комплекменту, сироватки крові*

Паратуберкульоз (паратуберкульозний ентерит, хвороба Йоне) — хронічне захворювання жуйних тварин, спричинене *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), яке характеризується повільним розвитком продуктивного гранулематозного ентериту, діареєю, втратою продуктивності, кахексією та загибеллю тварин. В інфікованих тварин

паратуберкульозний ентерит має тривалий латентний період до 5–6 років. Лікування хворих тварин у більшості випадків є неефективним та економічно необґрунтованим.

Клінічні симптоми та патологоанатомічні зміни при паратуберкульозі вперше були описані Н. А. Johne та L. Frothingham протягом XIX сторіччя. Проведеними дослідженнями у 1906 р. В. Bang встановив різницю між туберкульозом і нетуберкульозним ентеритом і запропонував останній називати псевдотуберкульозним ентеритом. F. W. Twort у 1912 р. провів ідентифікацію етіологічного агенту, виділеного від хворих тварин, та охарактеризував збудника, який зумовлював експериментальний ентерит у великої рогатої худоби. Пізніше збудника було віднесено до роду *Mycobacterium* підвиду *Mycobacterium paratuberculosis*, а захворювання здобуло назву паратуберкульоз [1, 2].

У середині XX століття паратуберкульозна інфекція набула помітного поширення та розповсюдження у багатьох країнах світу, особливо в молочних гуртах великої рогатої худоби, що суттєво впливало на економічні показники у тваринницьких господарствах. Так, у Сполучених Штатах Америки економічні збитки від цієї хвороби щорічно складають від 200–250 мільйонів [3] до 1,5 мільярда доларів [4]. Разом з цим багато закордонних авторів відмічають значний вплив цього захворювання на світову економіку [1, 5–8]. В останні роки розповсюдженість цього захворювання в різних країнах варіює від спорадичних випадків до 70,0 % інфікованого поголів'я в неблагополучних гуртах [9, 10].

За даними OIE World Animal Health Information System у 2018 р. клінічні випадки хвороби в гуртах великої рогатої худоби реєстрували в Афганістані, Аргентині, Австрії, Великобританії, Угорщині, Німеччині, Греції, Данії, Єгипті, Іспанії, Ірані, Ірландії, Ізраїлі, Канаді, Катарі, Кіпрі, Китаї, Колумбії, Кореї, Коста Ріці, Лівії, Люксембурзі, Новій Зеландії, Саудівській Аравії, Словенії, США, Росії, Франції, Чилі, Швейцарії, Японії [11].

Починаючи з 70-х рр. XX століття поголів'я великої рогатої худоби України вважається благополучним щодо паратуберкульозної інфекції. Разом з цим швидке розширення міжнародних зв'язків України несе загрозу занесення збудника паратуберкульозу до нашої держави з імпортованою молочною та м'ясною худобою, продукцією тваринного походження (м'ясо, молоко, сири), а також із генетичним матеріалом (сперма, ембріони).

Діагноз на паратуберкульоз встановлюють комплексно на основі епізоотологічних даних, характерних клінічних ознак і результатів алергічного, патологоанатомічного, культурального (висіви фекальних і тканинних проб) методів дослідження [12, 13]. Також для діагностики використовують серологічний (РЗК [14–18], РІД [16, 18–20], ІФА [17, 18, 21–23]), гістологічний методи, гамма-інтерфероновий тест, ДНК-тести: ПЦР (фекалії та тканини) [24].

Реакція зв'язування комплементу протягом багатьох років була стандартним тестом для діагностики паратуберкульозу у великої рогатої худоби. Відмічається велика ефективність цього тесту з сироватками крові від тварин, які мають клінічні ознаки хвороби. Менша специфічність цього методу відмічається з сироватками крові тварин, в яких інфекційний процес має субклінічну форму перебігу. У багатьох країнах, які імпортують худобу, цей тест є обов'язковим при диспансеризації тварин. У світі існує багато виробників тест-наборів для РЗК, але і дотепер немає еталонного зразка позитивної сироватки, яка б стандартизувала всі набори для міжнародного використання [24].

Багато закордонних авторів вважають найбільш ефективним методом прижиттєвої діагностики паратуберкульозу у сільськогосподарських тварин саме ІФА [18, 21, 23, 25, 26]. Але висока вартість імпортних тестових наборів і наявність хибно-позитивних реакцій створюють складнощі при використанні цього методу для проведення моніторингових досліджень щодо паратуберкульозу, зокрема і в господарствах України. За даними цих же авторів, РЗК лише незначною мірою поступається методу ІФА [17, 18]. Тому в нашій роботі і був використаний саме метод РЗК з паратуберкульозним антигеном з культурального фільтрату (АКФ) і позитивною паратуберкульозною сироваткою крові кролів, які були розроблені в лабораторії вивчення туберкульозу ННЦ «ІЕКВМ».

Не дивлячись на те, що на сьогоднішній день поголів'я великої рогатої худоби в Україні офіційно вважається благополучним щодо паратуберкульозу, існує ймовірність занесення збудника та виникнення цього захворювання в господарствах, що комплектують стада імпортною худобою, а також генетичним матеріалом. Оскільки моніторингові діагностичні дослідження щодо цього захворювання у закуплених із-за кордону тварин у період карантинування в господарствах

проводяться не у всіх випадках, і такі тварини вводяться в основне стадо, то виникає необхідність вивчення епізоотичної ситуації шляхом проведення комплексних досліджень поголів'я великої рогатої худоби.

**Метою** нашої роботи було дослідження польових сироваток крові від великої рогатої худоби у РЗК з паратуберкульозним антигеном АКФ для з'ясування епізоотичної ситуації щодо паратуберкульозу серед молочного поголів'я великої рогатої худоби у різних областях України.

**Матеріали і методи досліджень.** Для проведення досліджень у РЗК з паратуберкульозним антигеном досліджували сироватки крові від реагуючої на туберкулін (ППД) для ссавців великої рогатої худоби з благополучних щодо туберкульозу та паратуберкульозу господарств. Отримані від великої рогатої худоби сироватки крові переливали в пробірки типу епендорф. За необхідності сироватки піддавали заморожуванню в морозильній камері за температури мінус 18–20 °С.

Дослідження отриманих сироваток крові у РЗК проводили згідно з методичними рекомендаціями «Лабораторна діагностика паратуберкульозу» (затв. НМР ДВФСУ пр. № 1 від 19.12.2014). Робочі розведення всіх компонентів для РЗК готували безпосередньо перед постановкою реакції. Для дослідження використовували компоненти, які не мають антикомплемтарних та гемолітичних властивостей.

Контрольні сироватки (позитивну та негативну) досліджували у розведенні 1:10 з антигеном, а дослідні сироватки — в розведенні 1:5 та 1:10.

Усі сироватки крові, які використовували в досліді, інактивували на водяній бані за температури 61 °С протягом 30 хвилин. Зв'язування комплекменту здійснювали 20 хвилин на водяній бані за температури 37 °С, після додавання гемолітичної системи пробірки витримували на водяній бані за температури 37 °С упродовж 20 хвилин.

При постановці основного досліді ставили наступні контролю: 1) негативна та позитивна сироватки у розведеннях 1:5 та 1:10 з антигеном та 1:5 без антигену; 2) комплекмент (0,2 мл комплекменту + 0,2 мл суспензії еритроцитів + 0,6 мл фіз. розчину); 3) гемолітична система (0,2 мл комплекменту + 0,4 мл фізіологічного розчину та 0,4 мл гемолітичної системи); 4) антиген у робочому титрі (0,2 мл комплекменту + 0,2 мл антигену + 0,4 мл гем. системи + 0,2 мл фіз. розчину). Облік реакції проводили через 16–18 годин після постановки реакції за кімнатної температури в умовах, що виключають вплив прямого сонячного світла, тепла та інших чинників.

Результати реакції відмічали знаками «+» та «-»: 1) позитивна реакція: «++++» і «++++»; 2) сумнівна реакція: «+++» і «+»; 3) негативна реакція: «-».

**Результати досліджень.** У РЗК було досліджено 1 098 проб сироваток крові від великої рогатої худоби та 24 сироватки крові від дрібної рогатої худоби. Результати дослідження сироваток крові великої рогатої худоби на паратуберкульоз із 19 господарств 9 областей України, а також сироваток крові дрібної рогатої худоби із 2 господарств 2 областей представлені у таблиці.

**Таблиця — Дослідження сироваток крові ВРХ і ДРХ у РЗК**

Область	Кількість господарств	Кількість досліджених сироваток	Результати досліджень		
			Позитивні (діагн. титр 1:10)	Сумнівні	Негативні
Велика рогата худоба					
Полтавська	2	283	7	4	272
Харківська	4	380	—	—	380
Черкаська	3	34	—	—	34
Київська	1	12	—	—	12
Донецька	1	191	6	3	182
Кіровоградська	3	29	—	—	29
Сумська	2	127	—	—	127
Одеська	1	10	—	—	10
Хмельницька	2	32	4	2	26
Дрібна рогата худоба					
Харківська	1	20	—	—	20
Одеська	1	4	—	—	4



Із матеріалів, наведених у таблиці, видно, що при серологічному дослідженні сироваток крові, відібраних від реагуючої на туберкулін для ссавців великої рогатої худоби, у РЗК з паратуберкульозним антигеном у 17 пробах виявлені специфічні до MAP антитіла в діагностичних титрах (1:10) у тварин, які утримуються в 4 господарствах Полтавської, Донецької та Хмельницької областей. Разом з цим у 9 пробах сироваток крові інших тварин із цих господарств у РЗК отримано сумнівний результат. У сироватках крові від дрібної рогатої худоби паратуберкульозних антитіл у жодному випадку не виявлено.

При подальших спостереженнях у господарстві Хмельницької області через один рік у трьох тварин спостерігали клінічні ознаки паратуберкульозного ентериту. При діагностичному забої в однієї тварини в тонкому відділі кишечника були виділені характерні для паратуберкульозу ураження. У мазках із відібраного патологічного матеріалу виявляли кислотостійкі палички, які були розташовані поодинокі та групами.

**Висновки.** Результати проведених моніторингових досліджень свідчать про циркуляцію збудника *M. avium* subsp. *paratuberculosis* в окремих господарствах, що в майбутньому може ускладнити епізоотичну ситуацію щодо паратуберкульозу та сприяти поширенню збудника цього захворювання в інші благополучні господарства. З метою з'ясування, контролю епізоотичної ситуації в гуртах великої рогатої худоби та для запобігання поширення паратуберкульозу в благополучні господарства необхідно щорічно проводити серологічні моніторингові дослідження продуктивного поголів'я тварин, а також поголів'я, що імпортується в Україну для комплектування молочних гуртів.

### Список літератури

1. Chiodini R. J. Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects / R. J. Chiodini, H. J. Van Kruiningen, R. S. Merkal // *The Cornell Veterinarian*. — 1984. — Vol. 74, No. 3. — P. 218–262.
2. Kreeger J. M. Ruminant paratuberculosis—a century of progress and frustration / J. M. Kreeger // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc. — 1991. — Vol. 3, No. 4. — P. 373–382.
3. Wells S. J. Herd-level risk factors for infection with mycobacterium paratuberculosis in US dairies and association between familiarity of the herd manager with the disease or prior diagnosis of the disease in that herd and use of preventive measures / S. J. Wells, B. A. Wagner // *Journal of the American Veterinary Medical Association*. — 2000. — Vol. 216, No. 9. — P. 1450–1457.
4. Stabel J. R. Johne's disease: a hidden threat / J. R. Stabel // *Journal of Dairy Science*. — 1998. — Vol. 81, No. 1. — P. 283–288.
5. Pandey G. S. Paratuberculosis (Johne's disease) in a herd of Friesian cattle in Zambia / G. S. Pandey, T. L. Musonda, H. G. Chizyuka, M. Schneebeli // *The Veterinary Record*. — 1987. — Vol. 120, No. 15. — P. 369.
6. Merkal R. S. Prevalence of mycobacterium paratuberculosis in ileocecal lymph nodes of cattle culled in the United States / R. S. Merkal, D. L. Whipple, J. M. Sacks, G. R. Snyder // *Journal of the American Veterinary Medical Association*. — 1987. — Vol. 190, No. 6. — P. 676–680.
7. Behymer D. E. Mass screening of cattle sera against 14 infectious disease agents, using an ELISA system for monitoring health in livestock / D. E. Behymer, H. P. Riemann, W. Utterback [et al.] // *American Journal of Veterinary Research*. — 1991. — Vol. 52, No. 10. — P. 1699–1705.
8. Sweeney R. W. Transmission of paratuberculosis / R. W. Sweeney // *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. — 1996. — Vol. 12, No. 2. — P. 305–312.
9. Nielsen S. S. A review of prevalences of paratuberculosis in farmed animals in Europe / S. S. Nielsen, N. Toft // *Preventive Veterinary Medicine*. — 2009. — Vol. 88, No. 1. — P. 1–14.
10. Lombard J. E. Epidemiology and economics of paratuberculosis / J. E. Lombard // *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. — 2011. — Vol. 27, No. 3. — P. 525–535.
11. OIE World animal health information system / *Weekly Animal Disease service global report*. URL: [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Countryinformation/Animalsituation](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/Animalsituation). (Accessed: 10.06.2019).
12. Kim Y. G. Comparison of two methods for isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from bovine fecal samples / Y. G. Kim, S. Bech-Nielsen, J. C. Gordon [et al.] // *American Journal of Veterinary Research*. — 1989. — Vol. 50, No. 7. — P. 1110–1113.
13. Collins M. T. Enhanced radiometric detection of *Mycobacterium paratuberculosis* by using filter-concentrated bovine fecal specimens / M. T. Collins, K. B. Kenefick, D. C. Sockett [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. — 1990. — Vol. 28, No. 11. — P. 2514–2519.
14. De Lisle G. W. Bovine paratuberculosis in a comparison of fecal culture and the antibody response / G. W. de Lisle, B. S. Samagh, J. R. Duncan // *Canadian Journal of Comparative Medicine*. — 1980. — Vol. 44, No. 2. — P. 183–191.
15. Larsen A. B. An extended study of a herd of cattle naturally infected with Johne's disease in the significance of the complement-fixation test / A. B. Larsen, T. H. Vardaman, R. S. Merkal // *American Journal of Veterinary Research*. — 1963. — Vol. 24. — P. 948–950.

16. Sherman D. M. Comparison of the complement-fixation and agar gel immunodiffusion tests for diagnosis of subclinical bovine paratuberculosis / D. M. Sherman, J. M. Gay, D. S. Bouley, G. H. Nelson // American Journal of Veterinary Research. — 1990. — Vol. 51, No. 3. — P. 461–465.
17. Kalis C. H. J. Evaluation of two absorbed enzyme-linked immunosorbent assays and a complement fixation test as replacements for fecal culture in the detection of cows shedding *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* / C. H. J. Kalis, H. W. Barkema, J. W. Hesselink [et al.] // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. — 2002. — Vol. 14, No. 3. — P. 219–224.
18. Sockett D. C. Evaluation of four serological tests for bovine paratuberculosis / D. C. Sockett, T. A. Conrad, C. B. Thomas, M. T. Collins // Journal of Clinical Microbiology — 1992. — Vol. 30, No. 5. — P. 1134–1139.
19. Sherman D. M. Evaluation of the agar gel immunodiffusion test for diagnosis of subclinical paratuberculosis in cattle / D. M. Sherman, B. Bray, J. M. Gay, F. Bates // American Journal of Veterinary Research. — 1989. — Vol. 50, No. 4. — P. 525–530.
20. Sherman D. M. Agar gel immunodiffusion test for diagnosis of clinical paratuberculosis in cattle / D. M. Sherman, R. J. Markham, F. Bates // Journal of the American Veterinary Medical Association. — 1984. — Vol. 185, No. 2. — P. 179–182.
21. Gümüşsoy K. S. Serological and molecular diagnosis of paratuberculosis in dairy cattle / K. S. Gümüşsoy, T. İça, S. Abay [et al.] // Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. — 2015. — Vol. 39, No. 2. — P. 147–153.
22. Fernández-Silva J. A. Diagnosis and molecular characterization of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from dairy cows in Colombia / J. A. Fernández-Silva, A. Abdulmajood, M. Bülte // Veterinary Medicine International. — 2011. — Vol. 2011. — P. 352561.
23. Collins M. T. Evaluation of five antibody detection tests for diagnosis of bovine paratuberculosis / M. T. Collins, S. J. Wells, K. R. Petrini [et al.] // Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. — 2005. — Vol. 12, No. 6. — P. 685–692.
24. Chapter 2.1.11. Paratuberculosis (Johne's disease) // Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. — 6<sup>th</sup> ed. — Paris : OIE, 2014. — 16 pp.
25. Norton S. Evaluation of diagnostic tests for Johne's disease (*Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*) in New Zealand dairy cows / S. Norton, W. O. Johnson, G. Jones, C. Heuer // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. — 2010. — Vol. 22, No. 3. — P. 341–351.
26. Miller D. S. Specificity of four serologic assays for *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in llamas and alpacas: a single herd study / D. S. Miller, M. T. Collins, B. B. Smith [et al.] // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. — 2000. — Vol. 12, No. 4. — P. 345–353.

#### THE STUDY OF EPIZOOTIC SERA OBTAINED FROM RUMINANT ANIMALS IN COMPLEMENT FIXATION TEST (CFT) WITH THE USE OF PARATUBERCULOUS ANTIGEN

**Zavgorodniy A. I., Pozmogova S. A., Goncharova N. V., Kalashnyk M. V., Bilushko V. V.**

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

The paper presents results of the study of epizootic blood sera in the complement fixation test (CFT) with paratuberculous antigen. Blood sera were sampled from the cattle and goats. The antigen was produced from the culture filtrate of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) in the laboratory for tuberculosis study. The aim of the present study was to clarify the epizootic situation concerning Johne's disease among the dairy cattle in different regions of Ukraine. To achieve this aim the blood sera from cattle and goats were collected from farms in different regions of Ukraine. Those sera samples were studied in the complement fixation test with the use of paratuberculous antigen that was produced from the culture filtrate of MAP. The above mentioned blood sera were collected from the cattle that had positive allergic reactions on the use of tuberculin (PPD) for mammals. Those animals belonged to the free from tuberculosis and paratuberculosis milk farms. The study of obtained samples of blood sera was conducted in the accordance with the methodological guidelines "Laboratory diagnostics of paratuberculosis" (shutter. NMR FEFU pr. No. 1, dated December 19, 2014). There were studied 1098 blood sera samples from cattle. In addition to this, investigation was conducted on 24 samples of blood sera from goats. As the result of conducted study it was found that 17 samples of blood sera contained specific antibodies against MAP (serum solution 1:10). These blood sera collected from the cattle belonging to 4 farms in Poltava, Donetsk and Khmelnytsky regions. Along with this it was obtained 9 uncertain results in compliment fixation test that was conducted between paratuberculous antigen (ACF) and blood sera from those 4 farms. The results of monitoring studies indicate that *M. avium* subsp. *paratuberculosis* pathogen circulates in studied farms. This can lead to the complication of the epizootic situation regarding paratuberculosis and contribute to the spreading of this pathogen to other free from MAP infection farms. There are no anti-paratuberculosis antibodies in blood serum from goats. It is necessary to conduct annual monitoring serological studies of productive dairy cattle and imported animals in order to clarify and control epizootic situation concerning paratuberculosis on the territory of Ukraine

**Keywords:** antigen, cattle, goats, paratuberculosis (Johne's disease), complement fixation test (CFT), blood sera

## ЕФЕКТИВНІСТЬ РІЗНИХ ПІДХОДІВ ПРОФІЛАКТИКИ ТА БОРОТЬБИ З ІНФЕКЦІЙНИМИ ПНЕВМОЕНТЕРИТАМИ ВРХ

*Корнєйков О. М., Прохорятова О. В., Кольчик О. В., Олешко А. Ю., Бородай Н. І.*

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [korneykov@ukr.net](mailto:korneykov@ukr.net)*

**Аль Джабарі Мунір**

*Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна*

*Визначено, що у 83,4 % господарств з метою профілактики вірусних пневмоентеритів використовують засоби специфічної профілактики ІРТ, ВД, ПГ-3 та РСІ у вигляді комбінованих препаратів, 80 % з яких мали у своєму складі живі атенуйовані штами вірусів. Незважаючи на високий рівень гуморальної імунної відповіді у тварин з обстежених господарств, у 61,1 % із них реєстрували ознаки захворювання з проявом респіраторного чи діарейного синдромів. Збудники інфекційних пневмоентеритів були виявлені у тварин з більшості господарств, незалежно від того, використовували в них засоби специфічної профілактики чи ні. Різниця була лише у клінічному прояві респіраторного чи діарейного синдромів, а саме у перебігу захворювання (хронічне, гостре, підгостре) і в рівні захворюваності тварин. Тривале використання в господарствах засобів специфічної профілактики до складу яких входять живі атенуйовані штами вірусів, на фоні покращення епізоотичної ситуації щодо ІРТ, ВД, ПГ-3 та РСІ, призводило до ускладнення епізоотичної ситуації бактеріальними збудниками. Використання в господарствах препаратів сконструйованих на основі інактивованих вірусних штамів, до того ж актуальних саме для України, забезпечувало стійке благополуччя щодо означених захворювань*

**Ключові слова:** *атенуйовані штами, бактеріальні збудники, вакцина, велика рогата худоба, віруси, вірусна діарея, інфекційний ринотрахеїт, парагрип-3, респіраторно-синцитіальна інфекція, специфічні антитіла*

Не останню роль в підвищенні продуктивності ВРХ в Україні, а як наслідок збільшення рентабельності скотарської галузі, відіграло завезення племінних тварин і племінного матеріалу з країн з розвинутим скотарством. Результатом цього стала зміна вірус-бактеріального фону в господарствах України, що спричинило збільшення інфекційних хвороб змішаної етіології, які призводять до розвитку у тварин респіраторного та діарейного синдромів [1–3]. За останні роки науковцями отримано значні знання щодо етіології пневмоентеритів ВРХ, розроблено протиепізоотичні заходи, методи та засоби діагностики, профілактики та лікування [4, 5]. Наслідком цього стало збільшення засобів специфічної профілактики та антимікробних препаратів, що використовуються у тваринництві України, а це у свою чергу збільшило навантаження на імунну систему племінних і товарних тварин.

З метою вдосконалення заходів профілактики та боротьби з інфекційними пневмоентеритами фахівцями практичної ветеринарної медицини все частіше впроваджуються в господарства засоби специфічної профілактики означених захворювань, до складу яких входять живі атенуйовані штами вірусів інфекційного ринотрахеїту (ІРТ), парагрипу-3 (ПГ-3), респіраторно-синцитіальної інфекції (РСІ) та інших. Слід зазначити, що в більшості випадків означені препарати виготовляються за межами країни та вміщують штами збудників, які не завжди є актуальними для України. А це сприяє розвитку таких негативних наслідків, як зміна мікробіологічного фону у тварин, поява нових епізоотичних штамів вірусів і нових сероваріантів бактерій, які раніше не зустрічалися на території України. До того ж, слід враховувати, що циркуляція серед тварин означених атенуйованих штамів, які окрім потенційної здатності до реверсії, призводять до імуносупресивного стану у тварин, а як наслідок, до розвитку секундарних інфекцій та погіршення епізоотичної ситуації.

Саме тому успішна боротьба з інфекційними пневмоентеритами неможлива без об'єктивної оцінки епізоотичної ситуації, встановлення етіологічного значення всіх мікроорганізмів, які

входять до асоціації під час спалахів інфекційних хвороб з проявом респіраторного або діарейного синдромів, а також без нових знань щодо особливостей клінічного прояву цих синдромів за умов використання різних підходів при їх профілактиці та боротьбі з ними.

**Мета роботи.** Вивчити особливості перебігу інфекційних пневмоентеритів ВРХ та ефективність впровадження різних підходів до профілактики та боротьби з ними.

**Матеріали та методи.** З метою вивчення епізоотичної ситуації з інфекційних пневмоентеритів великої рогатої худоби (ВРХ) проведено дослідження біологічного матеріалу від ВРХ різних технологічних і вікових груп 18 господарств 9 областей України (Харківська, Кіровоградська, Сумська, Чернігівська, Черкаська, Запорізька, Одеська, Херсонська, Миколаївська).

Для встановлення діагнозу та визначення етіологічних факторів, що спричиняли інфекції з проявом респіраторного та діарейного синдромів, звертали увагу на інтенсивність прояву ознак захворювання у стаді на усіх технологічних групах ВРХ, а у випадках загибелі тварин — на патологічні зміни. Під час прояву респіраторного синдрому визначали кількість хворих тварин, їх вік, звертали увагу на продуктивні показники (вгодованість, середньомісячний приріст ваги, репродуктивну функцію), особливості клінічного прояву захворювання. Встановлювали кількість загиблих тварин за визначений час.

З метою аналізу даних щодо існуючої в тому чи іншому господарстві системи профілактики пневмоентеритів, а також визначення засобів, що використовуються з цією метою, було проведено аналіз планів протиепізоотичних заходів у кожному випадку.

Для проведення лабораторних досліджень від хворих з респіраторним або діарейним синдромом тварин відбирали проби біологічного матеріалу (проби крові, носоглоткові змиви, змиви (вміст) з прямої кишки, серозно-слизові витікання з носової порожнини та очей). Від вимушено вбитих, загиблих тварин та аборт-плодів відбирали проби патологічного матеріалу (шматочки паренхіматозних органів, трахеї, гортані, лімфатичні вузли, вміст кишечника). Крім цього, навіть за умов відсутності клінічного прояву захворювань, з метою визначення напруженості специфічної імунної відповіді від тварин різних технологічних груп відбирали сироватку крові для серологічного дослідження.

Визначення рівня специфічних антитіл до вірусів ІРТ та ВД проводили за допомогою методу імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням відповідних тест-систем (IDEXX, Франція), а до збудника парагрипу-3 — за допомогою реакції затримки гемаглютинації (РЗГА), з використанням діагностичних наборів виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина» (м. Харків). Виявлення антигенів вірусів ІРТ, ВД, ПГ-3 та РСІ у клінічному та патологічному матеріалі проводили за допомогою реакції імунофлюоресценції (РІФ), з використанням тест-систем виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина» (м. Харків).

З метою визначення циркуляції серед хворих тварин бактеріальних збудників проводили мікробіологічні дослідження. Для первинного культивування з подальшим типуванням, вивченням культуральних і морфологічних властивостей бактеріальних збудників використовували наступні поживні середовища: м'ясо-пептонний бульйон (МПБ, рН 7,2–7,4), агар Ендо, агар Олькеницького, цитратний агар Симонса, середовище Плоскірева, вісмут-сульфіт агар, агар Хотингера, а також модифіковане середовище Кіта-Тароци та середовище Сабуро. Ідентифікацію бактеріальних культур, виділених із патологічного або клінічного матеріалу від тварин, проводили згідно з діючими методичними рекомендаціями та нормативними документами. Для вивчення морфологічних, культуральних, ферментативних (біохімічних) властивостей мікробів певного виду отримували чисту культуру. Виділення чистої культури із загальної маси бактерій здійснювали посівом на диференційно-діагностичні середовища. Біохімічні ознаки бактерій визначали за набором ферментів і цукрів, які характерні для роду, виду, варіанту [6]. Морфологічні та тінкторіальні ознаки бактерій визначали за мікроскопічними дослідженнями мазків з нативних матеріалів, пофарбованих за Грамом або за Романовським-Гімза.

**Результати досліджень.** За результатами проведеного клініко-епізоотологічного обстеження господарств, у т. ч. аналізу планів протиепізоотичних заходів у кожному з них, встановлено, що у 83,4 % означених господарств з метою профілактики і боротьби з вірусними пневмоентеритами використовували засоби специфічної профілактики проти інфекційного ринотрахеїту (ІРТ), вірусної діареї (ВД), парагрипу-3 (ПГ-3) і респіраторно-синцитіальної інфекції (РСІ) у вигляді комбінованих препаратів. Причому, слід зазначити, що у більшості з обстежених

господарств (61,1 %) реєстрували ознаки захворювання тварин з проявом респіраторного, репродуктивного чи діарейного синдромів (табл. 1).

**Таблиця 1** — Результати клініко-епізоотологічного обстеження господарств різних регіонів України

Господарство	Область	Клінічний прояв	Вакцинація
№ 1	Харківська	—	Хіпрабовіс-4
№ 2		респіраторний (підгострий)	Інфорс-3, CattlemasterGold FP5 L5
№ 3		—	Cattlemaster Gold FP5 L5
№ 4		респіраторний (поодинокі)	Cattlemaster Gold FP5 L5
№ 5		респіраторний (підгострий) діарейний	Суправак-10
№ 6	Кіровоградська	респіраторний (поодинокі)	Інфорс-3, CattlemasterGold FP5 L5
№ 7	Сумська	—	Бовисвак-3
№ 8	Черкаська	респіраторний (поодинокі)	Cattlemaster Gold FP5 L5
№ 9	Чернігівська	—	БіобосРеспи-4
№ 10		респіраторний (поодинокі)	Інфорс-3, CattlemasterGold FP5 L5
№ 11		—	Cattlemaster Gold FP5 L5
№ 12		—	Рипавак-3
№ 13	Запорізька	діарейний, репродуктив. (хронічний)	CattlemasterGoldFP5 L5
№ 14	Одеська	—	Рипавак-3
№ 15		респіраторний (хронічний)	—
№ 16		респіраторний (поодинокі)	—
№ 17	Херсонська	репродуктив. (хронічний) діарейний	CattlemasterGoldFP5 L5
№ 18	Миколаївська	репродуктив. (гострий)	—

Після аналізу протиепізоотичних заходів встановлено, що прояв захворювань реєстрували як в господарствах, де в якості профілактики вірусних пневмоентеритів використовували засоби специфічної профілактики, так і на підприємствах, які не проводили вакцинопрофілактику на поголів'ї ВРХ. Різниця прояву пневмоентеритів у тварин була лише в перебігу захворювання (хронічне, гостре, підгостре) і в рівні захворюваності.

За результатами проведених серологічних досліджень за допомогою ІФА та РЗГА встановлено, що у більшості випадків досліджені тварини з господарств, де впроваджено специфічну профілактику, здебільшого мали високу напруженість імунної відповіді до збудників пневмоентеритів вірусної етіології, а саме до вірусу ІРТ на рівні 89–100 %, до вірусу парагрипу-3 — 95–100 % (табл. 2).

Слід зазначити, що рівень специфічних антитіл до збудників ІРТ та ПГ-3 в індивідуальних пробах майже завжди перевищував діагностичний в 5 і більше разів. Все це свідчило про позитивний ефект проведеної специфічної профілактики у напрямку стимулювання повноцінної гуморальної імунної відповіді на введення відповідних препаратів. Деяке занепокоєння викликала групова імунна відповідь у вакцинованих тварин до збудника ВД, яка була на рівні 60–80 %, а по деяким господарствам навіть нижче, що, на нашу думку, може бути пов'язане як з біологічною особливістю збудника з роду *Pestivirus* (невисокий рівень та швидка елімінація специфічних антитіл), так і якісним складом використаних препаратів.

У пробах, відібраних від тварин з господарств, де засоби специфічної профілактики впроваджені не були, відмічалась «строкатість антитіл» з причини неоднорідності антитілогенезу в організмі тварин. Це є показником ймовірної циркуляції у стаді великої рогатої худоби епізоотичних штамів збудників ІРТ, ПГ-3 та ВД. Зважаючи на те, що серологічна діагностика не є прямим методом індикації збудників вірусних пневмоентеритів, нами були проведені дослідження

### Розділ 3. Епізоотологія та інфекційні хвороби

щодо виявлення антигенів збудників ІРТ, ВД, ПГ-3 та РСІ, а також рота-, коронавірусів за допомогою реакції імунофлуоресценції (табл. 3).

**Таблиця 2** — Результати серологічного дослідження сироватки крові ВРХ на наявність специфічних антитіл до вірусів ІРТ, ВД (ІФА) і ПГ-3 (РЗГА)

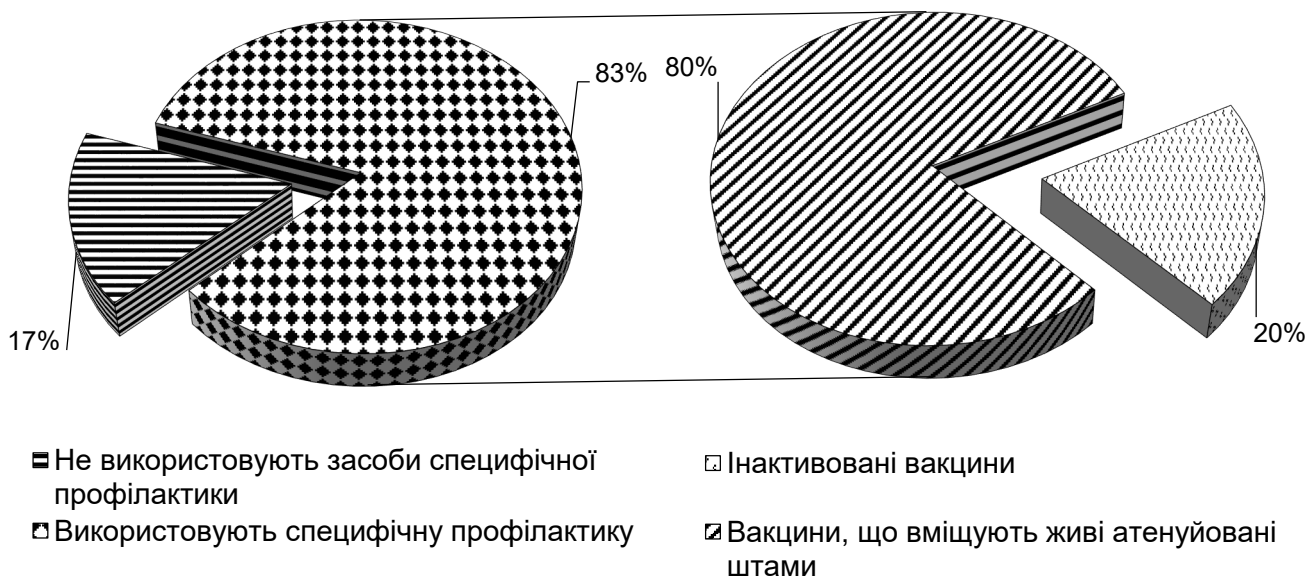
Господарство	Область	Досліджено, проб	Наявність специфічних антитіл вірусів, проб		
			ІРТ	ВД	ПГ-3
№ 1	Харківська	20	20	12	20
№ 2		15	14	11	14
№ 3		15	15	13	15
№ 4		10	9	4	10
№ 5		20	18	16	19
№ 6	Кіровоградська	10	10	8	10
№ 7	Сумська	10	9	5	9
№ 8	Черкаська	25	25	17	25
№ 9	Чернігівська	10	10	8	10
№ 10		10	9	6	9
№ 11		15	14	12	15
№ 12		20	20	16	18
№ 13	Запорізька	10	10	8	10
№ 14	Одеська	20	20	19	20
№ 15		15	14	13	13
№ 16		10	9	7	10
№ 17	Херсонська	15	14	14	15
№ 18	Миколаївська	15	11	10	14
Всього		265	251 (94,7 %)	199 (75,1 %)	256 (96,6 %)

**Таблиця 3** — Результати дослідження біологічного матеріалу від ВРХ за допомогою реакцій імунофлуоресценції (РІФ) і гемаглютинації (РГА)

Господарство	Область	Матеріал	Наявність антигенів вірусів, проб					
			ІРТ	ВД	ПГ-3	РСІ	РВ	КВ
№ 1	Харківська	клінічний	—	+	—	+	—	—
№ 2		патологічний	—	—	—	+	+	—
№ 3		клінічний	+	—	—	+	н/д	н/д
№ 4		клінічний	+	—	—	—	н/д	н/д
№ 5		патологічний	+	+	—	—	+	+
№ 6	Кіровоградська	клінічний	—	—	+	+	н/д	н/д
№ 7	Сумська	патологічний	—	—	—	—	н/д	н/д
№ 8	Черкаська	клінічний	—	—	—	+	+	—
№ 9	Чернігівська	клінічний	—	—	—	—	н/д	н/д
№ 10		клінічний	—	+	+	—	н/д	н/д
№ 11		клінічний	—	—	—	—	н/д	н/д
№ 12		патологічний	—	—	—	+	н/д	н/д
№ 13	Запорізька	патологічний	—	+	—	—	+	+
№ 14	Одеська	клінічний	—	—	—	—	н/д	н/д
№ 15		патологічний	—	+	+	—	—	—
№ 16		клінічний	+	—	+	+	н/д	н/д
№ 17	Херсонська	патологічний	+	—	—	+	+	+
№ 18	Миколаївська	патологічний	+	—	+	—	н/д	н/д
Всього			6 (33 %)	5 (28 %)	5 (28 %)	8 (44 %)	5 (27 %)	3 (16 %)

За результатами проведених лабораторних досліджень за допомогою реакції імунофлюоресценції (РІФ) визначено, що антигени вірусів ІРТ, ВД, ПГ-3 та РСІ виявляли у тварин незалежно від того, чи було впроваджено в господарстві з метою профілактики пневмоентеритів засоби специфічної профілактики, чи ні. Слід зазначити, що антигени вірусів ІРТ виявляли у 33,3 % випадків, збудників ВД та ПГ-3 — у 27,7 % випадків, а вірусу РСІ — у 44 % випадків. Крім цього, за результатами дослідження клінічного матеріалу за допомогою РГА/РЗГА встановлено, що відсоток випадків прояву ентеритів у новонароджених телят з причини циркуляції у стаді ВРХ збудників рота- та коронавірусної інфекції становив 27 та 16 % відповідно. Загалом, за результатами клінічних і лабораторних досліджень встановлено реєстрацію значно більшого відсотку випадків прояву у тварин респіраторного, аніж діарейного синдромів.

Аналізом планів протиепізоотичних заходів кожного конкретного господарства визначено, що у 80,0 % випадків в якості засобу специфічної профілактики використовували імпортований препарат, що вміщував атенуйований штам того чи іншого вірусу (табл. 1, рис.).



**Рис.** Результати аналізу планів протиепізоотичних заходів щодо профілактики пневмоентеритів ВРХ.

За результатами проведеного аналізу визначено, що у більшості випадків з метою профілактики пневмоентеритів ВРХ у господарствах України використовували наступні імпортовані засоби специфічної профілактики, до складу яких входять живі атенуйовані штамми вірусів:

- «Хіпрабовіс-4» (атенуйований штам вірусу респіраторно-синцитіальної інфекції);
- «КетлмастерГолд FP5 L5» (атенуйовані штамми вірусів інфекційного ринотрахеїту, парагрипу-3 та респіраторно-синцитіальної інфекції ВРХ);
- Інфорс-3 (атенуйовані штамми вірусів інфекційного ринотрахеїту, парагрипу-3 та респіраторно-синцитіальної інфекції ВРХ);
- Суправак-10 (атенуйовані штамми вірусів інфекційного ринотрахеїту, парагрипу-3 та респіраторно-синцитіальної інфекції ВРХ).

Слід враховувати, що деякі засоби специфічної профілактики, які зареєстровані та активно впроваджуються в Україні, окрім атенуйованих штамів вірусів вміщують 5 та більше різноманітних антигенних компонентів («КетлмастерГолд FP5 L5» — 5 вірусних штамів і 5 серогруп лептоспіри, «Суправак-10» — 6 вірусних і 7 бактеріальних штамів). Причому значне різноманіття компонентів означених препаратів є універсальним для різних країн світу, а як наслідок — не завжди є актуальним для конкретного регіону, а тим більше для країни (як то штамми вірусу діареї 2 типу, деякі сероварилептоспіри, що входять до складу препаратів «КетлмастерГолд FP5 L5» та «Суправак-10»). Таким чином, наявність атенуйованих штамів вірусів, значна кількість компонентів, що можуть призвести до розвитку так званої «конкуренції антигенів», неактуальність



деяких із них для тієї чи іншої території може призводити до непрогнозованої імунної відповіді в організмі тварини.

Слід зазначити, що у всіх означених випадках спостерігали циркуляцію збудників ІРТ, ВД та РСІ саме в господарствах, в яких використовують вакцини, що містять живі атенуйовані штами вищеозначених збудників. Аналізом результатів клінічного обстеження поголів'я виявлено, що захворюваність тварин на пневмоентерити в господарствах, де було запроваджено засоби специфічної профілактики, не перевищувала 15 %, смертність з причин означених хвороб — 6 %. Перебіг захворювання не характеризувався загостренням, у більшості випадків мав хронічний прояв. У тварин реєстрували деяке прискорення дихання, сухий кашель, серозні витікання з носу, кон'юнктивіти. У поодиноких випадках спостерігали незначне підвищення температури тіла, пригнічений стан у тварин.

Результатами комплексного вірус-бактеріологічного дослідження було визначено, що у всіх означених тварин окрім збудників пневмоентеритів вірусної етіології виявляли секундарну бактеріальну мікрофлору, яка і призводила до виникнення захворювання з проявом респіраторного синдрому (табл. 4).

**Таблиця 4** — Результати дослідження біологічного матеріалу від ВРХ з ознаками респіраторного синдрому за допомогою бактеріологічного методу

Господарство	Область	Матеріал	Наявність бактеріальних збудників
№ 1	Харківська	клінічний	<i>Neisseria</i> spp., <i>Mycoplasma</i> spp.
№ 2		патологічний	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Mycoplasma</i> spp., <i>Candida albicans</i>
№ 3		клінічний	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Mycoplasma</i> spp., <i>Neisseria</i> spp., <i>Candida albicans</i>
№ 4		клінічний	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Mycoplasma bovis</i> , <i>Candida albicans</i>
№ 5		патологічний	<i>Pasteurella multocida</i> (серотип А), <i>Neisseria</i> spp., <i>Clostridium difficile</i>
№ 6	Кіровоградська	клінічний	<i>Pasteurella multocida</i> (серотип А та D), <i>Candida albicans</i>
№ 7	Сумська	клінічний	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Neisseria</i> spp.
№ 8	Черкаська	клінічний	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Mycoplasma</i> spp., <i>Neisseria</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp., <i>Aspergillus fumigatus</i>
№ 9	Чернігівська	клінічний	—
№ 10		клінічний	<i>Mycoplasma</i> spp., <i>Neisseria</i> spp.
№ 11		клінічний	—
№ 12		клінічний	<i>Pasteurella multocida</i>
№ 13	Запорізька	патологічний	<i>Pasteurella multocida</i>
№ 14	Одеська	клінічний	—
№ 15		патологічний	<i>Pasteurella multocida</i> (серотип D), <i>Mycoplasma</i> spp., <i>Pasteurella haemolytica</i>
№ 16		клінічний	<i>Pasteurella multocida</i>
№ 17	Херсонська	патологічний	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Mycoplasma</i> spp., <i>Neisseria</i> spp.
№ 18	Миколаївська	патологічний	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Neisseria</i> spp.

За результатами проведених досліджень встановлено, що в усіх випадках прояву захворювання серед тварин з респіраторним синдромом, у господарствах, де не використовували засоби специфічної профілактики та на підприємствах, де запроваджено використання вакцинних препаратів, що вміщують живі атенуйовані штами вірусів, ідентифіковано наступні бактеріальні збудники: *Neisseria* spp., *Mycoplasma* spp., *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium* spp., які ускладнювали перебіг захворювання. На нашу думку, ці складні вірус-бактеріальні асоціації в господарствах, де

запроваджено заходи специфічної профілактики пневмоентеритів з використанням живих атенуйованих штамів вірусів, виникають по причині перенавантаження імунної системи тварин за рахунок циркуляції в господарствах означених вірусних збудників (вакцинних чи епізоотичних штамів), а також використання засобів специфічної профілактики, які вміщують 5 та більше антигенів, частина з яких — атенуйовані. До того ж, було відмічено, що в означених господарствах, на фоні циркуляції вакцинних штамів вірусних збудників, виявляли дріжджеподібні гриби *Candida albicans*. Це є показником ураження імунокомпетентних органів і свідчить про імуносупресивний стан у вакцинованих тварин. Слід зазначити, що виявлення означеного збудника приводило до виникнення стійких бактеріальних асоціацій, які, у більшості випадків, були нечутливими до антибактеріальних препаратів. Цей факт ще більше ускладнює непросту епізоотичну ситуацію в господарствах, де впроваджено вакцинопрофілактику з використанням препаратів, до складу яких входять живі атенуйовані штами вірусів.

Що стосується господарств, де система профілактики зі збудниками вірусних пневмоентеритів впроваджена не була, клінічний прояв захворювання у вигляді респіраторного синдрому спостерігали здебільшого у молодняка 20-добового–6-місячного віку. Захворювання характеризувалось серозним або серозно-гнійним витіканням із носу у телят, наявністю гіперемії та почервоніння носового дзеркальця, наявністю сухого кашлю, задишки, чиханням, іноді наявністю піни у кутках рота, виснаженням, відставанням у рості та загибеллю. Що стосується маточного поголів'я, то здебільшого у тварин відмічали пустульозні вульвовагініти та оварііти, які призводили до порушення репродуктивної функції корів та збільшення відсотка тварин з багаторазовими незаплідненими осіменіннями. Крім цього, захворювання ускладнювались маститами, ендометритами та загибеллю плода. Слід зазначити, що захворюваність в таких господарствах була на рівні 50–80 %, а втрати молодняка становили 25–40 % за рахунок загибелі телят і вимушеного забою особин, що були не життєздатними.

Загалом, за результатами проведених досліджень визначено, що як у випадку використання в господарстві вакцинних препаратів, так і за їх відсутності найчастіше етіологічними агентами, що призводили до загибелі тварин, були збудники *Neisseria* spp., *Mycoplasma* spp. та *Pasteurella multocida*, які підсилювали свою вірулентність за рахунок циркуляції у стаді ВРХ епізоотичних чи вакцинних штамів вірусів ІРТ, ВД та РСІ.

Таким чином, проведеним клініко-епізоотологічним аналізом встановлено, що тривале використання (більше одного року) у господарствах засобів специфічної профілактики, до складу яких входять живі атенуйовані штами вірусів, на фоні покращення епізоотичної ситуації щодо ІРТ, ВД та РСІ, може призводити до виникнення імуносупресивного стану у тварин та ускладнення епізоотичної ситуації секундарними бактеріальними інфекціями. Натомість, використання в господарстві з метою профілактики вірусних пневмоентеритів препаратів, сконструйованих з інактивованих вірусних збудників, до того ж актуальних для України, може забезпечити стійке благополуччя щодо пневмоентеритів вірусної етіології. Головною умовою їх застосування є використання препаратів, що виготовлені з дотриманням усіх вимог, мають відповідну реєстрацію на території України, зберігаються та використовуються у відповідності до вимог виробника. Відмова від використання з метою профілактики та боротьби з вірусними пневмоентеритами засобів специфічної профілактики може призвести до погіршення епізоотичної ситуації та ускладнення захворювання тварин секундарною мікрофлорою.

**Висновки.** 1. За результатами проведених досліджень встановлено, що захворюваність тварин на пневмоентерити в господарствах, де було запроваджено засоби специфічної профілактики не перевищувала 15 %, смертність з причин означених хвороб — 6 %, тоді як в господарствах, де специфічна профілактика не впроваджена, ці показники були на рівні 50–80 % та 25–40 % відповідно.

2. Встановлено, що тривале використання в господарствах засобів специфічної профілактики, до складу яких входять живі атенуйовані штами вірусів, на фоні покращення епізоотичної ситуації щодо ІРТ, ВД, ПГ-3 та РСІ призводить до ускладнення епізоотичної ситуації секундарними бактеріальними інфекціями (*Neisseria* spp., *Mycoplasma* spp., *Pasteurella* spp. та інші).

3. Використання в господарствах з метою специфічної профілактики пневмоентеритів ВРХ препаратів, сконструйованих з інактивованих вірусних збудників, до того ж актуальних саме для

України, може забезпечити стійке благополуччя щодо захворювань з проявом респіраторного синдрому вірусної етіології.

#### Список літератури

1. Мищенко В. А. Особенности массовых ассоциированных респираторных заболеваний взрослого крупного рогатого скота. *Ветеринария Кубани*. 2011. № 3. С. 13–15.
2. Прохорятова О. В. [та ін.] Визначення основних причин поширення інфекційних пневмоентеритів великої рогатої худоби в сучасних умовах. *Ветеринарна медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* 2017. Вип. 103. С. 209–213.
3. Fulton R. W. [et al.] Bovine viral diarrhea viral infections in feeder calves with respiratory disease: Interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2000. Vol. 64. P. 151–159.
4. Напненко О. О. Нова вакцина проти інфекційного ринотрахеїту, парагрипу-3 та вірусної діареї великої рогатої худоби. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*. 2014. Вип. 15, № 2–3. С. 299–303.
5. Miles E. [et al.] Systematic review and meta-analysis of the effectiveness of commercially available vaccines against bovine herpes virus, bovine viral diarrhea virus, bovine respiratory syncytial virus, and parainfluenza type 3 virus for mitigation of bovine respiratory disease complex in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2015. Vol. 246, No. 1. P. 126–142.
6. Головка А. Н. [и др.] Микробиологические и вирусологические методы исследования в ветеринарной медицине : справочное пособие. Харьков : НТМТ, 2007. 524 с.

#### THE EFFICIENCY OF DIFFERENT APPROACHES TO THE PREVENTION AND CONTROL OF BOVINE PNEUMOENTERITIS

**Kornieikov O. M., Prokhoriatova O. V., Kolchik O. V., Oleshko A. Yu., Borodai N. I.**

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

**Al Jabari Munir**

*Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine*

*The aim of the work was to study peculiarities of the course of infectious bovine pneumoenteritis and the efficiency of the introduction of different approaches to its control and prevention. Clinical-epizootological, serological and microbiological methods have been used in the work. To prevent viral pneumoenteritis, 83.4% of farms use vaccine against infectious bovine rhinotracheitis, viral diarrhea, parainfluenza-3, and respiratory syncytial infection in form of combined preparation, 80% of which included live attenuated viral strains. Against the background of a high level of humoral immune response, animals were found to have viral antigens of bovine rhinotracheitis, viral diarrhea, parainfluenza-3 and respiratory syncytial infection, regardless of whether they used specific prophylaxis or not. The only differences were in the clinical manifestation and incidence rate in animals. Prolonged use of specific prophylactic agents, which include live attenuated viral strains, in contrast to inactivated preparation, led to the aggravation of the epizootic situation on farms by bacterial infections. Based on the results of the conducted studies, the incidence rate of pneumoenteritis in animals on farms, where specific prophylactic agents are used, was found not to exceed 15%, the mortality rate due to these diseases was 6% whereas on farms where the specific prophylaxis was not introduced, these values were at the level of 50–80% and 25–40% respectively. Prolonged use of combined vaccines, which include live attenuated viral strains, against the background of the improvement of the epizootic situation on bovine rhinotracheitis, viral diarrhea, parainfluenza-3 and respiratory syncytial infection, lead to the aggravation of the epizootic situation by bacterial infections. Use of preparation containing inactivated viral strains relevant to Ukraine can ensure sustainable well-being regarding bovine pneumoenteritis*

**Keywords:** *attenuated strains, bacterial agents, vaccine, cattle, viruses, viral diarrhea, bovine rhinotracheitis, parainfluenza-3, respiratory syncytial infection, specific antibodies*

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

УДК 619:616-092.4:615.28.099.036.11:636.932.028

DOI 10.36016/VM-2019-105-10

### ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ, АЛЕРГІЗУЮЧОЇ ТА МІСЦЕВО-ПОДРАЗНЮВАЛЬНОЇ ДІЇ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТУ «ЙОДОЗОЛ»

**Сачук Р. М., Жигалюк С. В., Лук'яник І. М.**

Дослідна станція епізоотології Інституту ветеринарної медицини НААН, Рівне, Україна, e-mail: [sachuk.08@ukr.net](mailto:sachuk.08@ukr.net)

**Мандигра М. С.**

Національна академія аграрних наук України, Київ, Україна, e-mail: [mandyhra.iawp@gmail.com](mailto:mandyhra.iawp@gmail.com)

**Стравський Я. С.**

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна, e-mail: [y.stravskyy@ukr.net](mailto:y.stravskyy@ukr.net)

**Кацараба О. А.**

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Львів, Україна, e-mail: [katsaraba@gmail.com](mailto:katsaraba@gmail.com)

У статті наведені результати вивчення гострої токсичності препарату «Йодозол», призначеного для лікування та профілактики внутрішньоматкових інфекцій у тварин. Встановлено, що ЛД<sub>50</sub> препарату за внутрішньошлункового введення лабораторним тваринам (білим щурам і мишам) є більшою за 5 000 мг/кг маси тіла. Аерозоль «Йодозол» не має місцевої токсичної та подразнювальної дії на шкіру і слизові оболонки лабораторних тварин (кролів), не впливає на поведінкові реакції та фізіологічні показники лабораторних тварин. Розроблений препарат «Йодозол» згідно з вимогами СОУ 85.2-37-736:2011 та ГОСТ 12.1.007-76 належить до малотоксичних речовин — 4-го класу токсичності

**Ключові слова:** гостра токсичність, йод, «Йодозол», калію йодид, післяродова патологія

У нозології акушерської патології корів особливе місце займають післяродові ураження статевих органів патогенною мікрофлорою. Інфекція, що розпочинається як місцевий запальний процес, згодом може поширюватись родовими, кровоносними і лімфатичними шляхами, зумовлюючи не лише захворювання органів статевої системи, а й усього організму [1].

Пошукам новітніх терапевтичних схем та розробці лікувально-профілактичних засобів для корів із акушерською патологією приділяється значна увага як вітчизняних, так і зарубіжних дослідників. У наш час після отелення використовують протимікробні та протизапальні препарати. На жаль, стандартні схеми застосування сучасних антимікробних препаратів не завжди забезпечують достатній терапевтичний ефект і призводять до розвитку резистентності у мікроорганізмів, інколи стимулюють розвиток мікроміцетів, а також пригнічують окремі природні механізми локального та загального антимікробного захисту. Також необхідно враховувати, що утворення складок на слизовій матки після родів, знижує ефективність дії супозиторіїв, які широко використовуються у ветеринарній практиці, не гарантує рівномірного розподілу антимікробних речовин у порожнині матки, а отже повної її санації. Тому, для лікування післяродових інфекцій у тварин краще застосовувати високоефективні антибіотики нових поколінь (наприклад, цефалоспорины) або йодовмісні препарати у різних препаративних формах [1, 2].

Перспективним є застосування нової розробки Приватного підприємства «Біофарм» і Дослідної станції епізоотології Інституту ветеринарної медицини Національної академії аграрних

наук України — аерозольного внутрішньоматкового препарату «Йодозол», до складу якого входить йод та калію йодид. Застосовують препарат для профілактики та лікування післяродових внутрішньоматкових інфекцій у корів, свиней, овець і кіз (ендометритів, пірометри, цервіцитів, вагінітів, спричинених чутливими до йоду мікроорганізмами), після надання рододопомоги, кесаревого розтину, лікування затримки посліду, післяродової санації матки [3].

Обов'язковою умовою реєстрації нових лікарських препаратів є проведення попередніх доклінічних досліджень на лабораторних тваринах, а зокрема визначення гострої токсичності, що зможе визначити характер і вираженість можливої шкідливої дії лікувального препарату на організм піддослідних об'єктів [4, 5].

**Метою** роботи було визначити параметри у дослідах на лабораторних тваринах гострої токсичності, алергізуючої та місцево-подразнювальної дії препарату «Йодозол», призначеного для внутрішньоматкового застосування.

**Матеріали та методи.** Дослідження гострої токсичності препарату «Йодозол» (ТОВ «ДЕВІЕ»), смт Літин, Україна, аерозольний балон ємністю 53 мл, 1 мл препарату містить йоду — 5 мг і калію йодиду — 10 мг), проведені на 90 білих мишах 8–9-тижневого віку, масою 18–20 г і 30 білих щурах 3–4-місячного віку, масою тіла 165–180 г. Дослідних тварин утримували у віварії Дослідної станції епізоотології ІВМ НААН згідно зі стандартними санітарними нормами, на необхідному раціоні [5, 6]. Усі дослідження виконано згідно з правилами «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» [9]. Розрахунок ЛД<sub>50</sub> здійснювали методом Літчфілда і Уїлкоксона в модифікації З. Рота [5] і методиками, викладеними у виданні «Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів» (2006) [6].

Перед дослідженнями гризунів поділили на 6 груп (відповідно, мишей — по 15, щурів — по 5 особин у кожній). За 24 год до введення препарату тварин обмежили у доступі до корму. Дослідним групам «Йодозол» вводили внутрішньошлунково, натще, після чого тварин утримували ще 4 год без їжі з вільним доступом до води. За схемою експерименту, відповідно до СОУ 85.2-37-736:2011 та ГОСТ 12.1.007-76 [8, 10], лікувальний засіб випробувано у дозуваннях (на абсолютну масу препарату), що у дослідних групах послідовно зростали від 5 000 до 25 000 мг/кг, з інтервалом 5 000 мг/кг. Об'єм випробуваного лікарського засобу не перевищував 0,5 мл — для мишей і 2,0 мл — для щурів. У експерименті використано препарат без пропелентів. Контрольній групі тварин протягом усього досліду не вводили жодних препаратів. Лімітуючим фактором була фізіологічна можливість внутрішньошлункового введення максимально-допустимої дози препарату. Термін спостереження за тваринами при вивченні гострої токсичності, згідно з методичними рекомендаціями, склав 2 тижні [5]. Оцінювали клінічний стан за наявністю апетиту, станом волосяного покриву та слизових оболонок, поведінковими реакціями, руховою активністю, нірковим рефлексом, динамікою маси тіла. Проводили тест «відкрите поле», під час якого мишей поміщали в центр прямокутного поля 140×70 см, розділеного на квадрати 10×10 см, з отворами у довільному порядку. Фіксували латентний період та час виходу з них. Під час посадки, перед фіксуванням показників, тварин для заспокоєння накривали темним ковпаком на 1 хв. Враховували також кількість квадратів, куди зайшла тварина (горизонтальна рухова активність), кількість підведень на тазові кінцівки («вертикальна стійка»), кількість «нірок», які обнюхала та в які заглянула тварина, кількість умивань (актів грумінгу), уринацій та дефекацій. Усі тести проводили по три рази.

В основу вивчення алергізуючої та місцево-подразнюючої дії препарату були покладені стандартні методики [5–7]. На першому етапі визначали місцево-подразнюючу дію досліджуваного препарату на шкіру кролів. Для досліду було відібрано шість особин кролів-аналогів, масою 2,5–3,0 кг. На попередньо виголену ділянку шкіри кролів, що склала 6×6 см за допомогою піпетки наносили препарат у дозі 2,0 мл/см<sup>2</sup> (що становило 8 000 мг/кг маси тіла на абсолютну масу препарату) і рівномірно розподіляли на поверхні шкіри. Досліджуваний засіб наносили відкритим способом за температури навколишнього середовища 18–24 °С. Аналогічна за розміром виголена ділянка шкіри на протилежному боці слугувала контролем. Реакцію шкіри дослідних тварин оцінювали через 1, 4, 8, 12 та 16 год після однократної аплікації. Функціональний стан шкіри на ділянці аплікації препарату оцінювали за наявністю та інтенсивністю прояви еритеми та набряку; інтенсивність ознак оцінювали у балах: 0 балів —

відсутність еритеми; 1 бал — слабе почервоніння (рожеве забарвлення); 2 бали — видиме почервоніння (рожево-червоний відтінок); 3 бали — почервоніння від видимого до значного (червоний відтінок); 4 бали — чітко виражена еритема (яскраво-червоний відтінок) з наступним утворенням кірочок.

Другий етап досліду полягав у вивченні місцево-подразнювального впливу препарату на слизові оболонки очей. Дослід проводили на восьми особинах кролів. Кожній тварині в нижнє кон'юнктивальне склепіння правого ока з піпетки вносили одноразово дві краплі розчину препарату та нативний препарат. Ліве око слугувало контролем — у нього вносили дві краплі дистильованої води. Після внесення носослізний канал перетискали на 30 с. Реакцію спостерігали візуально через 30 хв.; 1, 6, 24 та 48 годин за станом слизової оболонки і кон'юнктиви та реєстрували прояви подразнення (блефароспазм, птоз, слезотечу, ін'єкцію судин, набряк повік) та інтенсивність прояву ознак (табл.) [11, 12].

Статистичну обробку результатів виконано за загальноприйнятою методикою [13].

**Результати досліджень.** Експериментально встановлено, що після внутрішньошлункового введення препарату в дозах: 5 000, 10 000, 15 000, 20 000 та 25 000 мг/кг загибелі тварин у жодній з експериментальних груп не було (табл. 1).

**Таблиця 1** — Результати дослідження гострої токсичності препарату «Йодозол» при внутрішньошлунковому шляху введення

Шлях введення препарату	№ групи	Тварина	Доза, мг/кг	Загинули тварини/ виживші тварини
Внутрішньошлунковий	1	миші	5 000	0/15
		щури	5 000	0/5
	2	миші	10 000	0/15
		щури	10 000	0/5
	3	миші	15 000	0/15
		щури	15 000	0/5
	4	миші	20 000	0/15
		щури	20 000	0/5
	5	миші	25 000	0/15
		щури	25 000	0/5

Протягом визначення гострої токсичності препарату «Йодозол» суттєвих змін у поведінці дослідних тварин не спостерігали. Спостереження за емоційно-поведінковими реакціями гризунів після введення препарату «Йодозол» у дозах 5 000–25 000 мг/кг не виявило істотного впливу на нервову систему. Хоча у тварин, які отримували «Йодозол» дозою 25 000 мг/кг, знижувалася рухова активність (кількість перейдених квадратів) і реакція огляду (кількість стоячих поз), зменшувалася кількість умивань, однак поступово стан організму гризунів відновлювався. У цілому дослідницька (кількість обнюхувань та заглядань) та емоційна (кількість дефекацій та мічень) реакції не відрізнялися у контрольної та дослідних групах (табл. 2).

**Таблиця 2** — Показники фізіологічного стану та активності білих мишей за введення препарату «Йодозол» ( $M \pm m$ ,  $n = 15$ )

Група тварин/доза препарату, мг/кг	Апетит	Поведінкова реакція	Вертикальна рухова активність
контрольна	задовільний	нирковий рефлекс збережений	$5,00 \pm 0,08$
1-ша дослідна/5 000	задовільний	нирковий рефлекс збережений	$4,51 \pm 0,14^{**}$
2-га дослідна/10 000	задовільний	нирковий рефлекс збережений	$4,36 \pm 0,05^{***}$
3-тя дослідна/15 000	задовільний	нирковий рефлекс збережений	$4,77 \pm 0,11$
4-та дослідна/20 000	задовільний	нирковий рефлекс збережений	$4,41 \pm 0,1^{***}$
5-та дослідна/25 000	задовільний	нирковий рефлекс збережений	$4,59 \pm 0,1^{***}$

Примітки: \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$  відносно контролю.

Клінічні показники тварин дослідних і контрольної груп за період досліджень істотно не відрізнялися. Відзначали незначне збільшення маси тіла дослідних і контрольних тварин протягом експерименту. Також відмічено порівняно нижчий відсоток збільшення загальної маси у мишей п'ятої групи, які отримували препарат «Йодозол» у максимальній дозі — 25 000 мг/кг (табл. 3).

**Таблиця 3** — Динаміка маси тіла білих мишей за визначення гострої токсичності препарату «Йодозол» ( $M \pm m$ ,  $n = 15$ )

Група тварин/доза препарату, мг/кг	Маса тіла, г				
	до початку досліджу		у кінці досліджу		
	загальна по групі	середня однієї тварини	загальна по групі	середня однієї тварини	приріст загальної маси, %
контрольна	273,3	18,22 ± 0,08	292,9	19,53 ± 0,08	7,2
1-ша дослідна/5 000	274,4	18,29 ± 0,09***	287,5	19,17 ± 0,03	4,8
2-га дослідна/10 000	271,9	18,13 ± 0,04	288,1	19,21 ± 0,04	6,0
3-тя дослідна/15 000	273,4	18,23 ± 0,05	287,8	19,19 ± 0,04	5,3
4-та дослідна/20 000	271,5	18,10 ± 0,09	287,5	19,17 ± 0,03	5,9
5-та дослідна/25 000	274,3	18,28 ± 0,05***	286,80	19,12 ± 0,03	4,6

Примітка: \*\*\* —  $p < 0,001$  відносно контролю «до початку досліджу» та «в кінці досліджу».

Дослідження алергенних властивостей за щоденної аплікації препарату на шкіру кролів показали відсутність набряку та потовщення шкірної складки на місці нанесення. Після проведення скарифікаційної проби у тварин дослідних та контрольної груп не виявлено ознак реакцій гіперчутливості негайного типу та гіперчутливості уповільненого типу, що свідчить про відсутність у препараті «Йодозол» подразнювальної дії на шкіру. У кон'юнктивальних пробах «Йодозол» не мав подразнювальної дії на слизову оболонку очей, очевидна реакція кон'юнктиви відсутня, що відповідає 0 балам за шкалою оцінки. У період проведених досліджень усі тварини залишалися активними, їх вага не зменшилася. Відхилень від нормальних поведінкових реакцій не спостерігали.

У результаті досліджень місцево подразнювального впливу препарату на шкірні покриви кролів встановлено, що одноразові аплікації не спричиняють ушкоджень у вигляді еритем, набряків і потовщень шкіри.

**Висновки.** 1. Застосування препарату «Йодозол», навіть у найбільшій випробуваній дозі — 25 000 мг/кг (за абсолютною масою препарату), не впливає на поведінкові реакції та фізіологічні показники лабораторних тварин.

2. Препарат «Йодозол» не чинить місцевої токсичної та подразнювальної дії на шкіру та слизові оболонки кролів. За одноразового нанесення на шкірні покриви лікарського засобу у дозі 2,0 мл/см<sup>2</sup> (8 000 мг/кг маси тіла) констатували відсутність запальної реакції у місці аплікації, свербіж, розчосів, виразок та алопецій, а товщина шкірної складки не змінювалася.

3. Розроблений препарат «Йодозол» згідно з вимогами СОУ 85.2-37-736:2011 та ГОСТ 12.1.007-76 належить до малотоксичних речовин — 4-го класу токсичності.

#### Список літератури

1. Стравський Я. С. Діагностика, лікування та профілактика акушерської патології у корів (методичні рекомендації) / Я. С. Стравський [та ін.]. — Львів, 2017. — 67 с.
2. Кацараба О. А. Застосування внутрішньоматкового аерозольного препарату для терапії корів при післяродових ускладненнях / О. А. Кацараба, В. Ю. Стефаник, Є. Є. Костишин, Р. М. Сачук, О. В. Кулініч // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. — Львів, 2018. — Т. 20, № 87. — С. 55–59.
3. Сачук Р. М. Дослідження стабільності внутрішньоматкового аерозольного препарату «Йодозол» / Р. М. Сачук, О. А. Кацараба // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. — Львів, 2018. — Т. 20, № 92. — С. 29–33.
4. Закон України «Про ветеринарну медицину» від 25 червня 1992 р. № 2498-XII (зі змінами і доповненнями) [Електронний ресурс]. — Режим доступу : <https://zakon.rada.gov.ua/laws/2498-12>.



5. Коцюмбас І. Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега [та ін.] ; за ред. І. Я. Коцюмбаса. — Львів : Тріада плюс, 2006. — 360 с.
6. Косенко М. В. Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин : методичні рекомендації / М. В. Косенко, О. Г. Малик, І. Я. Коцюмбас [та ін.]. — Київ, 1997. — 34 с.
7. Западнюк І. П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте : учеб. пос. / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. — Киев : Вища школа, 1983. — 383 с.
8. СОУ 85.2-37-736:2011. Препарати ветеринарні. Визначення гострої токсичності. — Київ : Мінагрополітики України, 2011. — 16 с.
9. WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects [Electronic resource] / World Medical Association. — 2013. — Access mode : <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>.
10. ГОСТ 12.1.007-76. ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. — Введ. 1977-01-01 ; Измен. № 1 ; Переиздан 01.12.81. — Москва : Изд-во стандартов, 1982. — 6 с.
11. Куцан О. Т. Вивчення впливу лікувального засобу «Нурицид» на клінічний стан та гематологічні показники кролів за умови аплікації його на шкіру тварин / О. Т. Куцан, О. В. Пономаренко // Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб. / ІЕКВМ УААН. — Харків, 2003. — Вип. 82. — С. 343–349.
12. Нагорна Л. В. Фармако-токсикологічна оцінка препарату «Цифлур» / Л. В. Нагорна // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. — Львів, 2016. — Т. 18, вип. № 3(71). — С. 214–217.
13. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. — Минск : Высшая школа, 1973. — 318 с.

### RESEARCH OF ACUTE TOXICITY, ALLERGIZING AND LOCAL-IRRITATIVE ACTION OF THE VETERINARY DRUG “YODOZOL”

**Sachuk R. M., Zhyhalyuk S. V., Lukyanik I. M.**

*Research Epizootology Station of the Institute of Veterinary Medicine of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Rivne, Ukraine*

**Mandyhra M. S.**

*National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

**Stravsky Ya. S.**

*Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine*

**Katsaraba O. A.**

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

*The purpose of the work was to determine, in experiments on rodents, the parameters of acute toxicity, allergenic and locally irritative effects of iodine-containing uterine drug for the treatment and prevention of intrauterine infections of animals. Materials and methods. Preclinical studies of acute toxicity of “Yodosol” containing iodine and potassium iodide were performed on 90 white mice, 30 white outbred rats and 6 rabbits. Clinical, pharmacotoxicological and statistical methods were used. Results of work. It has been found that at intragastric administration in experimental rats and mice,  $DL_{50}$  values exceed 8,000 mg/kg body weight and have no effect on the behavioral responses and physiological parameters of laboratory animals. It has been investigated that “Yodosol” aerosol has no local toxic and irritant effects on the skin and mucous membranes of laboratory animals (rabbits). Conclusions. The use of the drug «Yodosol», in doses above 8,000 mg/kg body weight, does not affect the behavioral responses and physiological parameters of laboratory animals. The drug has no local toxic and irritant effects on the skin and mucous membranes. According to the requirements of SOU 85.2-37-736:2011 and GOST 12.1.007-76, the newly developed drug “Yodosol” belongs to low-toxic substances — 4 toxicity classes.*

**Keywords:** acute toxicity, iodine, potassium iodide, “Yodosol”, postpartum pathology.

## ЕФЕКТИВНІСТЬ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ «ГУАНІДЕЗ» НА ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ БДЖІЛ У ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ

Сіренко О. С., Десятникова О. В., Гур'єва В. Б.

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

Визначено високі дезінфікуючі властивості дослідного засобу «Гуанідез» відносно збудників гнильцевих захворювань бджіл. За результатами досліджень складено технологічний регламент виготовлення препарату: полігексаметиленгуанідину-гідрохлорид у концентрації не менше 20,0 %, перекис водню в концентрації не менше 35,0 % та ДМСО — 0,05 %.

**Ключові слова:** бджоли, гнильці, «Гуанідез», дезінфекція.

Невід'ємною складовою технології виробництва продукції бджільництва є дотримання гігієнічних правил при догляді за бджолиними сім'ями, отриманні різних видів продукції. Особливої уваги вимагає проведення ветеринарних заходів, спрямованих на профілактику та ліквідацію масових захворювань бджолиних сімей [1–4]. Пошук ефективних профілактичних засобів із груп фармацевтичних сполук лікарських рослин або біологічних засобів — першочергове завдання ветеринарного фахівця. Найголовнішим критерієм відбору повинна бути безпечність засобів для довкілля у зв'язку з тим, що мед, як харчовий продукт, вживається без переробки. Застосування профілактичних засобів і проведення своєчасної дезінфекції надає змогу відмовитись від використання антибіотиків у бджільництві, а також покращити фізіологічний стан бджіл та отримувати екологічно чисту продукцію від сімей бджіл [5–7].

Серед відомих інфекційних захворювань медоносних бджіл найбільшу небезпеку представляють гнильцеві хвороби: американський, європейський гнилець. Ці захворювання мають схожі клінічні ознаки та вражають печатний і відкритий розплід робочих бджіл і трутнів [8]. З метою удосконалення заходів боротьби та профілактики з інфекційними хворобами бджіл у ННЦ «ІЕКВМ» розроблено новий дезінфікуючий засіб «Гуанідез», до складу якого включено три компоненти: полігексаметиленгуанідин, перекис водню та диметилсульфоксид.

З метою підтвердження бактерицидних властивостей засобу «Гуанідез» і можливості його застосування безпосередньо у бджільництві були проведені лабораторні випробування засобу та його компонентів.

**Мета роботи.** Вивчити дію дезінфікуючого засобу «Гуанідез» на збудників інфекційних захворювань бджіл у лабораторних умовах.

**Матеріали та методи.** Було випробувано дезінфікуючі властивості полігексаметиленгуанідину-гідрохлориду (ПГМГ-гх) і перекису водню, а також сумісно обох речовин, як компонентів засобу «Гуанідез» із додаванням диметилсульфоксиду (ДМСО). Для досліджень використовували: стерильні предметні скельця, смужки зі шпону, на які наносили суспензії спорових клітин у концентрації  $(10 \times 10^6 \pm 0,5)$  клітин/см<sup>3</sup> — збудників гнильцевих захворювань бджіл *Paenibacillus alvei*, *Paenibacillus larvae*, *Melissococcus pluton*; шматочки стільників від сімей, уражених збудниками гнильцевих захворювань бджіл.

Дослідні тест-об'єкти обробляли розчинами різних концентрацій (від 0,5 до 10 %) засобу «Гуанідез» методами зрошення та занурення на певний час (2, 4, 6, 8, 24, 48 годин), контрольні — стерильним фізіологічним розчином. Потім тест-об'єкти промивали водою та висушували. Надалі з кожного тест-об'єкту готували змиви відповідно до «Методичних вказівок по диференційній діагностиці інфекційних хвороб бджіл» [9], які висівали на спеціальні середовища (Уілліса-Гобза, МПА, Черепова) та інкубували у термостаті за температури  $24 \pm 1$  і  $37 \pm 1$  °C протягом 14 діб з подальшою ідентифікацією збудників. Упродовж вказаного терміну реєстрували наявність чи відсутність росту культур мікроорганізмів для оцінки ефективності дезінфікуючого засобу [10–12]. Дослідження на комах проведено з урахуванням принципів біоетики. У лабораторних дослідженнях використовували медоносних бджіл *Apis mellifera* L, які не є видом, що

охороняється законом чи знаходиться під загрозою зникнення. Для лабораторних досліджень отримували бджіл із сімей, що утримувались на пасіці, яка належить ННЦ «ІЕКВМ». Утримання, догляд за бджолами та їх годівля здійснювалися згідно з нормами та раціонами, рекомендованими для даного виду комах [10]. Польові дослідження проводили на приватних пасіках із дозволу власників та у господарствах із дозволу керівництва. Евтаназія особин різних стадій розвитку бджіл проведена шляхом заморожування.

**Результати досліджень.** Випробувано бактерицидні властивості дослідного засобу «Гуанідез» відносно таких культур мікроорганізмів: *Paenibacillus larvae* (збудник американського гнильця), *Melissococcus pluton*, *Paenibacillus alvei* (збудники європейського гнильця), а також дезінфікуючі властивості на тест-об'єктах: дерево щойно відбудованої вощини та стільника двох-трьох років використання. Контролем служив стерильний фізіологічний розчин. Результати досліджень впливу дезінфектанту на збудників гнильцевих захворювань бджіл наведені в табл. 1.

**Таблиця 1** — Чутливість мікроорганізмів до дезінфікуючих речовин (метод серійних розведень) на 48 годину досліджень

Концентрація засобу, %		Культури мікроорганізмів			
		<i>P. alvei</i>	<i>M. pluton</i>	<i>P. larvae</i>	
ПГМГ-гх	1,0	±	–	+	
	1,5	–	–	±	
	2,5	–	–	–	
Перекис водню, 35 %	1,5	+	+	+	
	3,0	+	–	±	
	4,5	–	–	–	
«Гуанідез»	ПГМГ-гх	1,5	–	–	±
		2,0	–	–	–
		3,0	–	–	–
	Перекис водню, 35 %	2,0	–	–	±
		3,0	–	–	–
		4,5	–	–	–
	ДМСО		0,005	–	–
Контроль (фіз. розчин)			+	+	+

Примітки: «+» — наявність росту; «–» — відсутність росту; «±» — сумнівний результат.

За результатами досліджень встановлено, що розведення ПГМГ-гх, яке затримувало зростання усіх мікроорганізмів становило 2,5 %. Перекис водню затримував зростання мікроорганізмів у концентрації 4,5 %.

Засіб «Гуанідез», що являє собою комплекс компонентів: ПГМГ-гх, перекис водню та диметилсульфоксид, показав найкращі результати за умови використання ПГМГ-гх у концентрації 2,0 та 3,0 %, перекису водню 3,0 та 4,5 %, ДМСО — 0,005 на 48-му годину дослідження.

Результати відпрацьовування режимів дезінфекції на найбільш наближених до виробничих умов об'єктах (дереві, з якого виготовлені самі вулики та конструкції стільників, шматочках вощини, що вперше мають контакт зі збудниками гнильців у виробничих умовах і стільників із сімей бджіл, уражених гнильцями) представлені у табл. 2.

ПГМГ-гх не проявив дезінфікуючих властивостей у концентраціях 1,0 та 1,5 %, особливо за умови мінімальної експозиції — 3 год. На стільниках із хворих на гнильці сімей навіть за експозиції 6 год. ПГМГ-гх у концентраціях 1,0 та 1,5 % не проявив ефекту. За використання пергідролі найкращі результати було отримано у концентрації 6 %.

Для остаточного визначення кінцевої робочої концентрації компонентів дослідного засобу «Гуанідез» були проведені дослідження, результати яких представлено у табл. 3.

Із даних табл. 3 видно, що на 48-му годину досліджень найвищі бактерицидні властивості компонентів засобу «Гуанідез» були отримані у концентраціях: ПГМГ-гх — 2,0 %, перекис водню — 3,5 %, ДМСО — 0,05 %. Додавання ДМСО покращило проникнення хімічних речовин у товщу стільників, що сприяло підвищенню ефективності дії дослідних засобів.

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

**Таблиця 2** — Чутливість мікроорганізмів до дезінфікуючих речовин (метод серійних розведень) на 48-му годину досліджень

Концентрація засобу, %		Тест-об'єкт, експозиція, год.								
		вощина			дерево			стіленьник		
		<i>P. alvei</i>	<i>M. pluton</i>	<i>P. larvae</i>	<i>P. alvei</i>	<i>M. pluton</i>	<i>P. larvae</i>	<i>P. alvei</i>	<i>M. pluton</i>	<i>P. larvae</i>
ПГМГ-гх	1,0	+	–	–	+	–	–	+	+	–
	1,5	–	–	–	+	–	–	+	+	–
	2,5	–	–	–	–	–	–	–	–	–
перекис водню, 35 %	1,5	+	+	–	+	+	+	±	+	+
	3,0	±	–	–	±	–	–	±	–	–
	6,0	–	–	–	–	–	–	–	–	–
«Гуанідез»	ПГМГ-гх	2,0	–	–	–	–	–	–	–	–
		2,5	–	–	–	–	–	–	–	–
		3,0	–	–	–	–	–	–	–	–
	перекис водню, 35 %	3,5	–	–	–	–	–	–	–	–
		4,5	–	–	–	–	–	–	–	–
		6,0	–	–	–	–	–	–	–	–
		ДМСО	0,005	–	–	–	–	–	–	–
Контроль (фіз. розчин)		+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітки: «–» — відсутність росту культури *P. larvae*, *M. pluton* та *P. alvei*; «+» — наявність росту культури *P. larvae*, *M. pluton* та *P. alvei*; «±» — сумнівний ріст.

**Таблиця 3** — Чутливість збудників *Penibacillus larvae*, *Melisococcus pluton* та *Penibacillus alvei* до дослідного препарату «Гуанідез» на 48-му годину досліджень

Компоненти препарату	Концентрація, %	Стіленьник із сім'ї, спосіб застосування					
		<i>Penibacillus larvae</i>		<i>Melisococcus pluton</i>		<i>Penibacillus alvei</i>	
		зрошення	занурення	зрошення	занурення	зрошення	занурення
ПГМГ-гх	0,5	–	–	–	–	–	–
	1,0	–	–	–	–	–	–
	2,0	–	–	–	–	–	–
	2,0	–	–	–	–	–	–
	5,0	–	–	–	–	–	–
Перекис водню	0,35	+	+	+	+	+	+
	0,7	±	±	±	±	±	±
	1,5	±	±	±	±	±	±
	3,5	–	–	–	–	–	–
	3,5	–	–	–	–	–	–
ДМСО	0,001	+	+	+	+	+	+
	0,002	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+
	0,05	–	–	–	–	–	–
	0,1	–	–	–	–	–	–
Контроль (фіз. розчин)		+	+	+	+	+	+

Примітки: «–» — відсутність росту культури *P. larvae*, *M. pluton* та *P. alvei* на середовищах; «±» — сумнівний ріст культури *P. larvae*, *M. pluton* та *P. alvei* на середовищах; «+» — наявність росту культури *P. larvae*, *M. pluton* та *P. alvei* на середовищах.

Таким чином, за результатами досліджень встановлено дезінфікуючі властивості дослідного засобу «Гуанідез» відносно збудників гнильцевих захворювань бджіл. За результатами досліджень складено технологічний регламент виготовлення препарату:

полігексаметиленгуанідину-гідрохлорид у концентрації не менше 20,0 %, пергідроль в концентрації не менше 35,0 % та ДМСО — 0,05 %.

**Висновки.** 1. Засіб «Гуанідез» проявляє виражені бактерицидні властивості відносно таких культур мікроорганізмів: *Paenibacillus larvae* (збудник американського гнильця), *Melissococcus pluton*, *Paenibacillus alvei* (збудники європейського гнильця).

2. Результати випробування засобу «Гуанідез» свідчать про ефективність сумісного застосування полігексаметиленгуанідин-гідрохлориду, перекису водню та диметилсульфоксиду.

3. Аналіз результатів лабораторних випробувань дезінфікуючого засобу «Гуанідез» для профілактичної та вимушеної дезінфекції підтверджують його ефективність та доцільність застосування при гнильцевих захворюваннях бджіл шляхом вологої обробки бджолознаряддя та стільників.

### Список літератури

1. Домбровський О. Б. [та ін.]. Практикум з питань бджільництва та хвороб бджіл. Біла Церква, 2002. 248 с.
2. Сохликов А. Б., Игнатъева Г. И. Получение экологически чистой продукции. *Пчеловодство*. 2005. № 1. С. 213.
3. Лебедев В. И., Мурашова Е. А. Экологическая чистота продуктов пчеловодства. *Пчеловодство*. 2003. № 4. С. 21–24.
4. Інструкція щодо попередження та ліквідації хвороб і отруєнь бджіл [Електронний ресурс] : затв. наказом Гол. держ. інспектора вет. медицини України 30.01.2001, № 9 ; зареєстр. в Мінюсті України 12.02.21, № 131/5322. Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua/laws/z0131-01>.
5. Бойко Т. В. Сравнительная оценка дезинфицирующих препаратов для дезинфекции в пчеловодстве. *Учёные Записки УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»*. 2014. Т. 50, вып. 1., ч. 1. С. 89–92.
6. Галатюк О. Є., Романишина Т. О., Лемешинська Л. Ф., Лахман А. Р. Використання продуктів бджільництва для здоров'я людей. *Трофологія (вчення про закономірності живлення біоти та правильного харчування людей) новітній міждисциплінарний напрям в Україні : матеріали I Всеукраїнської науково-освітньо-практичної конференції (м. Житомир, 25–26 квітня 2019 р.)*. Житомир: Житомирський національний агроекологічний університет, 2019. С. 163–166
7. Двилюк І. В. Санітарно-гігієнічні основи превентивних заходів у бджільництві. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*. 2014. Том 16, № 3(60), ч. 3. С. 286–294.
8. Мусієнко О. В., Кистерна О. С. Гнильцеві хвороби бджіл, особливості діагностики та боротьби. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія : Ветеринарна медицина*. 2017. Вип. 11. С. 90–95.
9. Методичні вказівки з диференційної діагностики інфекційних хвороб розплоду бджіл : затв. наказом Гол. держ. інспектора вет. медицини України 27.12.2001, № 15-14/369.
10. Ступак Л. П., Маслій І. Г. Моніторингові дослідження зразків розплоду бджіл на гнильці у лабораторних умовах. *Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб.* 2009. Вип. 92. С. 471–475.
11. Руденко Е. В. Питательная среда для культивирования возбудителя американского гнильца пчёл. *Ветеринария*. 1987. № 2. С. 72–73.
12. Руденко Е. В. Об особенностях эпизоотологии американского гнильца пчёл и его диагностике. *Ветеринария : респ. межвед. темат. науч. сб.* Киев, 1987. Вып. 62. С. 74–76.

## EFFECTIVENESS OF THE “GUANIDEZ” DISINFECTANT ON THE AGENTS OF BEE INFECTIOUS DISEASES IN LABORATORY CONDITIONS

**Sirenko O. S., Desyatnikova O. V., Gurieva V. B.**

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

*The aim of the work is to study the effect of the disinfectant “Guanidez” on bee infectious diseases agents in vitro. Clinical-epizootological and microbiological methods have been used in the work. There were detected high disinfecting properties of the disinfectant “Guanidez” against pathogens of putrefactive diseases of bees. According to the results of the research, the technological regulation for the manufacturing of the preparation was developed: polyhexamethyleneguanidine hydrochloride at a concentration of at least 20.0%, hydrogen peroxide at a concentration of at least 35.0% and dimethylsulfoxide — 0.05 %. Disinfectant “Guanidez” exhibits pronounced bactericidal properties against the following cultures of microorganisms: *Paenibacillus larvae* (pathogen of American foulbrood), *Melissococcus pluton*, *Paenibacillus alvei* (pathogens of European foulbrood). The results of the “Guanidez” test indicate the effectiveness of the combined use of polyhexamethyleneguanidine hydrochloride, hydrogen peroxide and dimethylsulfoxide. The analysis of the results of laboratory tests of the “Guanidez” disinfectant for prophylactic and forced disinfection confirm its effectiveness and expediency of use for the control of putrefactive diseases.*

**Keywords:** bees, foulbroods, “Guanidez”, disinfection

## ПОРІВНЯЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ДІАГНОСТИЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ІМУНОФЕРМЕНТНИХ ТЕСТ-СИСТЕМ ВІТЧИЗНЯНОГО ТА ЗАКОРДОННОГО ВИРОБНИЦТВА ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ТВАРИН НА БРУЦЕЛЬОЗ

**Стегній Б. Т., Драгуть С. С., Куценко В. А., Рамазанова Т. П.,  
Марченко Н. В., Обуховська О. В., Болотін В. І.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [vbolotin@hotmail.de](mailto:vbolotin@hotmail.de)

**Горлов Ю. І., Ганова Л. О., Чумак О. М., Горлов А. Ю., Співак М. Я.**  
ПрАТ «Науково-виробнича компанія «Діапроф-Мед», Київ, Україна

У роботі представлені результати порівняльного дослідження імуноферментних тест-систем «DIA®-Brucella ab. combi-V» (ПрАТ «НБК Діапроф-Мед», Україна) і «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species» (IDvet, Франція) за допомогою панелей сироваток крові різних тварин і зразків молока корів, які містять антитіла до збудників бруцельозу в різних концентраціях, а також негативних зразків. В обох тест-системах реакція проводиться у форматі непрямого ІФА. Отримані дані показали, що при аналізі 26 сироваток крові різних тварин і 3 зразків молока корів, які містять антитіла до збудників бруцельозу, тест-система «DIA®-Brucella ab. combi-V» визначила всі зразки позитивними. Тест-система «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species» виявила специфічні антитіла тільки у 24 зразках, результат аналізу чотирьох зразків був сумнівним і одного — негативним. При аналізі 34 зразків сироваток крові від різних тварин і молока ВРХ, які не містять антитіл до збудників бруцельозу, в обох діагностикумах результат дослідження був негативним. Із трьох зразків гетерологічних сироваток крові ВРХ, з яких два містять антитіла до *Yersinia enterocolitica* та один — до *Francisella tularensis*, при дослідженні у відповідних тест-системах два зразки визначені негативними, при аналізі однієї сироватки з антитілами до *Yersinia enterocolitica* О9 отримано хибнопозитивний результат в обох тестах

**Ключові слова:** бруцельоз, діагностика, імуноферментні тест-системи

Бруцельоз — висококонтагіозна хронічна інфекція, яка супроводжується ураженням репродуктивних органів. Збудником бруцельозу у сільськогосподарських тварин є бактерії групи *Brucella*: у ВРХ — *B. abortus*, у овець та кіз — *B. melitensis*, у свиней — *B. suis*, у баранів — *B. ovis* [1]. Можлива міграція виду *B. melitensis* від дрібної рогатої худоби на інші види тварин, а також *B. abortus* на верблюдів і коней [2]. Спалахи бруцельозної інфекції завдають великих економічних втрат. Фермерські господарства зазнають суттєвих збитків через аборти, народження ослаблених і мертвонароджених тварин. Антропозоонозний характер захворювання є причиною ризику зараження людини від домашніх тварин [3, 4] при догляді за ними і при вживанні інфікованих продуктів харчування (молока, м'яса, сиру і т. д.).

Рішення проблеми якісної діагностики бруцельозу залишається актуальним завданням, особливо у країнах з розвиненим тваринництвом [2]. Своєчасне виявлення інфікованих тварин визначає успіх ветеринарних і медико-санітарних заходів, спрямованих на оздоровлення тваринницьких господарств і ліквідацію причин поширення захворювання серед людей. Оскільки захворювання часто протікає безсимптомно з хронізацією інфекційного процесу [5, 6], то основним методом виявлення хворих тварин є проведення планових діагностичних досліджень на бруцельоз. З цією метою відповідно до рекомендацій Міжнародного епізоотичного бюро (ОІЕ) для скринінгових досліджень застосовують серологічні тести, серед яких частіше використовують імуноферментний аналіз (ІФА), який дозволяє провести одночасно велику кількість аналізів і отримати результат за короткий час [7, 8]. Створення нових швидких, специфічних і високочутливих діагностичних імуноферментних тест-систем, які дозволяють виявляти бруцельоз у тварин на ранніх стадіях захворювання, є одним з основних напрямків щодо

підвищення точності діагностичних досліджень на бруцельоз, що упередить поширення даного захворювання.

**Мета роботи.** Проведення порівняльного дослідження діагностичної ефективності імуноферментних тест-систем «DIA®-Brucella ab. combi-V» і «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species», які призначені для виявлення антитіл до збудників бруцельозу у різних видів сільськогосподарських тварин.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проводились на базі Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (м. Харків).

Тест-системи «DIA®-Brucella ab. combi-V» (ПрАТ «НБК Діапроф-Мед», Україна) і «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species» (IDvet, Франція) сконструйовані у форматі твердофазного непрямого ІФА. В обох діагностикумах імуносорбент виготовлений з використанням LPS *Brucella abortus*, який має спільні ділянки з антигенами інших видів бруцел — збудників захворювання у сільськогосподарських тварин. При внесенні в лунки планшету досліджуваних зразків сироваток або молока специфічні антитіла зв'язуються з антигенами у складі імуносорбенту, утворюючи комплекси антиген-антитіло. На другому етапі реакції після етапу промивання в лунки вноситься пероксидазний кон'югат, який виявляє специфічні імунні комплекси. У тест-системі «DIA®-Brucella ab. combi-V» кон'югат виготовлено на основі рекомбінантного білка G *Streptococcus*. В обох тест-системах в якості проявника використовують однокомпонентний ТМБ. Реакцію зупиняють стоп-реагентом і визначають оптичну густину (ОГ) суміші в лунках, яка прямо пропорційна концентрації специфічних антитіл. У тест-системі «DIA®-Brucella ab. combi-V» вимір проводять при довжині хвилі 450 нм/620 нм, у тест-системі «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species» — при 450 нм.

У тест-системі «DIA®-Brucella ab. combi-V» для розрахунку граничного значення (cut off) до середньої величини трьох значень негативного контролю додають константний коефіцієнт 0,15. Результат аналізу вважається позитивним, якщо ОГ досліджуваного зразку більше cut off і негативним при ОГ менше cut off.

Результати ІФА в тест-системі «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species» представлено величиною SP %, яка розраховується за формулою:

$$SP \% = \frac{ОГ_{зразка} - ОГК_{нег}}{ОГК_{поз} - ОГК_{нег}} \times 100\%$$

де: ОГ<sub>зразка</sub> — оптична густина досліджуваного зразка,

ОГ<sub>нег</sub> — оптична густина негативного контролю,

ОГ<sub>поз</sub> — оптична густина позитивного контролю.

Якщо значення SP ≥ 120 % результат аналізу вважається позитивним, якщо значення SP ≤ 110 % — негативним, якщо 110 % < SP < 120 % — сумнівним.

Для коректного порівняння результатів аналізів у двох тест-системах ми використовували розрахунок індексу позитивності (ІП), як співвідношення ОГ/cut off для діагностикуму «DIA®-Brucella ab. combi-V» і SP/cut off у тест-системі «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species». При такому підході ІП для cut off буде складати 1,0. Розрахунок результатів з використанням ІП буде наступний: для тест-системи «DIA®-Brucella ab. combi-V» при значеннях ІП ≥ 1,0 — результат позитивний; при ІП < 1,0 — негативний; для тест-системи «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species» при значеннях ІП ≥ 1,0 — результат позитивний; при ІП > 0,9, але < 1,0 — невизначений, при ІП < 0,9 — негативний.

Для аналізу використовували такі панелі зразків:

— 22 сироватки крові ВРХ, що містять антитіла до *B. abortus*, з яких зразок № 11 досліджували нерозведений і розведений у 4 рази негативною сироваткою;

— 4 сироватки крові від інших тварин, що позитивні на бруцельоз, з яких 2 зразки від свиней, 1 — від кози та 1 — від верблюда;

— 3 зразки молока корів, які розведені позитивною на бруцельоз сироваткою (№ 17 у 4 рази, № 18 у 10 разів і 16 разів);

— 23 сироватки крові ВРХ, які не містять антитіл до збудників бруцельозу;

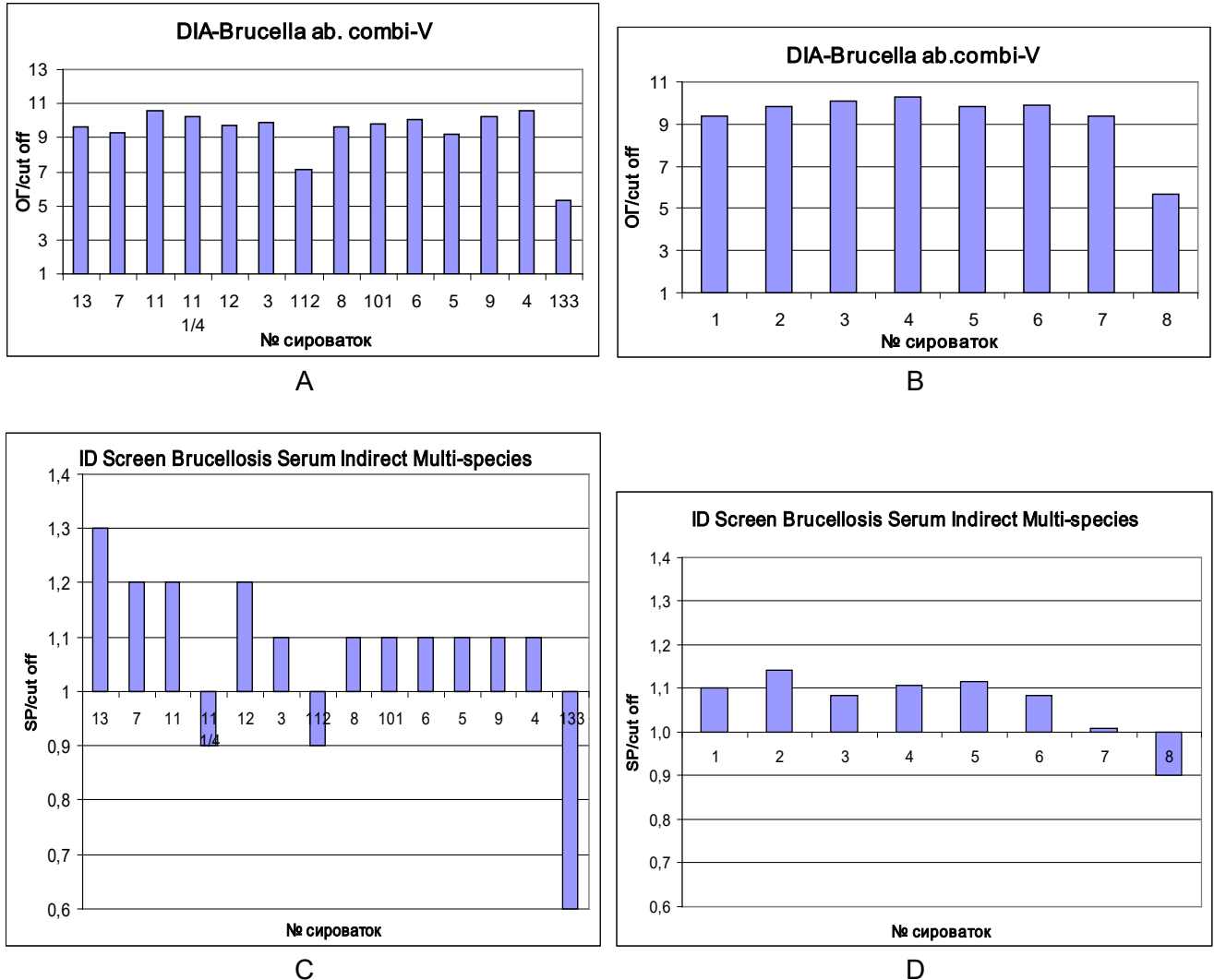
— 9 зразків сироваток крові від інших тварин, що не містять антитіл до збудників бруцельозу, з яких 6 — від овець, 2 — від свиней, 1 — від кози;

— 2 зразки молока корів, які не містять антитіл до збудників бруцельозу;



— 3 зразки сироваток крові ВРХ, з яких 1 містить антитіла до *Yersinia enterocolitica* O9, 1 — до *Yersinia enterocolitica* O3 і 1 — до *Francisella tularensis*.

**Результати досліджень.** Результати аналізу сироваток крові ВРХ, які містять антитіла до *B. abortus*, у тест-системах «DIA®-Brucella ab. combi-V» та «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species» представлені на рис. 1.



**Рис. 1.** Результати дослідження сироваток крові ВРХ, які містять антитіла до *B. abortus*, у різних тест-системах (А, С — зразки сироваток з НПК «Діапроф-Мед», В, D — зразки сироваток з ННЦ «ІЕКВМ»).

При дослідженні 14 зразків з НПК Діапроф-Мед і восьми сироваток з ННЦ «ІЕКВМ» тест-система «DIA®-Brucella ab. combi-V» виявила специфічні антитіла в усіх зразках. При цьому результати аналізу зразків перевищували значення cut off в 5,3–10,6 разів. Діагностикум «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species» визначив 18 сироваток позитивними з найбільшим значенням 1,3 вище величини cut off. При дослідженні трьох зразків результат аналізу був сумнівний, а однієї сироватки — негативний.

При дослідженні чотирьох сироваток крові від різних тварин, які містять антитіла до збудників бруцельозу, тест-система «DIA®-Brucella ab. combi-V» визначила позитивними всі зразки, результат аналізу котрих перевищував рівень cut off в 8,1–9,4 рази (рис. 2А).

У тест-системі «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species» специфічні антитіла виявлені у трьох сироватках — у зразках від свиней та верблюда. При дослідженні сироватки від кози отримано сумнівний результат аналізу.

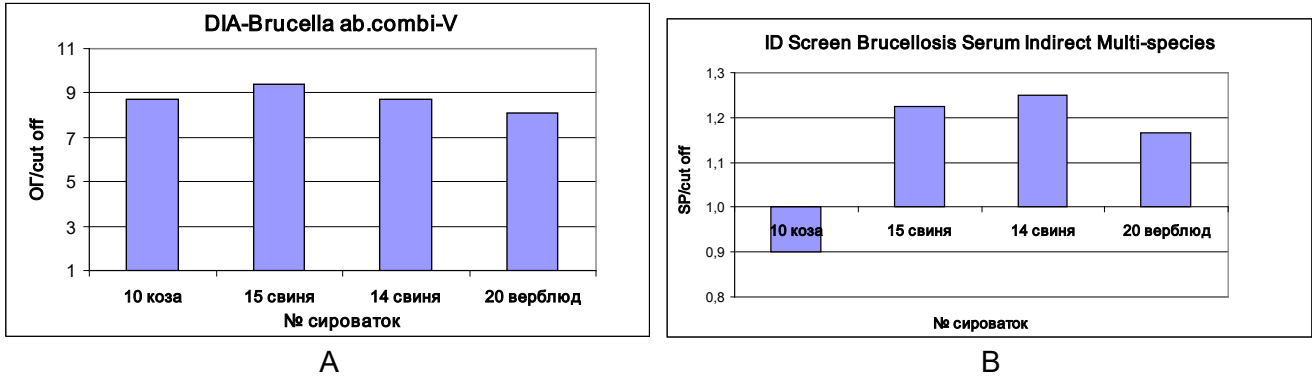


Рис. 2. Результати порівняльних досліджень сироваток крові різних тварин у тест-системах А — «DIA-Brucella ab. combi-V», В — «ID Screen Brucellosis Indirect Multi-species».

На рис. 3 представлено результати аналізу зразків молока корів, які містять антитіла до *B. abortus* у різних концентраціях, в обох тест-системах.

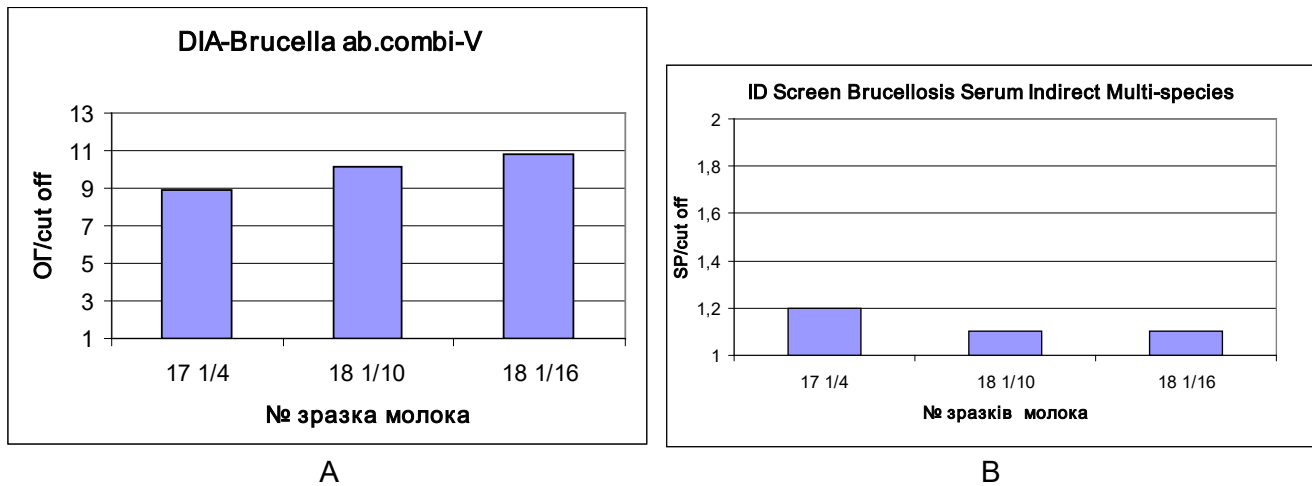


Рис. 3. Результати порівняльних досліджень зразків молока корів у тест-системах А — «DIA-Brucella ab. combi-V», В — «ID Screen Brucellosis Indirect Multi-species».

При дослідженні трьох зразків молока корів в обох тест-системах отримано позитивний результат на бруцельоз. Однак, здатність тест-системи «DIA-Brucella ab. combi-V» виявляти специфічні антитіла була дещо вищою, ніж у тест-системи порівняння. У цій тест-системі результат аналізу зразків був більший за cut off в 8,9–10,8 разів (рис. 3А), а в тест-системі «ID Screen Brucellosis Indirect Multi-species» — тільки в 1,1–1,2 рази (рис. 3В).

Результати дослідження здатності тест-систем коректно визначати зразки сироваток і молока корів, які негативні на бруцельоз, представлено в таблиці.

При аналізі 32 сироваток крові від різних тварин і двох зразків молока, які не містять антитіл до збудників бруцельозу, в обох тест-системах отримано негативний результат аналізу (специфічність 100 %).

При дослідженні сироваток крові ВРХ, які містять антитіла, що можуть привести до хибнопозитивного результату аналізу, в обох тест-системах при тестуванні зразку з антитілами до *Francisella tularensis* та однієї сироватки з антитілами до *Yersinia enterocolitica* O3 отримано негативний результат. При аналізі зразку сироватки з антитілами до *Yersinia enterocolitica* O9 результат аналізу був хибнопозитивний.

**Таблиця —** Порівняльні результати дослідження в різних імуноферментних тест-системах зразків сироваток і молока, які не містять антитіл до збудників бруцельозу

Тварини	Кількість зразків	Тест-системи					
		DIA-Brucella ab. combi-V			ID Screen Brucellosis Serum Indirect Multi-species		
		кількість результатів		специфічність	кількість результатів		специфічність
позитивних	негативних	позитивних	негативних				
сироватки крові							
ВРХ	23	0	23	100 %	0	23	100 %
вівця	6	0	6		0	6	
свиня	2	0	2		0	2	
коза	1	0	1		0	1	
зразки молока корів							
ВРХ	2	0	2	100 %	0	2	100 %
Всього:	34	0	34		0	34	

**Висновки.** Таким чином, при дослідженні у двох діагностичних імуноферментних тест-системах сироваток крові, з яких 22 зразки від ВРХ та 4 — від різних тварин (свиня, вівця, коза, верблюд), а також 3 зразків молока корів, які містять різні концентрації антитіл до збудників бруцельозу, зокрема, їх низький рівень, встановлено, що вітчизняна тест-система «DIA®-Brucella ab. combi-V» має досить високу діагностичну здатність, яка не поступається закордонному аналогу. Діагностиком визначив специфічні антитіла в усіх позитивних зразках з результатом, що перевищує рівень cut off, який відсікає позитивні зразки від негативних у 5,3–10,8 разів. Тест-система «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species» виявила антитіла до збудників бруцельозу тільки у 24 зразках із 29 досліджених з найбільшим значенням лише 1,3 вище величини cut off. При дослідженні в даному тесті чотирьох сироваток крові, з яких три зразки від ВРХ та один — від кози, результат аналізу був сумнівний, тобто невизначений («сіра зона»), при аналізі 1 сироватки крові ВРХ отримано негативний результат.

Здатність тест-систем коректно визначати негативні зразки була співставною. При аналізі 32 сироваток крові від різних тварин і двох зразків молока корів, які не містять антитіл до збудників бруцельозу, в обох тест-системах отримано негативний результат аналізу. Із трьох негативних сироваток крові ВРХ, при аналізі яких на бруцельоз результат може бути некоректним (присутність антитіл до *Yersinia enterocolitica* O3, *Yersinia enterocolitica* O9, *Francisella tularensis*), в обох тест-системах при дослідженні 1 зразка з антитілами до *Yersinia enterocolitica* O9 отримано хибнопозитивний результат.

#### Список літератури

1. Vanai M., Corbel M. Taxonomy of *Brucella*. *The Open Veterinary Science Journal*. 2010. Vol. 4. P. 85–101.
2. Оракбай Л. Ж., Черепанова Л. Ю., Денисова Т. Г. Современные аспекты эпидемического процесса бруцеллёза [Электронный ресурс]. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 6. С. 12. Режим доступа : <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25389589>.
3. Охупкина В. Ю., Пяткова Н. В., Павлов Д. Л., Суслопаров А. А. Эпидемическая опасность бруцеллёза в современных условиях. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016. Т. 88, № 3. С. 15–22.
4. Рымаренко Н. В., Дедюра Е. Н., Мазинова Э. Р., Ивановский С. В., Джемилева Х. Ш. Бруцеллёз — редкое, но все ещё существующее заболевание (клинический случай). *Современная педиатрия*. 2014. Т. 58, № 2. С. 116–118.
5. Фазылов В. Х., Гилмуллина Ф. С., Загидуллина А. И., Хамидуллина З. Л. Диагностика и лечение хронического бруцеллёза в реальной практике. *Инфекционные болезни. Антимикробная терапия*. 2014. Т. 83, № 7. С. 75–81.
6. Фазылов В. Х., Гилмуллина Ф. С., Хамидуллина З. Л., Галина Г. В. Клинико-эпидемиологическая характеристика хронического бруцеллёза. *Казанский медицинский журнал*. 2018. Т. 99, № 6. С. 924–928.
7. Искандеров М., Фёдоров А., Альбертян М. Диагностика бруцеллёза. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2011. № 4. С. 28–31.
8. Нурпейсова А. Х., Софонов А. Д., Рудаков Н. В., Березкина Г. В., Томилова Л. А. Сравнительный анализ рутинных методов определения общей активности антител и ИФА в диагностике хронического бруцеллёза. *Эпидемиология, специфическая диагностика, экология, профилактика*. 2009. № 2. С. 137–138.

## COMPARATIVE RESEARCH OF DIAGNOSTIC EFFICIENCY OF ELISA TEST SYSTEMS OF DOMESTIC AND FOREIGN PRODUCTION FOR ANIMAL BRUCELLOSIS DIAGNOSTICS

**Stegniy B. T., Drahut S. S., Kutsenko V. A., Ramazanova T. P.,  
Marchenko N. V., Obuchovska O. V., Bolotin V. I.**

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

**Gorlov Yu. I., Ganova L. O., Chumak O. M., Gorlov A. Yu., Spivak M. Ya.**  
PJSC "Scientific and Production Company "Diaproph-Med", Kyiv, Ukraine

*The purpose of the work. Comparison the diagnostic ability of the ELISA test kits «DIA®-Brucella ab. combi-V» and «ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species» for the detection of antibodies to brucellosis pathogens in various farm animals. Materials and methods. For the analysis there were used 29 positive samples to brucellosis with specific antibodies in different concentrations, 26 of which are serums (22 — from cattle, 2 — from pigs, 1 — from goat, 1 — from camel) and 3 — milk samples from cows. There were used 32 serums (23 — from cattle, 6 — from sheep, 2 — from pigs, 1 — from goat), and 2 milk samples from cows that don't contain antibodies to brucellosis pathogens for determining the ability of test kits to detect correctly negative samples. There were also used serums from cattle containing antibodies that can lead to false positive results, 1 sample with antibodies to Francisella tularensis, 1 — to Yersinia O3 and 1 — to Yersinia O9. To compare the results in the two test kits, comparative ratios were used that allowed to determine how many times the result obtained in both test kits was higher or less than cut off, that differentiated positive samples from negative. Results of the work. When analyzing 22 cattle serums containing antibodies to B. abortus, the "DIA®-Brucella ab. combi-V" kit determined all samples positive with a results 5.3–10.6 times higher than cut off. The "ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species" test kit identified only 18 positive serums with a maximum value of 1.3 above the cut off. The result of the analysis of 3 samples was doubtful and 1 serum was negative. When analyzing 4 sera from different animals containing antibodies to brucellosis pathogens, the "DIA®-Brucella ab. combi-V" test kit identified all positive samples with the results 8.1–9.4 times higher than cut off. The "ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species" test kit detected specific antibodies in only 3 serums — from pigs and camel. When the goat serum was tested, a doubtful (uncertain) result of the analysis was obtained. When analyzing 3 milk samples from cows containing antibodies to B. abortus in different concentrations there was received a positive result to brucellosis in both test kits. However, ability of the "DIA®-Brucella ab. combi-V" test kit to detect specific antibodies was significantly higher than in comparison test kit. When investigating 32 serums from different animals and 2 milk samples that didn't contain antibodies to the brucellosis pathogens, a negative result of the analysis was obtained in both test kits. When analyzing cattle serums containing antibodies that can lead to false positive results, both test kits identified 1 sample with antibodies to Francisella tularensis and 1 serum with antibodies to Yersinia O3 with negative result. When analyzing 1 serum with antibodies to Yersinia O9 the result of the analysis was false positive. Conclusions. Studies have shown that the "DIA®-Brucella ab. combi-V" test kit has a high diagnostic capacity. When analyzing 29 blood serums, including samples from different animals, and milk samples from cows containing antibodies to brucellosis pathogens, the test kit identified all samples as positive with results 5.3–10.8 times above the cut off. The "ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species" test kit detected antibodies to brucellosis pathogens only in 24 samples with a maximum value 1.3 times higher than cut off. When investigating 4 serums, 3 samples of which are from cattle and 1 — from goat, the result of the analysis was doubtful (uncertain), 1 cattle serum was identified as negative. The ability of test kits to detect correctly negative samples was comparable. When analyzing 32 serums from different animals and 2 milk samples from cows that do not contain antibodies to brucellosis pathogens, in both test kits, a negative result of the analysis was obtained. For the 3 negative cattle serums, the analysis of which on brucellosis may be incorrect (the presence of antibodies to Yersinia O3, Yersinia O9, Francisella tularensis), in both test kits, for 1 sample with antibodies to Yersinia O9 a false positive result was obtained*

**Keywords:** brucellosis, diagnostics, ELISA kits

## ЗАСТОСУВАННЯ НОВИХ ВІТЧИЗНЯНИХ ДЕЗІНФЕКЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ТА БОРОТЬБИ З ІНФЕКЦІЙНИМИ ХВОРОБАМИ ШОВКОВИЧНОГО ШОВКОПРЯДА

Ісіченко Н. В., Литвин В. М., Дехтяр І. І.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [petrova-isichenko@yandex.ua](mailto:petrova-isichenko@yandex.ua)

Розроблені режими застосування нових дезінфекційних препаратів для знезараження грени шовковичного шовкопряда *Bombyx mori* L. Використання препарату «I MED-Vet» у концентрації 0,1 % за експозиції 5 хв. дозволяє підвищити життєздатність гусениць молодших віків в середньому на 5,2 % ( $p < 0,05$ ), загальну життєздатність — на 7,66 % ( $p < 0,05$ ) та урожай коконів — на 0,50 кг ( $p < 0,01$ ). Використання препарату «ФАГ» у концентраціях 1,5 % за експозиції 15 хв. та 2 % за експозиції 10 хв. призводить до тенденції підвищення життєздатності гусениць молодших віків (в середньому на 1,71 %), підвищення їх загальної життєздатності (на 2,66 %) та зниження показника коконів-«глухарів» (на 2,00 %).

**Ключові слова:** грена, дезінфекція, життєздатність, препарати, хвороби, шовковичний шовкопряд, *Bombyx mori* L.

На сьогоднішній день у людства збільшується потреба у використанні органічної продукції, зокрема із шовківництва [1–3]. Тому визначена тема статті є актуальною задачею. Однак, одним з основних факторів, які знижують збереженість шовковичного шовкопряда *Bombyx mori* L., як продуценту натурального шовку, є інфекційні та інвазійні хвороби. Вони суттєво стримують його продуктивність. Оскільки шовкопряд, як пойкилотермний організм, надзвичайно чутливий до несприятливих умов довкілля і зазначених хвороб, які уражують його на усіх стадіях розвитку [4, 5], та досить поширені в Україні та за її межами [6, 7]. Створені нові генотипи шовковичного шовкопряда також потребують захисту від хвороб [8].

Враховуючи зазначене необхідно провести вивчення багатьох питань щодо інфекційної патології шовкопряда і розробити режими застосування нових вітчизняних засобів дезінфекції для профілактики та боротьби з інфекційними хворобами в греновиробництві та на вигодівлях шовкопряда.

У 2013 році була створена база даних мікроскопічних досліджень метеликів-самок за 2001–2013 рр., яка може використовуватися для аналізу епізоотичної ситуації та прогнозування щодо збудників основних інфекційних захворювань шовкопряда колекційних порід [9]. На основі цих даних встановлено тісний позитивний кореляційний зв'язок між відсотком хворих метеликів в цілому, і боверіозом зокрема, та сонячною активністю (СА). Найбільший показник відсотка хвороб шовкопряда було виявлено в роки підвищеної СА порівняно з роками невисокої її величини. За результатами створеної бази встановлена загальна інфікованість шовкопряда на стадії метелика: збудником ядерного поліедрозу — 0,42 %, збудниками бактеріозів — 0,54 %, збудником боверіозу — 0,52 %. В результаті аналізу епізоотичної ситуації встановлено, що загибель шовкопряда від захворювань відбувається на всіх стадіях розвитку шовкопряда: на стадії гусениці від ядерного поліедрозу — 26,90 %, на стадії лялечки загибель від ядерного поліедрозу склала 13,56 %, від бактеріозів — 11,56 %.

**Мета роботи** — розробка режимів застосування нових вітчизняних дезінфекційних препаратів для профілактики та боротьби з інфекційними хворобами шовковичного шовкопряда на стадії грени в племінному та промисловому шовківництві.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводились на грени та гусеницях районуваних порід шовковичного шовкопряда: Б-2 поліпшена, Мерефа 6 та Українська 15. У дослідженні використовували тест-культуру з асоціації монокультур збудників бактеріозів — стрептококового ентериту (*Str. bombycis*), бацилярного кишкового токсикозу (*Bac. thuringiensis* var. *galleriae*), фляшерії (*Bac. bombycis*) у суміші 1:1, кількість яких визначають за оптичним стандартом

мутності мікроорганізмів Державного НДІ стандартизації та контролю медбіопрепаратів ім. Л. А. Тарасевича.

При визначенні бактерицидної дії досліджуваних препаратів «ФАГ» та «I MED-Vet» застосовували *in vitro* метод батистових тест-об'єктів (загальноприйнятого розміру — 5×10 мм). Інфікували дослідні й контрольні тест-об'єкти 2-х мільярдною бактерійною зависсю при експозиції 20 хв. Випробовували препарати у формі розчинів концентраціями від 0,05 до 3,0 % (з інтервалом 0,5 %) та за експозицій від 5 до 60 хв. (з інтервалом 5 хв.) за кімнатної температури.

Контаміновані мікроорганізмами тест-об'єкти вносили в пробірки з відповідними розчинами та витримували до закінчення експозиції, потім двічі промивали у змінюваній воді. Відмивну рідину об'єднували та витримували 30 хв., після чого надосадову рідину зливали, а з осаду проводили висів по 1,0 мл рідини на МПБ. Повторність висівів в розрізі дослідів й контролі — 3-кратна. Інкубували пробірки з висівами 2 доби при температурі 37 °С. Контроль — стерильна вода. Оцінку результатів знезаражуючого ефекту препаратів «ФАГ» та «I MED-Vet» проводили за наявністю чи відсутністю росту мікроорганізмів. Ефективним вважали той препарат і режим застосування, який забезпечував зниження мікробного обсіменіння тест-об'єктів не менше ніж на 99 % (при наявності росту тест-культур у висівах контрольних тест-об'єктів) [10].

Виявлені найбільш ефективні препарати в перспективних концентраціях та експозиціях випробовували надалі *in vivo* щодо їх нешкідливості шляхом визначення життєздатності грени, зокрема, дружність її оживлення і загальний відсоток виходу (відродження) гусениць шовкопряда зі знезараженої грени (повторність 4-кратна, по 100 яєць шовкопряда у кожній) з подальшим проведенням контрольної вигодівлі — повторність дослідних і контрольних варіантів триразова, по 50 мг гусениць-«мурашів» у кожній. Дослідження проводили згідно з методичними вказівками [11] та методами, викладеними у відповідних посібниках [12–14]. Враховували наступні показники: життєздатність шовкопряда (%), урожай коконів з 1 г гусениць (кг), сортових коконів (%), кількість коконів-«глухарів» (%).

Статистичну обробку даних проводили за *t*-критерієм Стьюдента [15–16].

**Результати досліджень.** При визначенні бактерицидних властивостей препаратів «ФАГ» та «I MED-Vet» щодо асоціації збудників бактеріозів шовковичного шовкопряда встановлено, що 100 % ефективним для знезараження контамінованих батистових тест-об'єктів є застосування препарату «ФАГ» в концентраціях 1,5 % за експозиції 15 хв. та 2,0 % за експозиції 10 хв. (табл. 1). В результаті застосування препарату «I MED-Vet» бактерицидні властивості спостерігаються в концентраціях 0,05 та 0,1 % з експозицією 10 і 5 хв., відповідно.

**Таблиця 1** — Ефективність застосування препаратів «ФАГ» і «I MED-Vet» стосовно асоціації збудників бактеріозів шовкопряда

Препарат	Концентрація, %	Експозиція, хв.	Результати застосування препарату
«ФАГ»	0,5	5	–
		10	–
		15	–
	1,0	5	–
		10	–
		15	±
	1,5	5	–
		10	±
		15	+
	2,0	5	±
		10	+
		15	+
	2,5	5	+
		10	+
		15	+
3,0	5	+	
	10	+	
	15	+	

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

Препарат	Концентрація, %	Експозиція, хв.	Результати застосування препарату
«I MED-Вет»	0,01	1	–
		5	–
		10	–
	0,05	1	–
		5	±
		10	+
	0,1	1	±
		5	+
		10	+
	0,5	1	+
		5	+
		10	+
1,0	1	+	
	5	+	
	10	+	
Контроль (стерильна вода)		60	–

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

Зазначені препарати в досліджуваних концентраціях не проявили шкодочинності на стадії грени: відсоток виходу гусениць зі знезараженої грени препаратом «ФАГ» у концентрації 1,5 % за експозиції 15 хв. становить 92,50 %, у концентрації 2 % за експозиції 10 хв. — 94,80 % (табл. 2).

Аналогічні показники отримано і при застосуванні препарату «I MED-Вет». Відсоток виходу гусениць зі знезараженої грени цим препаратом у концентрації 0,05 % за експозиції 10 хв. становить 91,50 %, у концентрації 0,1 % за експозиції 5 хв. — 94,00 %. Результати визначення нешкідливості впливу «ФАГ» та «I MED-Вет» на грону, ембріональну стадію розвитку шовковичного шовкопряда свідчать, що препарат у відпрацьованих ефективних режимах застосування не впливає негативно. Грена зберігається життєздатною, відродження з якої гусениць склало 92,00–94,80 %. Зазначені у таблиці показники були досить високими та практично на рівні контролю (92,00 %).

**Таблиця 2** — Вплив препаратів «ФАГ» та «I MED-Вет» на життєздатність грени шовковичного шовкопряда

Препарат	Концентрація, %	Експозиція, хв.	Життєздатність грени, %
«ФАГ»	0,5	5	89,20 ± 1,25
		10	90,30 ± 1,09
		15	89,00 ± 0,89
	1,0	5	89,60 ± 0,33
		10	90,30 ± 0,67
		15	91,70 ± 1,02
	1,5	5	90,90 ± 1,01
		10	91,80 ± 1,06
		15	92,50 ± 1,31
	2,0	5	91,00 ± 0,33
		10	94,80 ± 1,03
		15	94,60 ± 0,27
	2,5	5	94,25 ± 1,09
		10	93,50 ± 1,04
		15	94,70 ± 0,87
3,0	5	92,10 ± 0,33	
	10	93,00 ± 0,89	
	15	93,20 ± 0,66	

Препарат	Концентрація, %	Експозиція, хв.	Життєздатність гени, %
«I MED-Вет»	0,01	1	87,00 ± 1,31
		5	90,00 ± 1,12
		10	91,00 ± 1,01
	0,05	1	89,60 ± 0,68
		5	90,60 ± 1,04
		10	91,50 ± 1,02
	0,1	1	92,00 ± 0,27
		5	94,00 ± 1,33
		10	93,60 ± 1,02
	0,5	1	92,00 ± 0,67
		5	91,75 ± 1,12
		10	93,75 ± 1,11
1,0	1	93,60 ± 0,88	
	5	90,90 ± 0,37	
	10	93,50 ± 1,00	
Контроль (стерильна вода)		60	92,00 ± 1,03

У весняний період було проведено вигодівлю гусениць, отриманих зі знезараженої препаратами гени. Отримані результати наведено у табл. 3.

**Таблиця 3** — Вплив знезаражуючої дії препаратів «ФАГ» та «I MED-Вет» на біологічні показники шовковичного шовкопряда (M ± m)

Препарат	Концентрація, %	Життєздатність гусениць, %			Загальна життєздатність гусениць, %	Урожай коконів з 1 г гусениць, кг	Сортових коконів, %	Коконів-«глухарів», %
		II віку	III віку	IV віку				
«ФАГ»	1,5	92,00 ± 2,05	91,88 ± 0,58	88,67 ± 0,67	85,00 ± 1,16	3,89 ± 0,02	80,2 ± 4,35	4,00 ± 0,67
	2,0	94,33 ± 1,20	91,18 ± 1,24	90,00 ± 3,08	87,33 ± 1,40	4,13 ± 0,11	86,3 ± 1,09	3,67 ± 1,03
«I MED-Вет»	0,05	94,18 ± 0,67	94,00 ± 0,22 <sup>1)</sup>	90,67 ± 0,33	86,00 ± 2,00	4,00 ± 0,04	89,8 ± 1,10	3,88 ± 1,27
	0,1	95,88 ± 0,24 <sup>1)</sup>	95,79 ± 0,88 <sup>1)</sup>	94,27 ± 1,88	92,33 ± 2,34 <sup>1)</sup>	4,50 ± 0,02 <sup>2)</sup>	89,00 ± 1,27	2,68 ± 0,12
Контроль		91,00 ± 0,37	90,27 ± 0,56	89,16 ± 1,44	84,67 ± 0,67	4,00 ± 0,09	83,5 ± 1,86	4,61 ± 0,33

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

Встановлено, що застосування препаратів «ФАГ» та «I MED-Вет» для знезараження гени сприяло зниженню загибелі гусениць молодших віків. Так, застосування препарату «I MED-Вет» у концентраціях 0,05 та 0,1 % сприяє вірогідному підвищенню життєздатності гусениць у II віці на 3,18 і 4,88 % (p < 0,05) та на 3,73 % (p < 0,05) і 5,52 % (p < 0,05) — у III віці, порівняно з контролем. Загальна життєздатність гусениць у цих варіантах перевищує контроль на 1,33 та 7,66 % (p < 0,05).

Слід зазначити, що використання дезінфікуючого препарату «I MED-Вет» у концентрації 0,1 % за експозиції 5 хв. призводить до вірогідного підвищення урожаю коконів, сприяє помітній тенденції збільшення сортових коконів на 5,5 % та зниженню коконів-«глухарів» — на 1,95 % у порівнянні з контролем.

Використання препарату «ФАГ» у концентраціях 1,5 % за експозиції 15 хв. та 2 % за експозиції 10 хв. призводить до тенденції підвищення життєздатності гусениць молодших віків (в середньому на 1,71 %), підвищення їх загальної життєздатності (на 2,66 %) та зниження показника коконів-«глухарів». Показник урожаю коконів у цих варіантах знаходився майже на рівні контролю.



**Висновки.** 1. Встановлено високу ефективність використання препарату «I MED-Vet» у концентрації 0,1 % за експозиції 5 хв., що дозволяє підвищити життєздатність гусениць молодших віків в середньому на 5,2 % ( $p < 0,05$ ), загальну життєздатність — на 7,66 % ( $p < 0,05$ ) та урожай коконів — на 0,50 кг ( $p < 0,01$ ).

2. Використання препарату «ФАГ» у концентраціях 1,5 % за експозиції 15 хв. та 2 % за експозиції 10 хв. призводить до тенденції підвищення життєздатності гусениць молодших віків (в середньому на 1,71 %), підвищення їх загальної життєздатності (на 2,66 %) та зниження показнику коконів-«глухарів» (на 2,00 %).

**Перспективи подальших досліджень** полягають у пошуку нових дезінфекційних препаратів органічного походження для більш ефективного знезараження гребні шовковичного шовкопряда.

### Список літератури

1. Литвин В. М., Бабаєва Г. І., Дмитрієва О. В. Оцінка генотипів шовковичного шовкопряда (*Bombyx mori* L.) для органічного шовківництва. *Вісник аграрної науки*. 2017. № 2. С. 32–35.
2. Бабаєва Г. І., Литвин В. М., Войтенко В. І., Хмельова Т. С. Сорти плодової шовковиці для органічного садівництва. *Вісник аграрної науки*. 2016. № 6. С. 16–19.
3. Бабаєва Г. І., Литвин В. М., Войтенко В. І., Хмельова Т. С. Спосіб застосування шовковиці на шляху переходу тваринництва до виробництва органічної продукції. *Ветеринарна медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* 2016. Вип. 102. С. 241–243.
4. Кириченко І. А. Основные инфекционные болезни тутового шелкопряда в Украине и меры борьбы с ними. — Харьков : РИП «Оригинал», 1998. 208 с.
5. Кириченко І. А., Денисенко Э. А., Суханова І. П., Кравцова С. Н. Изучение влияния вирусной и ассоциированной с бактериальными инфекцией на резистентность тутового шелкопряда. *Материалы международной научной конференции Алтайского государственного аграрного университета*. Барнаул, 2002. Ч. 2. С. 258–261.
6. Головки В. А., Кириченко І. А. Инфекционные болезни тутового шелкопряда и меры борьбы с ними. *Проблемные вопросы развития шелководства : материалы докладов научно-практической конференции*. Харьков, 1993. С. 121–125.
7. Головки В. О., Злотін О. З., Браславський М. Ю. [та ін.]. Шовківництво. Харків : РВП «Оригинал», 1998. 416 с.
8. Ісиченко Н. В., Литвин В. М., Бабаєва Г. І., Стегній Б. Т., Дмитрієва О. В., Дегтяр І. І. Нові партеноклони шовковичного шовкопряда (*Bombyx mori* L.) з колекції генетичних ресурсів України. *Розведення і генетика тварин*. 2019. Вип. 57. С. 159–164.
9. Литвин В. М., Дмитрієва О. В., Терновська Н. І. Зв'язок захворюваності метеликів шовковичного шовкопряда з сонячною активністю. *Ветеринарна медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* 2016. Вип. 102. С. 205–207.
10. Мейнелл Дж., Мейнелл Э. Экспериментальная микробиология : пер. с англ. Москва : Мир, 1967. 347 с.
11. О порядке испытания новых дезинфицирующих средств в ветеринарной практике : методические указания. Москва : Госагропром СССР, 1987. 157 с.
12. Селибер Г. Л. Большой практикум по микробиологии. Москва : Высшая школа, 1962. 490 с.
13. Бакулов І. А., Третьяков А. Д. Руководство по общей эпизоотологии. Москва : Колос, 1979. 424 с.
14. Кириченко І. О. [та ін.]. Практичний посібник по шовківництву : довідник. Київ : Урожай, 1991. 144 с.
15. Плохинский Н. А. Биометрия. Москва, 1970. 367 с.
16. Лакин Г. Ф. Биометрия : учеб. пособие. Москва : Высшая школа, 1990. 352 с.

### APPLICATION OF NEW DOMESTIC DISINFECTANTS FOR PREVENTION AND CONTROL OF THE SILKWORM INFECTIOUS DISEASES

**Isichenko N. V., Litvin V. M., Dekhtyar I. I.**

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

*Regimes for the use of new disinfectants for disinfection of grains of *Bombyx mori* L. silkworms have been developed. Use of "I Med-Vet" at a concentration of 0.1 % with an exposure of 5 minutes allows to increase the viability of young caterpillars by an average of 5.2% ( $p < 0.05$ ), the overall viability by 7.66% ( $p < 0.05$ ) and the yield of cocoons by 0.50 kg ( $p < 0.01$ ). The use of the "FAG" preparation in concentrations of 1.5 % with an exposure of 15 minutes and 2 % with an exposure of 10 min. leads to a tendency to increase the viability of younger caterpillars (on average by 1.71 %), an increase in their overall viability (by 2.66 %) and a decrease in the cocoon-capercaille index (by 2.00 %).*

**Keywords:** grain, disinfection, viability, drugs, diseases, silkworm, *Bombyx mori* L.

## АНАЛІЗ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕЧНИХ ЧИННИКІВ У ТЕХНОЛОГІЇ ВИГОТОВЛЕННЯ СИРОВ'ЯЛЕНИХ КОВБАС

**Родіонова К. О.**

Луганський національний аграрний університет,  
Харків, Україна, e-mail: [katerina.rodionova@ukr.net](mailto:katerina.rodionova@ukr.net)

**Палій А. П.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної  
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [paliy.dok@gmail.com](mailto:paliy.dok@gmail.com)

*В Україні застосування системи НАССР (Hazard Analysis and Critical Control Points) є обов'язковим для всіх підприємств, які займаються виробництвом або введенням в обіг харчових продуктів. Ця система базується на аналізі ризиків і визначенні критичних контрольних точок з метою запобігання виникнення небезпечних ситуацій на будь-якому технологічному етапі виробництва м'ясопродуктів. Визначення критичних контрольних точок та їх регулярний моніторинг дозволяє своєчасно проводити на виробництві коригувальні дії. У даній статті розглянуто види небезпечних чинників, які виникають під час технологічного процесу виробництва сиров'ялених м'ясопродуктів. Запропонована система управління небезпечними чинниками та методика аналізу критичних контрольних точок відповідно до системи НАССР*

**Ключові слова:** система НАССР, ризики, критичні контрольні точки (ККТ), сиров'ялені м'ясопродукти

**Актуальність проблеми.** Процес євроінтеграції, який розпочався в нашій країні, вимагає від переробної галузі впровадження міжнародних стандартів і норм ведення бізнесу з метою забезпечення якості та безпечності продуктів харчування, що реалізуються як на внутрішньому, так і на зовнішньому ринку [1, 8, 16, 21].

В Україні безпечність харчової продукції регулюється наступними нормативними документами: технічні регламенти, стандарти, санітарні правила та норми, Постанови Кабінету Міністрів України, накази відповідних міністерств і відомств та ін.

Поняття «безпечність» є базовим у системі управління ризиками підприємств харчової галузі (Hazard Analysis and Critical Control Points), мета якої полягає у виявленні критичних точок і факторів, які впливають на безпечність готового продукту, в усуненні виявлених безпекових факторів та постійному контролю за виробництвом продукції підприємств харчової галузі, зокрема, м'ясопереробних [10, 12, 14]. У дослідженні [5, 20] визначено, що впровадження систем управління безпечністю харчових продуктів, заснованих на принципах НАССР, інтенсивно розпочалось після прийняття Директиви про гігієну харчових продуктів. Головний акцент зроблено на те, що, у кожній країні ЄС було розроблено національні регламенти і стандарти. Контроль виконання вимог НАССР покладено на уповноважені урядом органи.

Закон України «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів» [7] регулює правовідносини між державою, виробниками харчової продукції, продавцями та споживачами. Він передбачає загальнодержавну концепцію впровадження принципів НАССР. Крім того, цей закон передбачає адаптацію законодавства України відповідно до вимог ЄС щодо сфери безпечності та якості харчових продуктів і регламентує механізм поетапного впровадження систем управління безпечністю харчових продуктів на підприємствах харчової промисловості, зокрема, м'ясопереробної.

Регламент ЄС № 852/2004 [9] з 1 січня 2006 року встановлює, що «НАССР є обов'язковою для європейських виробників харчових продуктів і кормів», дані вимоги діють і на експортерів харчової продукції, у т. ч. з України. Для отримання міжнародного ветеринарного сертифікату українські виробники м'яса та м'ясопродуктів повинні мати дієву систему НАССР. Отримання зазначеного сертифікату — обов'язкова умова експорту.

На сьогодні в Україні діють декілька добровільних стандартів, які виробники можуть застосовувати: ДСТУ 4161:2003 [3] та ДСТУ ISO 22000:2007 [4].

Закон України «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів» [7] висуває вимоги щодо механізму впровадження принципів системи НАССР. Ці вимоги стосуються підприємств, продукція яких у своєму складі містить сировину тваринного походження. Насамперед, це — м'ясокомбінати та бійні, а також молокозаводи. Слід зазначити, що 20 вересня 2016 року набув чинності розділ VII цього закону, згідно з яким в усіх операторів ринку харчових продуктів мають бути принаймні програми-передумови впровадження системи НАССР і встановлені терміни — 3 роки з моменту набрання чинності цією нормою, тобто до 20 вересня 2019 року.

Вимоги з впровадження системи НАССР викладені у наказі Мінагрополітики «Про затвердження вимог щодо розробки, впровадження та застосування постійно діючих процедур, заснованих на принципах Системи управління безпечністю харчових продуктів (НАССР)» від 1 жовтня 2012 року № 590, зареєстрований в Міністерстві юстиції України 9 жовтня 2012 року за № 1704/22016 (зі змінами) [6]. Відповідно до п. 1.4 цього закону застосування системи НАССР полягає в:

- 1) ідентифікації можливих небезпечних факторів;
- 2) встановленні того, де і як небезпечні фактори можуть бути усунуті, попереджені або приведені до прийняттого рівня;
- 3) розробці відповідних заходів і навчанні персоналу;
- 4) впровадженні заходів на практиці та документуванні процедур.

За даними Держспоживслужби [2], в Україні НАССР діє на 362 об'єктах, які належать до першої «хвилі» впровадження. Водночас, тих, котрі підпадають під цю категорію, але на 20 липня 2018 року ще не впровадили — 867 об'єктів. Тобто за два місяці до дедлайну (20 вересня 2018 р.) понад дві третини підприємств не виконали норму закону.

Таким чином, на підставі вище зазначених нормативно-правових актів на харчових підприємствах, у тому числі і на м'ясопереробних, повинна розроблятися система управління ризиками, і впроваджуватися методика аналізу критичних контрольних точок (ККТ).

**Мета роботи** — проаналізувати технологічний процес виробництва сиров'ялених м'ясопродуктів, визначити небезпечні чинники та критичні контрольні точки на всіх етапах виробництва.

**Матеріал і методи досліджень.** Нормативно-правові акти та НД АПК, системний підхід, аналіз, порівняння та узагальнення отриманих даних.

**Результати досліджень.** Характерною особливістю системи НАССР (Hazard Analysis and Critical Control Points) є планомірний контроль виробництва харчових продуктів при попередньому визначенні всіх можливих факторів, пов'язаних з повним циклом обігу харчових продуктів, починаючи з умов вирощування тварин, середовища вирощування промислових тварин та гідробіонтів, сировини, її переробки, виробництва продукції та закінчуючи дослідженнями готового продукту, контролем за його зберіганням, транспортуванням і реалізацією [13, 17, 19].

Система управління безпекою харчових продуктів базується на 7 принципах, що визнані міжнародною спільнотою [4, 11]:

- 1) Проведення аналізу небезпечних факторів, які пов'язані з виробництвом харчових продуктів, на всіх стадіях життєвого циклу останніх, починаючи з розведення або вирощування і до кінцевого споживання, включаючи стадії обробки, переробки, зберігання та реалізації. Виявлення умов для виникнення небезпечних факторів і вжиття заходів, необхідних для їх контролю.

- 2) Визначення контрольних критичних точок (етапів, операцій) технологічного процесу, в яких має здійснюватися контроль для усунення небезпечних факторів або мінімізації можливостей їх появи. Під «етапом», «операцією» розуміється будь-яка стадія виготовлення харчових продуктів, включаючи сільськогосподарське виробництво, постачання сировини, підбір інгредієнтів, переробку, зберігання й транспортування, складування й реалізацію.

- 3) Визначення критичних меж, яких слід дотримуватись для того, щоб упевнитися, що критична точка знаходиться під контролем.

4) Розробка системи моніторингу, яка дає змогу забезпечити контроль у критичних точках технологічного процесу шляхом запланованих випробувань або спостережень.

5) Розробка коригувальних дій, які повинні здійснюватися, якщо результати моніторингу свідчать, що у певній критичній точці контроль не здійснюється.

6) Розробка процедур перевірки, яка дає змогу впевнитись в ефективності функціонування системи.

7) Документування всіх процедур і даних, що належать до системи.

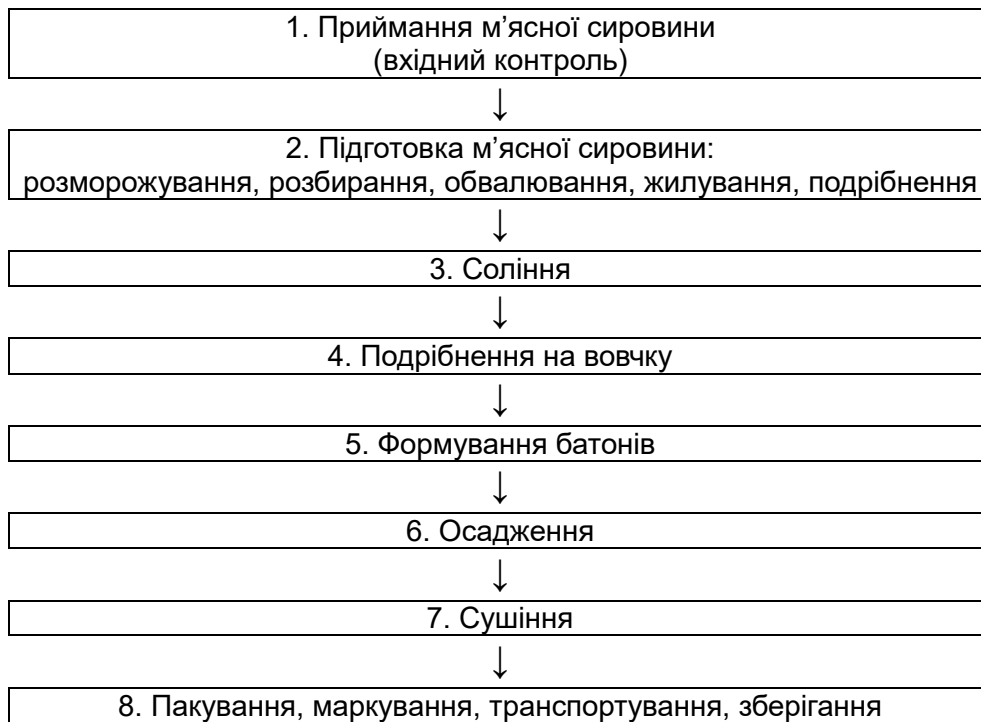
Основна мета цих принципів — допомогти підприємствам зосередитись на тих етапах (операціях) технологічного процесу та умовах виробництва, які є критичними для безпеки харчових продуктів.

Для того, щоб на підприємствах м'ясної промисловості максимально ефективно використовувати принципи, закладені в HACCP, потрібно пройти певні стадії проектування, визначити небезпечні чинники та ідентифікувати критичні контрольні точки.

Відповідно до ДСТУ ISO 22000:2007 [4] небезпечний чинник харчового продукту — це біологічний (Б), хімічний (Х) або фізичний (Ф) агент у харчовому продукті, або стан харчового продукту, що потенційно може спричинити негативний вплив на здоров'я.

Аналіз небезпечних чинників має ключове значення для результативної системи управління безпечністю харчових продуктів, оскільки його проведення допомагає в упорядкуванні знань, необхідних для встановлення результативної комбінації заходів керування.

Усі небезпечні чинники виявляли і враховували, проаналізувавши технологічний процес (схему виробництва) сиров'ялених м'ясопродуктів (рис.).



**Рис.** Технологічна схема виробництва сиров'ялених м'ясопродуктів.

На наступному етапі досліджень ми проаналізували існуючі небезпечні чинники під час технологічного процесу виробництва сиров'ялених м'ясопродуктів.

Слід зазначити, що до біологічних ризиків ми відносили мікробіологічне псування (результат діяльності мікроорганізмів), до фізико-хімічних — температуру, кислотність, до фізичних — механічні домішки, а до хімічних — хімічні речовини (токсичні елементи, радіонукліди, пестициди, антибіотики та ін.).

Проаналізувавши етапи виробництва ми склали карту небезпечних чинників і запропонували заходи керування ними в залежності від технологічної стадії виробництва сиров'ялених м'ясопродуктів (табл.).

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

**Таблиця** — Небезпечні чинники при виробництві сиров'ялених м'ясопродуктів і заходи керування ними

Найменування операції (стадія технологічного процесу)	Небезпечний чинник	Контрольовані показники	Заходи керування
1	2	3	4
Вхідний контроль (приймання сировини)	Б Ф Х Ф Х	Мікробіологічні показники, температура м'яса, кислотність, сторонні домішки, радіонукліди, антибіотики, токсичні елементи	– перевірка супровідних документів; – контроль санітарного стану транспортних засобів; – контроль за Т м'яса, його рН, – визначення ступеня свіжості м'яса; – мікробіологічні дослідження (визначення загального мікробного числа, виявлення патогенних мікроорганізмів); – фізико-хімічні дослідження; – визначення вмісту радіонуклідів, антибіотиків, токсичних елементів
Обвалка, жиловка	Б Ф Х Ф	Сторонні домішки, температура, мікробіологічні критерії	– контроль санітарно-гігієнічного стану приміщення, обладнання, робочого інструменту (мийка та дезінфекція); – контроль виконання обвалки і жиловки м'яса; – дотримання умов навколишнього середовища (Т, вологість, швидкість руху повітряних потоків)
Подрібнення м'ясої сировини	Б Ф Х	Температура, мікробіологічні критерії	– контроль санітарно-гігієнічного стану обладнання, робочого інструменту (мийка та дезінфекція); – мікробіологічне дослідження сировини; – дотримання умов навколишнього середовища (Т, вологість, швидкість руху повітряних потоків)
Підготовка суміші для посолу	Б Ф Х Ф Х	Сторонні домішки, токсичні елементи, температура, вологість	– контроль санітарно-гігієнічного стану приміщення, обладнання, робочого інструменту (мийка та дезінфекція); – вхідний контроль додаткової сировини; – дослідження фізико-хімічних показників сировини; – дотримання умов навколишнього середовища (Т, вологість, швидкість руху повітряних потоків)
Стадія посолу шматочків м'яса (ККТ 1)	Ф Х Ф	Температура, кислотність, час посолу, концентрація розсолу, сторонні домішки	– дотримання рецептури та технології; – регулювання співвідношення «м'ясо: розсол» у співвідношенні 3:1; – дотримання всіх санітарно-гігієнічних правил; – посилений систематичний контроль даних параметрів навколишнього середовища (Т, вологість); – контроль масової частки кухонної солі в продукті та розсолі; – контроль масової частки ніриту натрію в розсолі; – дотримання термінів використання суміші для посолу

1	2	3	4
Формування фаршу	Б Ф Х Ф	Мікробіологічні показники	<ul style="list-style-type: none"> <li>– контроль санітарно-гігієнічного стану приміщення, обладнання, робочого інструменту (мийка та дезінфекція);</li> <li>– дотримання рецептури та технології;</li> <li>– розрахунок та внесення стартової культури;</li> <li>– контроль активності стартової культури;</li> <li>– контроль масової частки кухонної солі та нітриту натрію;</li> <li>– систематичне вимірювання рівня накопичення молочнокислої мікрофлори;</li> <li>– температура готового фаршу не повинна бути більше ніж 10–12 °С</li> </ul>
Формування батонів	Б Х	Мікробіологічні показники ковбасної оболонки, токсичні елементи для штучних оболонок	<ul style="list-style-type: none"> <li>– вхідний контроль ковбасної оболонки (супровідні документи, наявність дефектів, товщина, еластичність, маркування);</li> <li>– контроль санітарно-гігієнічного стану приміщення, обладнання, робочого інструменту (мийка та дезінфекція);</li> <li>– мікробіологічні дослідження фаршу;</li> <li>– контроль щільності набивки батонів;</li> <li>– рівномірне навішування батонів на раму, контроль відстані між батонами)</li> </ul>
Вирівнювання концентрації суміші для посолу у продукті (ККТ 2)	Ф Х Б	Температура, відносна вологість повітря, мікробіологічні показники	<ul style="list-style-type: none"> <li>– суворий контроль тривалості процесу вирівнювання, який повинен бути вдвічі більший, ніж сам посол;</li> <li>– забезпечення сталості умов навколишнього середовища (Т, вологість, швидкість руху повітряних потоків) на виробництві для досягнення необхідної концентрації;</li> <li>– контроль за тривалістю процесу в заданих умовах;</li> <li>– контроль масової частки вологи у продукті;</li> <li>– контроль санітарно-гігієнічного стану приміщення, обладнання, робочого інструменту (мийка та дезінфекція)</li> </ul>
В'ялення або дозрівання (ККТ 3)	Ф Х Б	Температура, тривалість, відносна вологість повітря, мікробіологічні показники	<ul style="list-style-type: none"> <li>– контроль санітарно-гігієнічного стану приміщення, обладнання, робочого інструменту (мийка та дезінфекція);</li> <li>– систематичний контроль за умовами навколишнього середовища (Т, вологість, швидкість руху повітряних потоків) і тривалістю процесу;</li> <li>– дотримання технології;</li> <li>– контроль досягнення стандартної вологості продукту 28–38 %</li> </ul>
Охолодження (ККТ 4)	Ф Х Б	Температура, тривалість, відносна вологість повітря, мікробіологічні показники	<ul style="list-style-type: none"> <li>– контроль санітарно-гігієнічного стану приміщення, обладнання, робочого інструменту (мийка та дезінфекція);</li> <li>– систематичний контроль за умовами навколишнього середовища (Т, вологість, швидкість руху повітряних потоків) і тривалістю процесу</li> </ul>

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

1	2	3	4
Пакування готової продукції (ККТ 5)	Б Ф Х	Мікробіологічні показники, температура	<ul style="list-style-type: none"> <li>– санітарний контроль приміщень і транспортних засобів;</li> <li>– дотримання правил транспортування і зберігання;</li> <li>– контроль температури в товщі батону (від 0 до 12 °С);</li> <li>– дотримання температурно-вологісного режиму;</li> <li>– безпека пакувальних матеріалів (санітарно-гігієнічні характеристики, токсичні елементи);</li> <li>– суворий контроль обладнання (працездатність, ветеринарно-санітарні правила, герметичність пакування)</li> </ul>

Примітка: Б — біологічний, Ф — фізичний, Х — хімічний.

За результатами даних, наведених у таблиці, встановлено п'ять критичних контрольних точок (ККТ) у технологічному процесі виробництва сиров'ялених м'ясопродуктів: ККТ 1 — стадія посолу шматочків м'яса; ККТ 2 — вирівнювання концентрації суміші для посолу у м'ясі; ККТ 3 — в'ялення або дозрівання; ККТ 4 — охолодження; ККТ 5 — пакування готової продукції.

Порушення на кожній ККТ, під час кожної технологічної стадії (як разом, так і окремо) може призвести до активного розвитку мікрофлори. Перевищення допустимих показників мікробіологічного фону не тільки спричиняє псування продукції і впливає на термін її зберігання, але й служить причиною харчових інфекцій у людини, що має епідеміологічне значення.

Крім того, слід зазначити, що мікробіологічна безпечність харчових продуктів ніколи не може бути досягнута лише дослідженням готового продукту, яке лише визначає фактичну наявність або відсутність небезпечних чинників. У зв'язку з цим необхідно застосовувати профілактичний підхід системи НАССР, заснований на принципі «від лану — до столу» для того, щоб попереджувати виникнення небезпечних чинників на всіх ланках харчового ланцюга, з особливим акцентом на первинну ланку — технологію виробництва.

Саме тому забезпечення якості та безпеки сиров'ялених м'ясопродуктів передбачає вдосконалення практик щодо гігієни харчових продуктів, впровадження сучасних критеріїв безпечності, у тому числі мікробіологічних, а також розробку та впровадження сучасних методів ветеринарно-санітарного контролю. Для попередження небезпечних чинників у процесі виробництва сиров'ялених м'ясопродуктів необхідно впровадити заходи керування на стадіях ККТ щоб уникнути отримання негативних наслідків на виході готового продукту.

Поряд з вищезазначеним слід відмітити, що обов'язковим та невід'ємним аспектом у виготовленні будь-якого продукту є суворе виконання ветеринарно-санітарних заходів на всіх технологічних етапах [15, 16, 18].

**Висновки.** За результатами аналізу технологічного контролю виготовлення сиров'ялених м'ясопродуктів встановлено 5 контрольних критичних точок, на яких необхідно суворо контролювати наявність небезпечних чинників (бактеріологічних, фізичних, хімічних). Ідентифікація та попередження небезпечних чинників дозволяє своєчасно контролювати якість і безпечність м'ясопродуктів і виключити можливість їх небезпечного впливу на здоров'я людини.

#### **Список літератури**

1. Гавриляк М. Я., Шестопап Г. С. Системний підхід до безпечності харчової продукції в ЄС та Україні. *Товарознавчий вісник*. 2017. № 10. С. 5–13.
2. Два роки дедлайну — що потрібно зробити АПК для переходу на систему НАССР [Електронний ресурс]. Режим доступу : <https://agropolit.com/spetsproekty>.
3. ДСТУ 4161:2003. Системи управління безпечністю харчових продуктів. Вимоги. Київ : Держспоживстандарт України, 2003. 15 с.
4. ДСТУ ISO 22000:2007. Системи управління безпечністю харчових продуктів. Вимоги до будь-яких організацій харчового ланцюга. Київ : Держспоживстандарт України, 2007. 39 с.
5. Дьяченко Ю. В. Безпечність харчової продукції, як фактор конкурентоспроможності підприємств м'ясопереробної галузі України. *Економічні та соціальні аспекти розвитку України на початку XXI*

- століття : тези доп. V міжнар. наук.-практ. конф. (Одеса, 12–13 жовт. 2017 р.). Одеса : ОНАХТ, 2017. С. 127–129.
6. Про затвердження вимог щодо розробки, впровадження та застосування постійно діючих процедур, заснованих на принципах Системи управління безпечністю харчових продуктів (НАССР) : наказ Міністерства аграрної політики та продовольства України № 590 від 01.10.2012 із змінами від 25.12.15 року. *Відомості Верховної Ради України*. 2012. № 81. Ст. 3290.
  7. Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів : закон України від 1997 року № 771/97-ВР із змінами від 04.04.18 року. *Відомості Верховної Ради України*. 1998. № 19. Ст. 98.
  8. Ребезов М. Б., Павлова Ю. К., Черепова А. М. Обеспечение качества и безопасности продукции на основе применения принципов ХАССП. *Качество продукции, технологий и образования : сб. тр. науч.-практ. конф.* Магнитогорск, 2007. С. 36–37.
  9. Регламент Европейського Парламенту та Ради (ЄС) № 852/2004 від 29 квітня 2004 року щодо гігієни харчової продукції. Страсбург, 2004. 24 с.
  10. Садриева Д. И., Николаева Н. Г., Горюнова С. М., Гарифуллина А. Р. Анализ безопасности на предприятиях пищевой промышленности. *Вестник Казанского технологического университета*. 2013. Т. 16, № 5. С. 274–277.
  11. Фейнер Г. Мясные продукты. Научные основы технологии, практические рекомендации. Санкт-Петербург : Профессия. 2010. 720 с.
  12. Фомушкин В. И., Благовещенская В. В., Носенко С. М., Болаговещенский И. Г. Интеллектуальная экспертная автоматизированная система контроля рисков микробиологической порчи мясного сырья. *Пищевая промышленность*. 2015. № 6. С. 14–16.
  13. Feiner G. Meat products handbook. Practical science and technology. Cambridge : Woodhead Publishing Limited, 2006. 671 p.
  14. Hafizu I. K., Beyza H. U., Canan H. Applications of miniaturized and portable near infrared spectroscopy (NIRS) for inspection and control of meat and meat products. *Food Reviews International*. 2019. Vol. 35, No. 9. P. 201–220. DOI: <https://doi.org/10.1080/87559129.2018.1514624>.
  15. Paliy A. P., Nanka O. V., Naumenko O. A., Prudnikov V. G., Paliy A. P. Preconditions for eco-friendly milk production on the modern dairy complexes. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2019. Vol. 9, No. 1. P. 56–62.
  16. Paliy A. P., Rodionova K. O., Braginec M. V., Paliy A. P., Nalivayko L. I. Sanitary-hygienic evaluation of meat processing enterprises productions and their sanation. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2018. Vol. 8, No. 2. P. 81–88. DOI: [https://doi.org/10.15421/2018\\_313](https://doi.org/10.15421/2018_313).
  17. Pierson M. D., Corlett D. A. HACCP: Principles and Applications. London, 2012. 211 p.
  18. Rodionova K. O., Paliy A. P. Analysis of quality and safety indicators of poultry meat during primary processing. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*. 2017. Vol. 3, № 2. P. 5–9.
  19. Ropkins K., Ferguson A., Beck A. J. Development of Hazard Analysis by Critical Control Points (HACCP) procedures to control organic chemical hazards in the agricultural production of raw food commodities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2003. Vol. 43, No. 3. P. 287–316. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408690390826536>.
  20. Shilenge L. B., Shale K., Matodzi T., Machete F., Tshelane C. A review of microbial hazards associated with meat processing in butcherries. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017. Vol. 9, No. 1. P. 1–6. DOI: <https://doi.org/10.1080/20421338.2016.1219485>.
  21. Shkromada O., Skliar O., Paliy A., Ulko L., Gerun I., Naumenko O., Ishchenko K., Kysterna O., Musienko O., Paliy A. Development of measures to improve milk quality and safety during production. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. 2019. Vol. 3, No. 11(99). P. 30–39. DOI: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2019.168762>.

## ANALYSIS AND IDENTIFICATION OF HAZARDOUS FACTORS IN THE TECHNOLOGY OF MANUFACTURE OF RAW CURED SAUSAGES

**Rodionova K. O.**

*Luhansk National Agrarian University, Kharkiv, Ukraine*

**Paliy A. P.**

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

*In Ukraine, the use of HACCP systems (Hazard Analysis and Critical Control Points) is mandatory for all enterprises, which are involved in the process of production or penetration of food products in everyday life. This system is based on the analysis of risks and on the analysis of critical identification of control points in order to prevent the emergence of hazardous situations at any technological stage in the production of meat products. Definition of critical control points and their regular monitoring allow to carry out corrective actions at work timely. The types of hazardous factors that arise during the technological process of production of raw meat products are analyzed in the paper. The system of management of dangerous factors and the method of analysis of critical control points in accordance with the HACCP system is proposed. According to the results of the analysis of technological control of the manufacture of row-dried products, it was inserted 5 control critical points, where it is strictly necessary to control the presence of hazardous factors (bacteriological, physical, chemical): the stage of salting of meat pieces, equalizing the concentration of salting mixture in meat, drying or ripening cooling and packaging of finished products. Detailed measures of their management have been developed. Detection and prevention of hazardous factors allow to control the quality and safety of meat products timely and exclude the possibility of their dangerous effects on human health*

**Keywords:** HACCP system, risks, critical control points (CCP), raw smoked meat products



## 5. БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК 636.22/.28.082.453.53:57.086.13

DOI 10.36016/VM-2019-105-15

### РЕЗУЛЬТАТИ КРІОКОНСЕРВАЦІЇ СПЕРМИ БУГАЇВ У РОСЛИННОМУ ФОРТИФІКАНТІ З ВИКОРИСТАННЯМ СОРБЕНТУ

Павленко Л. М, Стегній Б. Т., Дідик Т. Б., Павленко Б. М.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [pabbex@gmail.com](mailto:pabbex@gmail.com)

Представлені результати виготовлення та використання фітофортифіканту цитоплазматичних мембран спермійів на основі гідролізату бобових з додатковою очисткою сорбентами для кріоконсервації спермійів бугаїв як альтернативи жовтковим розріджувачам. Метою досліджень було досягнення біобезпечності, тобто уникнення інфекційних гінекологічних захворювань, збудники яких можуть передаватись з жовтком, підвищення рівня запліднюючої здатності самиць після їх штучного осіменіння та створення умов для розробки нових довгозбережних кріопротективних розріджувачів. Встановлено, що зерна бобових та їх гідролізати містять токсичний елемент нікель, який негативно впливає на цитоплазматичну мембрану спермійів. Для зменшення цього впливу нами була проведена робота з вивчення дії різних сорбентів

**Ключові слова:** біобезпечність, екстракт сої та сочевиці, заплідненість, корови, кріоконсервація, сорбенти, сперма бугаїв, фіторозріджувач

Сучасна індустрія репродукції в молочному скотарстві базується на широкому впровадженні штучного осіменіння корів і телиць глибокозамороженою спермою. При консервуванні сперми холодом, обов'язковим компонентом кріопротективного середовища є нативний жовток через велику кількість в ньому фосфоліпідів і ліпопопротеїдів, які, взаємодіючи з плазматичними мембранами спермійів, модифікують їх в напрямку підвищення міцності та стабільності [3–5, 9]. Адсорбуючись ліпофільними і гідрофільними ділянками плазматичних мембран, ліпоїдні комплекси майже у три рази потовщують клітинну мембрану, що підсилює стійкість гамет до пошкодження температурним, осмотичним, імунним, фізико-хімічним і механічним факторами [5–8, 9]. Тому жовткові розріджувачі стали основою виробничих технологій консервування сперми тварин. Разом з тим, внаслідок ряду суттєвих недоліків, жовток не є ідеальним компонентом штучних розріджувачів. Основним його недоліком є термолабільність, що позбавляє можливості надійно стерилізувати жовткові розріджувачі загальнодоступними способами [10].

Доведено, що жовток у багатьох випадках є носієм патогенної та умовно-патогенної мікрофлори [10]. При знесенні яйця несучкою, його шкаралупа вступає в контакт з безліччю забруднених мікрофлорою предметів навколишнього середовища (клоаки, повітря, пилу, підстилки та обладнання пташника, яєчних лотків, рук операторів та інше). На шкаралупі виявляють від декількох тисяч до 20–23 мільйонів мікробних клітин [1, 2]. Бактерії, проникаючи через шкаралупу та підшкаралупну оболонку яйця, заражають його, причому, цей процес відбувається дуже швидко, впродовж 30 хвилин після знесення яйця несучкою. Встановлено проникнення через шкаралупу наступних збудників: пуллорозу, тифу, чуми, аспергільозу, мікоплазмозу, сальмонельозу та ряду вірусних інфекцій [2]. З яєць, знесених курами, хворими на туберкульоз, пташиний грип або орнітоз, виділені мікобактерії туберкульозу, вірус H5N1 і збудник пташиного хламідіозу — *Chlamydia psittaci*. Не виключена також можливість додаткової контамінації розріджувача мікрофлорою в умовах племінного підприємства при виготовленні його *ex tempore* [7]. У зв'язку з цим, застосування жовтка в якості захисного компонента кріопротективних розріджувачів становить неконтрольовану загрозу мікробного забруднення сперми і поширення вірус-бактерійних захворювань під час проведення штучного осіменіння, що призводить до порушення репродуктивної функції, абортів, мертвонародженості та безпліддя.

Разом з тим, використання рекомендованих концентрацій жовтка може бути токсичним, що призводить до аглютинації статевих клітин і зниження їх виживаності під час кріоконсервації

[6, 10, 13, 14], втрати прозорості через наявність у жовтку великої кількості жовткових глобул [10]. Ячний жовток так само може бути забруднений залишками фармакологічних препаратів, токсичних для спермій, що використовують у птахівництві при проведенні лікувально-профілактичних заходів. У ячному жовтку виявлені високі концентрації гормону прогестерону, який може провокувати передчасну акросомну реакцію спермій і знижувати їх запліднюючу здатність.

Враховуючи викладене, виникла гостра необхідність виключення зі складу штучних середовищ курячого жовтка та пошуку його заміників з компонентів рослинної природи [8, 12].

Встановлено, що зерна бобових та їх гідролізати містять токсичний елемент нікель, який негативно впливає на цитоплазматичну мембрану спермій [11]. Для зменшення цього впливу нами була проведена робота щодо підбору оптимального співвідношення гідролізатів і порівняння дії різних сорбентів для очищення розріджувача.

**Мета роботи** — захист маточного поголів'я від розповсюдження захворювань, які передаються жовтком курячих яєць через заморожену або охолоджену до  $0^{\circ}\text{C}$  сперму плідників. Підвищення санітарно-гігієнічного рівня штучного осіменіння корів шляхом заміни в розріджувачі компонентів тваринного походження (жовток курячих яєць, лактоза) на рослинні (різні гідролізати бобових) та удосконалення його якості шляхом додаткового очищення сорбентами. Визначення запліднюючої здатності сперми, замороженої у дослідному рослинному фортифіканті з використанням сорбенту.

**Матеріали та методи.** Об'єкт досліджень — нативна, заморожена та деконсервована сперма бугаїв. Досліди проводили на розділених еякулятах. Сперма бугаїв-плідників була отримана та кріоконсервована за Харківською технологією у відділі біотехнології репродукції Інституту тваринництва НААН. Оцінка якості сперми нативної та замороженої була проведена за ДСТУ 35.35-97, ДСТУ 87.78-2018.

Рослинний розріджувач сперми був отриманий із борошна сої та сочевиці червоної методом водно-гліцеринової екстракції згідно винаходу (патент України № 36667 від 10.11.2008 р.). Далі розріджувач був стерилізований методом пастеризації [10]. Термообробку дослідного середовища проводили на водяній бані. В якості контролю було використано стандартне жовткове середовище, призначене для заморожування сперми бугая за харківською технологією [9].

Для дослідження запліднюючої здатності сперми законсервованої в розріджувачі з антишоковими, протективними компонентами рослинної природи було заморожено в дослідному та контрольному розріджувачах по 70 спермодоз і відправлено у господарство. Результати дослідів визначали за такими біологічними показниками: рухливість сперми після відтаювання в балах (а), виживаність в годинах (t).

У господарстві для осіменіння було сформовано 2 групи корів, дослідна та контрольна, по 15 голів за принципом пар аналогів, яких осіменяли маночервікальним способом. Результати запліднюючої здатності визначали за відсутністю повторного стану охоти впродовж 90 діб і ректальними дослідженнями.

**Результати досліджень.** У ході досліджень установили кращу ефективність заморожування сперми бугая у фіторозріджувачі.

За результатами проведених досліджень були отримані наступні результати: у зразку № 1 (екстракт сої): а —  $3,56 \pm 0,18$ ; t —  $4,50 \pm 0,38$  годин; у зразку № 2 (80 % сої: 20 % сочевиці): а —  $4,0 \pm 0,2$ ; t —  $7,2 \pm 0,5$  годин; у зразку № 3 (70 % сої: 30 % сочевиці): а —  $4,5 \pm 1,3$ ; t —  $7,8 \pm 0,4$ ; у контролі: а —  $4,0 \pm 1,3$ ; t —  $7,5 \pm 0,3$  годин.

Отримані дані свідчать про те, що біологічні показники сперми після деконсервації були кращими при використанні гідролізатів бобових у співвідношенні 70 % сої та 30 % сочевиці червоної.

Також були проведені пошукові дослідження щодо оптимізації безжовткових розріджувачів шляхом додавання в них сорбентів у процесі їх виготовлення та наступним їх видаленням шляхом центрифугування з метою підвищення якісних показників сперми (табл.).

В якості сорбентів використовували активоване вугілля стандартне, діоксид кремнію та високодисперсний діоксид кремнію. Сорбенти додавались у відношенні 3 % від об'єму середовища. За результатами досліджень кращі показники виявились у сперми, розрідженої середовищем з використанням діоксиду кремнію високодисперсного.

Таблиця — Якісні показники сперми в залежності від використання різних сорбентів

Показники сперми	Контроль № 1 з екстрактом сої (70 %) та сочевиці (30 %)	Очищення активованим вугіллям стандартним	Очищення діоксидом кремнію	Очищення діоксидом кремнію високодисперсним	Контроль № 2 ЛЖГР (Харківська технологія)
Рухливість (а), бали	4,5 ± 1,3	3,9 ± 1,1	4,9 ± 1,2	5,57 ± 1,0	4,0 ± 1,3
Показник абс. вижив. (Sa)	16,8 ± 1,2	11,2 ± 1,1	17,2 ± 1,3	19,2 ± 1,1	15,8 ± 0,2
Виживаність (t), години	7,8 ± 0,4	5,0 ± 0,5	7,9 ± 0,3	8,7 ± 0,5	7,5 ± 0,3

Результати досліджень (табл.) свідчать, що біологічні показники сперми після деконсервації були вище у зразках, очищених високодисперсним діоксидом кремнію в порівнянні з контролем № 1 і № 2.

**Висновки.** 1. Найкращі біологічні показники сперми бугая були отриманні при використанні полікомпонентного розріджувача рослинного походження, у складі якого міститься 70 % гідролізату з насіння сої та 30 % — з насіння сочевиці з додатковою очисткою сорбентом високодисперсним діоксидом кремнію. Дослід на визначення запліднюючої здатності сперми, замороженої в дослідному розріджувачі у порівнянні з контролем провели через Зміївський племсервіс у господарстві ім. Гагаріна Зміївського району Харківської області. У господарстві відібрано по 15 голів корів у контролі та досліді за принципом пар-аналогів, тобто одного фізіологічного стану, ваги та годівлі за одним раціоном. Результати запліднення були враховані за відсутності повторної охоти до 90 діб після осіменіння.

2. Заплідненість корів у контролі склала 64,3 ± 1,2 %, а у досліді 68,8 ± 1,1 %, що було вище на 4,5 % за рахунок більшої кількості повноцінних спермій у дослідному середовищі. Механізм захисту розріджувача з сумісними компонентами ліпопротеїнів (сої 80 % + сочевиці червоної 20 % + 5 % гліцерину) при кріоконсервації в тому, що вони надають додаткові властивості сперміям, впливають на цитоскелет і мембранні структури спермій. Це сприяє реакції ооцит–спермій при заплідненні (полісахаридний комплекс), захищають мембрани спермій від перекисної деструкції, яка, зазвичай, підсилюється при кріоконсервації (антиоксидантний комплекс), підвищує енергію ослаблених клітин до рівня фізіологічної норми.

### Список літератури

1. Бреславец В. О., Шоміна Н. В., Ракова А. А. Вплив хімічної обробки у другу половину інкубації на мікробну контамінацію та виводимість яєць. *Ветеринарна медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* 2005. Вип. 85, т. 1. С. 164–169.
2. Загаевский И. Источники обсеменения яиц микрофлорой и их дезинфекция. *Птицеводство.* 1969. № 6. С. 33–34.
3. Милованов В. К., Селиванова О. А. Разбавители для спермы сельскохозяйственных животных. *Проблемы животноводства.* 1932. № 2. С. 75–86.
4. Милованов В. К. Биология воспроизведения и искусственное осеменение животных : монография. Москва : Изд. с.-х. литературы, журналов и плакатов, 1962. 696 с.
5. Осташко Ф. И. О природе холодого удара живчиков. *Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных : сб. науч. тр. НИИЖЛП УССР.* Харьков, 1963. С. 22–41.
6. Осташко Ф. И., Павленко М. П. Способ консервирования спермы животных : а. с. № 523693. 1974.
7. Осташко Ф. И. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей. Киев : Урожай, 1978. 255 с.
8. Осташко Ф. И. Павленко М. П., Павленко Л. Н. Новый фортификант плазматических мембран и его влияние на биологические показатели спермиев быков при консервации. / *з'їзд Українського товариства кріобіології і кріомедицини* (Харків, 18–20 жовтня 1995 р.). Харків, 1995. С. 188–189.
9. Павленко М. П. Усовершенствование и разработка технологии кріоконсервации спермы быков-производителей : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Харьков, 1981. 18 с.
10. Павленко Л. М. Довгозбережене середовище для кріоконсервації сперми бугаїв та способи його виготовлення : автореф. дис. ... канд. с.-г. наук. Харків, 1999. 19 с.
11. Павленко Л. М., Павленко Б. М., Орбаченко О. Л., Дідик Т. Б., Болотін В. І., Бойко В. В., Беседа Н. В. Вивчення фізико-хімічних показників, мікроелементного складу гідролізатів бобових і їх вплив на кріобіологічні параметри сперми бугаїв-плідників. *Ветеринарна медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* 2018. Вип. 104. С. 276–280.

12. Павленко Л. М., Павленко Б. М., Павленко М. П. Изучение антишокового действия и санитарных свойств растительных модификаторов, цитоплазматических мембран при консервации спермы быков. *Науково-технічний бюлетень*. 1996. С. 315–321.
13. Ostashko F. I., Pavlenko M. P., Pavlenko L. N. Antychock effect of yolk and components in cooling spermatozooids of bull, ram and boar. *10<sup>th</sup> International Congress of Animal Reproduction*. Illinois (USA), 1984. Vol. 1. P. 209–211.
14. Phillips P. H., Lardy H. A. A yolk-buffered pabulum for the preservation of the bull semen. *J. Dairy Sci.* 1940. Vol. 23. P. 394–396.

## THE RESULTS OF CRYOPRESERVATION OF BULL SPERM IN VEGETABLE FORTIFIER USING SORBENT

**Pavlenko L. M., Stegnyy B. T., Didyk T. B., Pavlenko B. M.**

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

*The paper presents results of the production and use of the phytofortificant of cytoplasmic sperm membranes based on legume hydrolysate with additional purification with sorbents for cryopreservation of bull sperm as an alternative to yolk diluents. The aim of the research was to achieve biosafety, that is, to avoid infectious gynecological diseases, agents of which can be transmitted by the yolk, to increase the fertility rate of females after artificial insemination and to create the conditions for the development of new long-term cryoprotective diluents. It has been established that legumes grain and their hydrolysates contain a toxic nickel element that adversely affects the cytoplasmic membrane of sperm. To reduce this influence, we conducted a study of the action of different sorbents. Activated charcoal standard, silicon dioxide and fine silica were used as sorbents. Sorbents were added in relation of 3% of the volume of medium. According to the results of the studies, the best results were in semen, diluted with medium using high-dispersion silicon dioxide*

**Keywords:** cryopreservation, semen of bulls, phyto-diluent, soy and lentil extract, sorbents, biosafety, cows, fertilization

УДК 619:616.98-036.22:578.824.11

DOI 10.36016/VM-2019-105-16

## АКТИВНІСТЬ АНТИРАБІЧНИХ АНТИТІЛ У СИРОВАТКАХ КРОВІ ЗА РІЗНИХ УМОВ ЗБЕРІГАННЯ

**Рудой О. В., Дзюба Я. М., Полупан І. М.**

*Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, Київ, Україна, e-mail: [vetmedic@ukr.net](mailto:vetmedic@ukr.net)*

*У статті представлені результати дослідження стабільності титрів антирабічних антитіл у сироватках крові за різних умов зберігання. Встановлено, що оптимальною умовою зберігання сироваток крові є заморожування за температури  $-20^{\circ}\text{C}$ . Заморожування зразків показало стабільність збереження рівня антирабічних антитіл протягом 84 днів. Максимальний термін зберігання сироваток крові за температури  $+4^{\circ}\text{C}$  становив 14 днів. Повторні цикли заморожування-розморожування критично впливали на показники активності антирабічних антитіл, на рівні 3-го циклу титри антирабічних антитіл у сироватках крові були у два-три рази менші ніж вихідні значення*

**Ключові слова:** сироватки крові, антирабічні антитіла, титр антитіл, умови зберігання, температура

Правильний відбір, пересилання й зберігання дослідних проб є необхідною умовою для забезпечення отримання достовірних результатів лабораторних досліджень. Відомо, що «збереженість антитіл» для лабораторних досліджень становить від кількох тижнів до багатьох років, що залежить від властивостей останніх і умов зберігання [1]. Однак для кожного антитіла є як загальні рекомендації, так і свої оптимальні умови щодо зберігання [2].

Нетривале зберігання антитіл відбувається, як правило, за температури  $\leq 4^{\circ}\text{C}$  у стерильних пробірках від одного до декількох тижнів. За більш високих температур відбуваються хімічні реакції, такі як окислення та протеолітична деградація білку, що може бути наслідком мікробного обміненія. Крім того, очищені антитіла за температури  $4^{\circ}\text{C}$  можуть осаджуватись.

Постійні цикли заморожування-розморожування можуть призвести до денатурації білка, як наслідок — зниження специфічної активності антитіл. Тому для збереження антитіл важливо користуватися спеціалізованим лабораторним обладнанням [3].

Для збільшення терміну зберігання антитіл, особливо очищених, потрібно застосувати відповідні діапазони температур, підтримку рН та, за потреби, додавання стабілізуючих речовин ікріопротекторів (сахароза, гліцерин, етиленгліколь тощо). Так, наприклад, кінцева концентрація гліцерину становить 10 або 50 %, а БСА — 0,05–0,5 % відповідно. Для стерилізації слід використовувати мембранні фільтри з діаметром пор близько 0,20–0,45 мкм та/чи обробку протимікробними засобами. Найбільш поширеними з останніх є тіомерсал натрію у кінцевій концентрації 0,01 %, ProClin 300 — 0,02 %, азид натрію — 0,02–0,05 % відповідно, гентаміцину сульфат — 50 мкг/см<sup>3</sup> [2]. Азид натрію не слід застосовувати у дослідженнях *in vivo* та *in vitro*, так як він індукує апоптозклітин і перешкоджає більшості реакцій кон'югації [4].

**Метою** наших досліджень було визначити активність антирабічних антитіл у сироватках крові за різних умов зберігання.

**Матеріали і методи.** Зразки сироваток крові були відібрані від собак і котів, що надійшли на дослідження до лабораторії з діагностики сказу науково-дослідного вірусологічного відділу ДНДІЛДВСЕ. Дослідження антирабічної віруснейтралізуючої активності сироваток крові проводилося методом FAVN-тест. Реакцію проводили в культурі клітин ВНК-21 С13 (ATCC CCL-10), вирощеній в 96-лункових мікропанелях з постійною дозою референс-штаму вірусу сказу CVS-11 (ATCC VR 959) [5].

Дослідні сироватки крові були розділені за видом, віком тварин й величиною титру антитіл. Крім індивідуальних досліджень, сформовано пули сироваток крові, які були розділені на декілька аліквот. Окремо було відібрано моносироватки з мінімальним захисним рівнем титру антитіл до вірусу сказу (0,50–0,87 МО/см<sup>3</sup>). Сироватки крові від собак (D) і котів (C) були об'єднані в пули (p) і розділені: 1 — тварини від 3 до 12 міс.; 2 — від 1 до 5 років; 3 — старше 5 років. Аналогічно відібрані моносироватки (m). Аліквоти зберігали за температури +4 ± 0,5 °C та замороженими (-20 ± 0,2 °C). Аналіз сироваток проводили за допомогою FAVN-тесту в день досліджень та відбору аліквот, через 7, 14, 21 і 28 діб, а також на 56-ту та 84-ту доби. Окремі аліквоти піддавали 5-ти разовому розморожуванню-заморожуванню з визначенням титру антитіл до вірусу сказу.

**Результати досліджень.** Зберігання сироваток крові за t +4 ± 0,5 °C залежить від первинного отримання та часу транспортування зразків до лабораторій. Перед дослідженням зразки сироваток крові були інактивовані за температури +56 ± 0,5 °C протягом 30 хв.

Показники титрів антирабічних антитіл у дослідних сироватках крові представлені в табл. 1.

**Таблиця 1** — Показники титрів антирабічних антитіл у сироватках крові тварин, що зберігалися за температури +4 ± 0,5 °C

№ з/п	Пул (p) сироватки крові	Вихідний титр, МО/см <sup>3</sup>	Зберігання за температури +4 ± 0,5 °C; період досліджень, діб; МО/см <sup>3</sup>				
			7	14	21	28	56
1	Dp1	1,95	1,95	2,56	2,56	1,95	—
2	Dp2	5,87	5,87	5,87	—	—	—
3	Dp3	5,87	10,21	5,87	5,87	—	—
4	Cp1	4,46	4,46	3,38	3,38	—	—
5	Cp2	17,74	17,74	17,74	—	—	—
6	Cp3	40,64	17,74	3,38	—	—	—

Примітка: «—» — непридатна — згорання білку, контамінація мікроорганізмами.

З табл. 1 видно, що на 7-му та 14-ту доби відмічали незначне зниження титру антитіл порівняно з вихідними значеннями. За результатами досліджень початковий титр у дослідних сироватках становив від 1,95 до 17,74 МО/см<sup>3</sup> і зберігався відносно сталим упродовж дослідження. У дослідній сироватці Cp3 спостерігали значне зниження титру антитіл. Так, на 7-му добу з 0,36 log<sub>50</sub> розведення сироватки — 17,74 МО/см<sup>3</sup> та на 14-ту — 1,08 log<sub>50</sub> — відповідно 3,38 МО/см<sup>3</sup> (заражаюча доза вірусу сказу CVS-11 була в межах 127–253 TCID<sub>50</sub>). Максимальний термін зберігання за звичайних умов холодильника становив для усіх сироваток крові 14 діб, на 21-шу добу були придатними 50 % сироваток крові, а на 28-му добу — лише одна відповідно.

У подальшому сироватки крові для досліджень були не придатними — у більшості випадків контаміновані.

У заморожених зразках сироваток крові спостерігали стабільність титру антитіл до вірусу сказу впродовж усього дослідного періоду. У деяких зразках встановлені відхилення специфічної активності до вірусу сказу в межах статистичної похибки реакції (табл. 2).

**Таблиця 2** — Стабільність титру антирабічних антитіл, що зберігалися за температури  $-20 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$

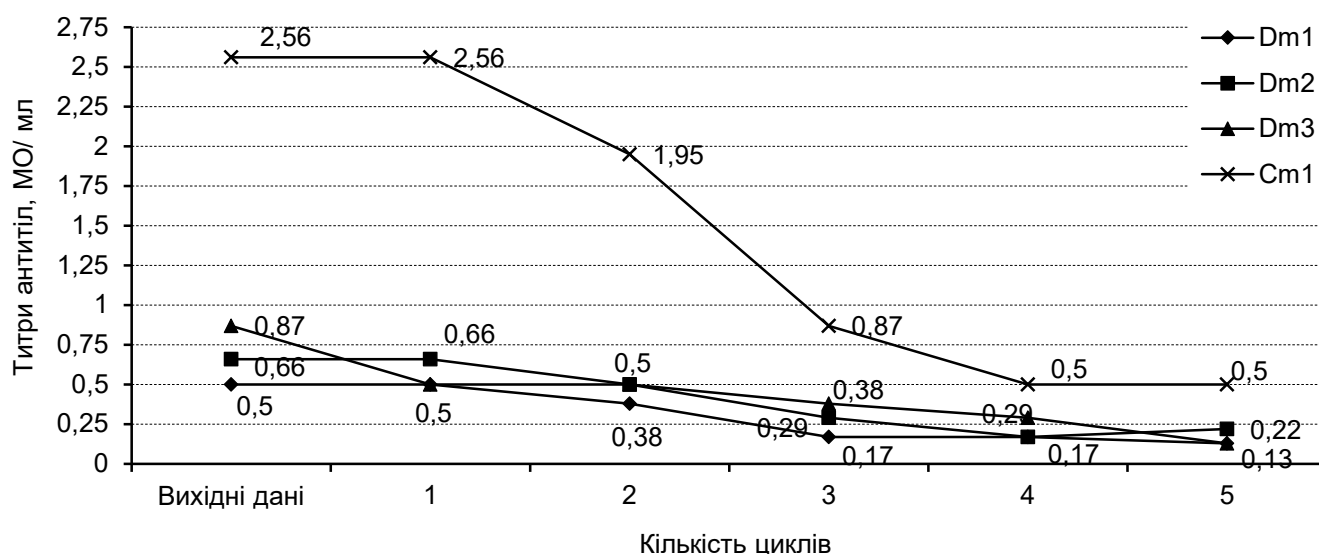
№ з/п	Пул (р) сироватки крові	Вихідний титр, МО/см <sup>3</sup>	Зберігання за температури $-20 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$ ; період досліджень, діб; МО/см <sup>3</sup>					
			7	14	21	28	56	84
1	Dp1	1,95	1,95	2,56	2,56	1,95	2,56	2,56
2	Dp2	5,87	5,87	5,87	5,87	5,87	5,87	5,87
3	Dp3	5,87	5,87	5,87	5,87	5,87	5,87	5,87
4	Cp1	3,38	4,46	4,46	3,38	4,46	3,38	3,38
5	Cp2	17,74	17,74	17,74	17,74	17,74	17,74	17,74
6	Cp3	40,64	17,74	17,74	17,74	17,74	17,74	17,74

Наступним етапом досліджень було визначення впливу п'ятикратного заморожування-розморожування на антирабічну активність сироваток крові (табл. 3).

**Таблиця 3** — Вплив температурних перепадів на титр антирабічних антитіл

№ з/п	Моно (т) сироватки крові	Вихідний титр, МО/см <sup>3</sup>	Зберігання за температури $-20 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$ ; період досліджень через кожні 7–14 діб; МО/см <sup>3</sup>				
			кратність заморожування-розморожування				
			1	2	3	4	5
1	Dm1	0,50	0,50	0,38	0,17	0,17	0,13
2	Dm2	0,66	0,66	0,50	0,29	0,17	0,22
3	Dm3	0,87	0,50	0,50	0,38	0,29	0,13
4	Cm1	2,56	2,56	1,95	0,87	0,50	0,50

У результаті заморожування та розморожування сироваток крові спостерігали значне зниження титру антитіл вже після 2-го циклу. Так, вже на рівні 3-го циклу заморожування-розморожування показники активності антирабічних антитіл сироватках крові становили у два-три рази менше значення порівняно з вихідними титрами (рис.).



**Рис.** Динаміка титрів антирабічних антитіл залежно від кратності заморожування-розморожування.

Отримані результати досліджень свідчать, що повторні цикли температурних перепадів критично впливають на титр антирабічних антитіл. Так, у дослідній сироватки Sm1 з вихідний рівень антитіл до вірусу сказу становив 2,56 МО/см<sup>3</sup>, після 5 циклів заморожування-розморожування рівень антитіл знизився до мінімального захисного — 0,50 МО/см<sup>3</sup> (рис.). Інші дослідні сироватки Dm1, Dm2, Dm3, в яких початкові показники були 0,50–0,66–0,87 МО/см<sup>3</sup> відповідно, вже на 2–3-му циклах мали рівень антитіл нижче за мінімально захисний — 0,38–0,29–0,17 МО/см<sup>3</sup>.

**Висновки.** Результати, представлені в нашому дослідженні, показали, що для неочищених сироваток крові заморожування за температури  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  є оптимальною умовою для зберігання. Заморожування зразків показало стабільність у збереженні рівня антирабічних антитіл. Після розморожування дослідних зразків сироваток крові в подальшому їх слід зберігати за температури  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Однак, зберігання сироваток крові за температури  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$  придатне лише для короткочасного зберігання (не більше 14 діб).

Отримані результати свідчать, що температура й тривалість зберігання сироваток крові є важливим фактором в отриманні достовірних результатів, що необхідно враховувати спеціалістам ветеринарної медицини при надсиланні зразків на дослідження у спеціалізовані лабораторії.

### Список літератури

1. Argentieri M. [et al.] Antibodies are forever: a study using 12–26-year-old expired antibodies. *Histopathology*. 2013. Vol. 63. P. 869–876.
2. Johnson M. Antibody shelf life/How to store antibodies. *Materials and Methods*. 2012. Vol. 2. P. 120.
3. De Ceuninck F. [et al.]. Development of an enzyme-linked immunoassay for the quantification of YKL-40 (cartilage gp-39) in guinea pig serum using hen egg yolk antibodies. *Journal of Immunological Methods*. 2001. Vol. 252. P. 153–161.
4. Ji D., Kamalden T. A., del Olmo-Aguado S., Osborne N. N. Light- and sodium azide-induced death of RGC-5 cells in culture occurs via different mechanisms. *Apoptosis*. 2011. Vol. 16, No. 4. P. 425–437.
5. OIE (World Organisation for Animal Health). Chapter 3.1.17. Rabies (infection with rabies virus and other lyssaviruses) [Electronic Resource]. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees)*. Paris: OIE, 2018. Access mode : [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.01.17\\_RABIES.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.17_RABIES.pdf).

### ACTIVITY OF ANTIRABIC ANTIBODIES IN BLOOD SERUM UNDER THE DIFFERENT STORAGE CONDITIONS

**Rudoi O. V., Dzyuba Ya. M., Polupan I. M.**

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

*Objective: to determine of the activity of antirabic antibodies in blood serum under the different conditions of storage. Materials and methods. Samples of serums from dogs and cats, which got into the laboratory of rabies diagnostics of SSRILDVSE for research. Rabies virus-neutralizing activity of blood serum was tested using the FAVN test. Serum samples were sorted by species, age of animals and titer of rabies antibodies. Aliquots were stored at a temperature of  $+4 \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  and  $-20 \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$  and exposed to 5-fold defrosting-freezing. The tests were carried out at the beginning, after 7, 14, 21, 28, 56, 84 days. Results. Period of storage of blood serum at a temperature  $+4 \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  was 28 days for one of test samples, three of samples were stored for 21 days, but the maximum period for all samples was 14 days. The initial titers of rabies antibodies in sera ranged from 1.95 to 17.74 IU/cm<sup>3</sup> and were relatively stable during the period of experiment. In frozen samples of serum the stability of the titer of rabies antibodies was observed throughout the period of experiment. As a result of freezing and thawing of serum, a decrease in the activity of anti-rabies antibodies was observed. Two to three times decrease compared with the initial values was already observed on the 3<sup>rd</sup> cycle. The initial indicators were at the level of 0.50–0.66–0.87 IU/cm<sup>3</sup>. On the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> cycles, the antibody level was 0.38–0.29–0.17 IU/cm<sup>3</sup>, respectively, which is below the minimum protective titer — 0.50 IU/cm<sup>3</sup>. Conclusion: The results presented in our study, showed that for serum freezing the temperature of  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  is the optimal condition for storage. Freezing samples showed stability in maintaining the level of titers of rabies antibodies. After thawing of experimental samples of serum, they should be stored at a temperature of  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , but not longer than for 14 days. The results obtained indicate that the temperature and duration of storage of serum is an important factor in obtaining reliable results. It should be taken into account by veterinary medicine specialists when transfer samples for research in laboratory*

**Keywords:** serum, rabies antibodies, antibody titer, storage conditions, temperature



## 6. ІМУНОЛОГІЯ ТА КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ

УДК 619:616.15-07:577.1:591.11.05:636.1

DOI 10.36016/VM-2019-105-17

### СТАН МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ У ОРГАНІЗМІ КОНЕЙ У ВЕСНЯНИЙ ПЕРІОД

**Кравченко Н. О.**

*Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна*

**Коваленко Л. В., Руденко О. П., Бойко В. С.**

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

*У статті представлено результати дослідження біохімічних показників крові коней, які характеризують стан метаболічних процесів у їхнім організмі. Установлено спрямованість і ступінь змін показників білкового профілю, макроелементного та вітамінного обмінів, що призводить до розвитку метаболічного синдрому*

**Ключові слова:** *коні, сироватка крові, метаболічний синдром, білковий обмін, макроелементи, вітаміни*

Найчастіше у коней за фізичного перетренування реєструється підвищена втомлюваність, задишка, помірна тахікардія, рідше — аритмії. У спортивних коней після фізичного навантаження може розвиватися дегідратація, уремичний синдром, синдром цитолізу, дисбаланс електролітів. Усі ці порушення можуть указувати на перебіг метаболічного синдрому [1, 4].

Хоча в сучасному науковому світі проблематиці метаболічного синдрому приділяється все більше уваги, одночасно з тим на практиці ця патологія майже не реєструється. На цей час у медицині приділяється значна увага питанню метаболічного синдрому, особливо беручи до уваги його асоціацію із цукровим діабетом і захворюваннями серцево-судинної системи [2, 3].

За останні роки було виявлено, що коні теж мають подібне захворювання, але цей синдром приводить не до інфаркту, а до ламініту. У будь-якому випадку це хвороба обміну речовин. Діагностувати метаболічний синдром у коней украй важко, оскільки тести, які використовують у медицині, не працюють. Тому в останні роки у конярстві пропонується диспансеризація поголів'я два рази на рік, у міжсезоння, особливо навесні, у період збільшення світлового дня та середньодобової температури повітря, і, як наслідок, прискорення обміну речовин [11].

**Метою досліджень** було оцінити стан метаболічних процесів у коней у весняний період.

**Матеріали та методи.** Відбір проб крові для біохімічних досліджень проводили у весняний період у кінноспортивному клубі Дніпровського району Дніпропетровської області від клінічно здорових жеребців 7–9 років української верхової породи ( $n = 12$ ). У сироватці крові визначали рівень загального білка, білковий профіль (альбуміни, глобуліни) спектрофотометрично [6], а також кислотну ємність — за методом Неводова [7]. Стан мінерального обміну вивчали за рівнем загального кальцію — методом титрування та неорганічного фосфору — спектрофотометрично за загальноприйнятими методами [8]. Визначення у сироватці крові вмісту сечовини, креатиніну, активності гепатоспецифічних ензимів: аланін- (АлАТ; КФ 2.6.1.2) та аспартатамінотрансфераз (АсАТ; КФ 2.6.1.1), лужної фосфатази (ЛФ; КФ 3.1.3.1) та глюкози проводили з використанням стандартних наборів реактивів виробництва фірми «P. Z. CORMAY» (Польща). Уміст вітамінів А та Е у сироватці крові визначали спектрофотометрично [9].

Під час досліджень маніпуляції над тваринами були проведені відповідно до принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986) і «Спільними принципами експериментів на тваринах», схваленими І Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

**Результати досліджень.** Як відомо, близько 70,0 % маси сироватки крові складають білки. Специфіка їх обміну в тому, що утворюються вони в одних клітинах і органах, а утилізуються — в інших. У зв'язку з цим, сироватка крові — динамічна рівноважна система, а її протеїнограма відображає стан різних тканин [8].



Аналізуючи дані табл. 1 необхідно відмітити, що, незважаючи на вміст загального білка в межах референтного рівня, рівень альбумінів у сироватці крові тварин був знижений у середньому на 12,0 % відносно мінімальних значень референтного рівня, а рівень β- та γ-глобулінів був підвищений на 5,2 і 11,3 % відповідно відносно максимальних значень референтного рівня.

**Таблиця 1** — Біохімічні показники сироватки крові коней (M ± m, n = 12)

<b>Показник</b>	<b>Референтний рівень *</b>	<b>Результати</b>
Загальний білок, г/л	65,0–78,0	66,72 ± 0,94
Альбумін, %	35,0–45,0	30,80 ± 1,35
α-глобуліни, %	14,0–18,0	15,12 ± 0,56
β-глобуліни, %	20,0–26,0	27,35 ± 0,56
γ-глобуліни, %	18,0–24,0	26,71 ± 0,83
Сечовина, ммоль/л	3,5–6,0	5,79 ± 0,11
Креатинін, мкмоль/л	80–180	93,6 ± 0,14

Примітка: \* — референтний рівень за даними В. І. Левченка [10].

Аналіз індивідуальних показників білкового профілю сироватки крові коней свідчить, що рівень альбумінів був зменшений у 75,0 % досліджених тварин з максимальним зниженням 38,3%. Концентрація β-глобулінів була підвищеною у 66,0 % жеребців, γ-глобулінів — у 91,6 % тварин, при цьому максимальне підвищення склало 11,9 і 31,6 % відповідно.

Такий тип протеїнограми може вказувати насамперед на зниження природної резистентності організму. Тому, надалі було вивчено рівень кінцевих продуктів азотистого обміну — сечовини та креатиніну, рівень яких знаходився у межах референтного рівня та складав 5,79 ± 0,11 ммоль/л і 93,6 ± 0,14 мкмоль/л відповідно.

Оскільки більша частина сироваткових білків синтезується у клітинах печінки, були досліджені показники, які є індикаторами її функціонального стану, а саме ензими, дані щодо активності яких наведено в табл. 2.

**Таблиця 2** — Активність ензимів у сироватці крові коней (M ± m, n = 12)

<b>Показник</b>	<b>Референтний рівень *</b>	<b>Результати</b>
АлАт, ммоль/л×год	0,30–0,90	0,53 ± 0,01
АсАт, ммоль/ л×год	3,00–12,0	1,86 ± 0,01
Лужна фосфатаза, нмоль/с×л	1667–4167,5	2168,2 ± 131,2

Примітка: \* — референтний рівень за даними В. І. Левченка [10].

Отримані результати свідчать, що значення активності ЛФ та АлАТ були у межах референтного рівня фізіологічної норми, а активність АсАТ — зниженою у досліджених тварин в середньому на 38,0 % щодо нижньої межі референтного рівня. Як відомо, АсАТ переважно локалізується в мітохондріях гепатоцитів і в цитоплазмі кардіоцитів, а також у цитоплазмі клітин м'язів [10], тому стан активності досліджених гепатоіндикаторних ферментів може свідчити про порушення функціонування м'язової системи, зокрема — міокарду коней.

Аналізуючи дані табл. 3, можна зробити висновок, що концентрація глюкози, яка є основним енергетичним субстратом, і за рахунок окиснення якої забезпечується 50,0 % енергетичних потреб організму, була підвищеною в середньому на 28,4 % відносно максимальних значень референтного рівня. При цьому гіперглікемія була зафіксована у 50,0 % досліджених тварин з максимальним перевищенням на 44,0 %. На нашу думку, це підвищення має аліментарне походження. Такий стан у організмі коней може призвести до резистентності до власного інсуліну, а в подальшому, як наслідок, до розвитку діабету [10].

Результати, представлені в табл. 3, також вказують на порушення мінерального обміну в досліджених тварин. Так, встановлено середньогрупове зниження загального кальцію та неорганічного фосфору на 16,0 і 58,6 % відповідно у порівнянні з нижньою межею референтного рівня. Установлене порушення мінерального обміну може бути пов'язане як з низьким рівнем мікроелементів у кормах, так і з нестачею вітаміну D (нестачею в раціоні або недостатньому засвоєнні внаслідок розладу функцій травного каналу) [10].

Таблиця 3 — Біохімічні показники сироватки крові коней ( $M \pm m$ ,  $n = 12$ )

Показник	Референтний рівень *	Результати
Глюкоза, ммоль/л	3,0–5,0	6,42 ± 0,14
Загальний кальцій, ммоль/л	2,5–3,5	2,10 ± 0,02
Неорганічний фосфор, ммоль/л	1,45–1,78	0,60 ± 0,01
Кислотна ємність, мг%	270–400	400,0 ± 15,0
Вітамін А, мкг/%	9,0–16,0	3,24 ± 0,05
Вітамін Е, мкг/мл	28–45	14,4 ± 0,21

Примітка: \* — референтний рівень за даними В. І. Левченка [10].

Організм коней дуже чутливий до нестачі вітамінів і мінеральних елементів. Навіть за достатньої кількості органічних і мінеральних речовин, нестачі або відсутності вітамінів, у коней порушується обмін речовин, що спричиняє своєрідні захворювання — авітамінози, а також швидке стомлення, поганий апетит, затримку в рості, у кобил — погане запліднення, тварини слабшають і виснажуються [4]. У результаті наших досліджень встановлено, що вміст вітаміну А у сироватці крові тварин у середньому був знижений на 64,0 %, а вітаміну Е — на 48,6 % відповідно відносно мінімальних значень референтного рівня. Зниження рівня вітаміну А у сироватці крові — А-гіповітаміноз спостерігається за недостатнього надходження каротину, порушення перетворення його у вітамін А при хронічному запаленні слизової оболонки кишечника, нестачі в раціоні протеїну, кобальту, йоду, легкорозчинних цукрів, наявності в кормах антивітамінів (нітритів, хлоридів нафталіну та ін.) [5]. Оскільки вітамін Е бере участь в окиснювально-відновних реакціях у м'язовій тканині, є антиоксидантом ненасичених жирних кислот, то за його нестачі накопичуються токсичні продукти окиснення, що, зокрема, викликають порушення стабілізації лізосомальних мембран [5, 9].

Звертає на себе увагу той факт, що середньогруповий показник кислотної ємності сироватки крові сягає верхньої межі референтного рівня (табл. 3). Отримані результати дають підґрунтя для передбачення ризику розвитку алкалозу в організмі тварин [10].

**Висновки.** Отже, встановлені зміни біохімічних показників крові коней свідчать, що у клінічно здорових тварин наявне порушення обміну речовин, яке надалі може призвести до розвитку метаболічного синдрому. З метою корекції виявлених метаболічних порушень рекомендується аналізувати поживну цінність і збалансованість кормів і впродовж року періодично проводити дослідження стану метаболічних процесів у коней, звертаючи особливу увагу на його контролювання у весняний період.

### Список літератури

1. Маколкин В. И. Метаболический синдром / В. И. Маколкин. — Москва : Медицинское информационное агентство, 2010. — 144 с.
2. Agro C. M. Considerations for the use of restricted, soaked grass hay diets to promote weight loss in the management of equine metabolic syndrome and odesity / C. M. Argo, H. A. Dugdale, C. M. McGowan // *Veterinary Journal*. — 2015. — Vol. 206, No 2. — P. 170–177.
3. Максимович І. А. Метаболічний синдром у коней за фізичного навантаження (критерії діагностики) / І. А. Максимович, Л. Г. Слівінська // *Біологія тварин*. — 2017. — Т. 19. — С. 36–42.
4. Луценко М. В. Динаміка біохімічних показників крові коней різних напрямів використання під впливом фізичного навантаження / М. В. Луценко, М. П. Петрушко // *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія "Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва"*. — 2015. — Вип. 207. — С. 168–175.
5. Методичний посібник «Вітаміни» / Г. Ф. Жегунов, Т. І. Якименко, В. О. Приходченко [та ін.]. — Харків : ХДЗВА, 2017. — 24 с.
6. Биохимические методы исследований в клинике / под ред. А. А. Покровского. — Москва : Медицина, 1969. — 652 с.
7. Лабораторные исследования в ветеринарии : справ. / под ред. Б. И. Антонова. — Москва : Агропромиздат, 1989. — 320 с.
8. Лабораторные методические исследования в клинике / под. ред. В. В. Меньшикова. — Москва : Медицина, 1987. — 90 с.
9. Методи оцінки інтенсивності перекисного окиснення ліпідів та його регуляції у біологічних об'єктах : метод. реком. / Б. Т. Стегній, Л. В. Коваленко М. Є. Романько [та ін.]. — Харків, 2009. — 64 с.
10. Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин / за ред. В. І. Левченка. — Біла Церква, 2004. — 608 с.
11. Факторні хвороби сільськогосподарських тварин / В. П. Литвин, Л. В. Олійник, Л. Є. Корнієнко [та ін.]. — Біла Церква, 2002. — 303 с.

STATUS OF METABOLIC PROCESSES IN HORSES DURING SPRING PERIOD

Kravchenko N. O.

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

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

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

The purpose of these studies was to determine status of metabolic processes in clinically healthy horses of sport breeds in spring period. Blood samples for biochemical studies were collected from 12 clinically healthy 7–9 month-old stallions of Ukrainian horse breed at Dnipropetrovsk region equestrian club. Protein (albumin, globulin, urea and creatinine) and mineral (common calcium and inorganic phosphorus) metabolic statuses, level of glucose, vitamins A and E and acid, as well as activity of hepatospecific enzymes (ALT, AST and AP) were determined using common techniques. It has been found that common protein level was within the limits of physiologic norm, although the level of albumins was decreased at the average rate of 12.0%, and the level of  $\beta$ - and  $\gamma$ -globulins was increased at the average rates of 5.2 and 11.3% respectively. AST activity was decreased at the rate of 38.0% regarding to physiological norm. Thereby, urea and creatinine concentrations were within the referent levels. Hyperglycaemia was observed in 50.0% of tested animals with maximal excess at the rate of 44.0%. Also, decreasing of common calcium and inorganic phosphorus levels was determined at the rate of 16.0 and 58.6%, vitamins A and E — at the rate of 64.0 and 48,6% respectively, in comparison to lower level of physiological norm. The average index of acid capacity reached maximal referent levels. At the same time, it was increased in 33.3% of animals. Therefore, detected changes in biochemical indices in horse blood evidence that various metabolic disorders progress in clinically healthy stallions at spring and may furtherly lead to the appearance of metabolic syndrome

**Keywords:** horses, blood serum, metabolic syndrome, protein metabolism, macronutrients, vitamins

УДК 619:616.995.132:577.1:591.11.05:636.92

DOI 10.36016/VM-2019-105-18

РІВЕНЬ БІЛКІВ І ІМУНОГЛОБУЛІНІВ У КРОВІ  
КРОЛІВ ЗА ПАСАЛУРОЗНОЇ ІНВАЗІЇ

Дуда Ю. В.

Дніпровський державний аграрно-економічний університет,  
Дніпро, Україна, e-mail: [dudajulia1976@gmail.com](mailto:dudajulia1976@gmail.com)

Прус М. П.

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

За впливу збудника *Passalurus ambiguus* у крові кролів, у порівнянні з аналогічними показниками здорових тварин, виявили достовірно високий ( $p < 0,001$ ) вміст загального протеїну, глобулінів,  $\gamma$ -глобулінів, IgA, IgG, IgM і креатиніну та низькі рівні сечової кислоти та протеїнового коефіцієнту. Істотні зміни цих показників вказують на посилення імунного захисту

**Ключові слова:** пасалуроз, протеїновий обмін, *Passalurus ambiguus*, альбуміни, глобуліни

Вагомим напрямом розвитку м'ясного тваринництва у ряді країн є кролівництво. Потенціал даної галузі полягає у скоростиглості, відносно низькій собівартості утримання, а також можливості розведення кролів в умовах великих механізованих товарних ферм і особистих підсобних господарств [1]. Одним з факторів, що стримує розвиток галузі, є хвороби заразної етіології, серед яких гельмінтози посідають одне з головних місць. З багатьох гельмінтозів кролів на земній кулі кількісно домінуючим є пасалуроз [2–4]. На фермах, де не дотримуються санітарно-гігієнічних вимог, зазвичай 40–90 % кролів уражені пасалурозом [5, 6], при цьому інтенсивність інвазії складає від декількох гельмінтів до понад 100 тисяч гостриків [5].

Проблема пасалурозної інвазії в сучасному кролівництві України залишається досить актуальною, тому що вона характеризується високою контагіозністю та можливістю необмеженого поширення [7]. Отже, постійно ведуться дослідження з вивчення впливу збудника на організм кролів [8] і розробки ефективних лікувально-профілактичних схем.

**Метою досліджень** було визначити вплив збудника пасалурозу на рівень білків та імуноглобулінів у крові кролів.

**Матеріали та методи.** Робота виконувалась впродовж 2015–2018 рр. Експериментальна частина роботи виконана в ТОВ «Олбест» Дніпропетровської області та ТОВ «Кроликофф Плюс» Черкаської області, в яких використовують кліткове утримання тварин з додержанням усіх зоогігієнічних вимог зі збалансованим раціоном годівлі. Лабораторні дослідження проводили в лабораторіях кафедри паразитології та ветсанекспертизи ДДАЕУ.

Для дослідів були відібрані аналогові групи кролів-самців 3–5-місячного віку каліфорнійської породи. За гелмінтоовоскопічними дослідженнями тварин було поділено на дві групи: контрольні — здорові тварини, та дослідні — хворі тварини. З метою визначення рівня ураженості кролів, їх екскременти досліджували за методом МакМастера [9].

Біохімічні дослідження сироватки крові проводили з використанням наборів реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна, м. Дніпро). Спектрофотометричним методом у сироватці крові тварин визначали: вміст загального протеїну (HP010.01) — біуретовим методом, альбумінів (HP002.01) — з індикатором бромкрезоловим зеленим, глобулінів (розрахунковий показник) дорівнює різниці загального протеїну та альбумінів, глобулінові фракції (HP006.01) — методом осадження, протеїновий коефіцієнт (розрахунковий показник) обчислювали як співвідношення альбумінів до глобулінів, сечовину (HP018.01) — діацетилмонооксимним методом, сечову кислоту (HP017.01) — фосфорновольфрамовим методом, креатинін (HP014.01) — методом Яффе-Поппера [10]. Рівень імуноглобулінів А (IgA), G (IgG), М (IgM) визначали методом дискретного осадження за М. Костиною (1983) [11].

При роботі з тваринами дотримувалися вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.1986 р.). Статистичну обробку експериментальних результатів для визначення біометричних показників (середні значення та їх похибки, порівняння середніх значень за критерієм Стьюдента) здійснювали з використанням програми Microsoft Excel 16.

**Результати роботи.** Встановлено, що кролі, хворі на пасалуроз, мали різний рівень інтенсивності інвазії (II). Це в подальшому дало змогу за рівнем II розділити дослідних тварин на три групи: низький (II = 276,47 ± 43,33 яець/г фекалій) — I дослідна, високий (II = 2446,67 ± 422,11 яець/г фекалій) — II дослідна та середній рівень II (II = 1293,75 ± 275,80 яець/г фекалій) — III дослідна група. У фекаліях тварин контрольної групи яець гелмінтів не знаходили.

Вміст загального протеїну крові та його окремих фракцій може змінюватися з різних причин, а саме: за наявності патологічного процесу та його динаміки, ступенем захворювання. Тому визначення вмісту як загального протеїну, так і окремих його фракцій має велике клініко-діагностичне значення (табл.).

**Таблиця —** Характеристика білкового обміну кролів за пасалурозної інвазії (M ± m)

Показники	Здорові тварини (n = 30)	Хворі тварини, групи			
		I (n = 17)	II (n = 15)	III (n = 32)	
Загальний протеїн, г/л	46,34 ± 1,08	63,94 ± 3,68***	76,86 ± 4,18***	69,99 ± 2,96***	
Альбуміни, %	63,43 ± 1,70	47,41 ± 3,90***	36,38 ± 3,37***	42,24 ± 2,75***	
Глобуліни, %	36,57 ± 1,70	52,59 ± 3,90***	63,62 ± 3,37***	57,76 ± 2,75***	
Глобулінові фракції, %	α <sub>1</sub>	4,20 ± 0,50	4,61 ± 0,62	5,98 ± 0,66	5,30±0,46
	α <sub>2</sub>	6,61 ± 0,78	8,90 ± 1,75	13,66 ± 2,08**	10,60±1,37*
	β	7,94 ± 0,76	9,29 ± 1,75	14,64 ± 2,80**	13,09±1,74*
	γ	17,82 ± 1,23	25,36 ± 2,16**	25,34 ± 3,24**	24,38±1,88**
Протеїновий коефіцієнт	1,71 ± 0,17	0,79 ± 0,16***	0,52 ± 0,12***	0,64 ± 0,11***	
Сечовина, ммоль/л	8,57 ± 0,97	7,03 ± 0,54	7,39 ± 0,40	7,20 ± 0,34	
Сечова кислота, мкмоль/л	111,40 ± 7,35	18,00 ± 1,31***	23,36 ± 3,65***	20,51 ± 1,88***	
Креатинін, мкмоль/л	39,73 ± 1,32	56,67 ± 2,95***	58,20 ± 2,96***	57,38 ± 2,06***	

Примітки: \* — p < 0,05, \*\* — p < 0,01, \*\*\* — p < 0,001 порівняно із здоровими тваринами.

У крові хворих тварин усіх рівнів II вміст загального протеїну був достовірно (p < 0,001) високим. Даний показник був вищий в 1,38 разу (з низькою II), в 1,66 разу (з високою II), в 1,51 разу

(з середньою II) порівняно зі здоровими кролями, за рахунок підвищеного вмісту глобулінів відповідно в 1,44 разу ( $p < 0,001$ ), 1,74 разу ( $p < 0,001$ ), 1,58 разу ( $p < 0,001$ ). Такий перерозподіл протеїнів призвів до вірогідного ( $p < 0,001$ ) зниження протеїнового коефіцієнту у 2,16, 3,29 та 2,67 разу відповідно у крові тварин I, II, III груп — за рахунок вірогідно низького відсотка вмісту альбумінів. Найбільш істотні зміни вище вказаних показників спостерігали у крові кролів з високим рівнем II.

Визначення вмісту глобулінових фракцій у крові має велике діагностичне, прогностичне та терапевтичне значення за гельмінтозних хвороб. У хворих на пасалуроз кролів з усіма рівнями II реєстрували достовірно підвищений вміст  $\gamma$ -глобулінів, до фракції якої входить основна частина імуноглобулінів, від 6,58 до 7,54 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з аналогічними показниками здорових тварин. За впливу збудника *Passalurus ambiguus* у крові кролів спостерігали високий вміст  $\beta$ -глобулінів, які містять компоненти комплементу та частину імуноглобулінів: у II та III дослідних групах на 6,70 % ( $p < 0,01$ ) та 5,15 % ( $p < 0,05$ ) проти контрольних. У крові тварин цих же груп відмітили збільшений вміст  $\alpha_2$ -глобулінів на 7,05 % ( $p < 0,01$ ) та 3,99 % ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з контролем. Підвищений вміст  $\gamma$ - та  $\beta$ -глобулінових фракцій за впливу збудника вказує на посилення імунного захисту. Суттєвих змін у концентрації  $\alpha_1$ -глобулінів не виявили.

Показники вмісту сечовини у крові кролів, хворих на пасалуроз, не змінилися порівняно зі здоровими. Істотно низький рівень сечової кислоти (а саме — у 4,77 ( $p < 0,001$ ), 6,19 ( $p < 0,001$ ) та 5,43 ( $p < 0,001$ ) разу відмітили у крові кролів, захворювання яких спричинено збудником *Passalurus ambiguus*, що може бути обумовлено порушенням процесу утворення її в печінці на фоні підвищення виведення кислоти через кишечник і нирки.

Рівень креатиніну в сироватці крові дослідних кролів був достовірно високим: відповідно на 42,64 ( $p < 0,001$ ), 46,49 ( $p < 0,001$ ) та 44,42 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з контролем.

Гуморальними факторами специфічного імунного захисту слизових оболонок є антитіла. Секреторні IgA та IgG, що продукуються локально, становлять більшість всіх антитіл, які утворюються в організмі протягом доби [11]. Паразитування збудника *Passalurus ambiguus* призводить до порушення синтезу імуноглобулінів (рис.).

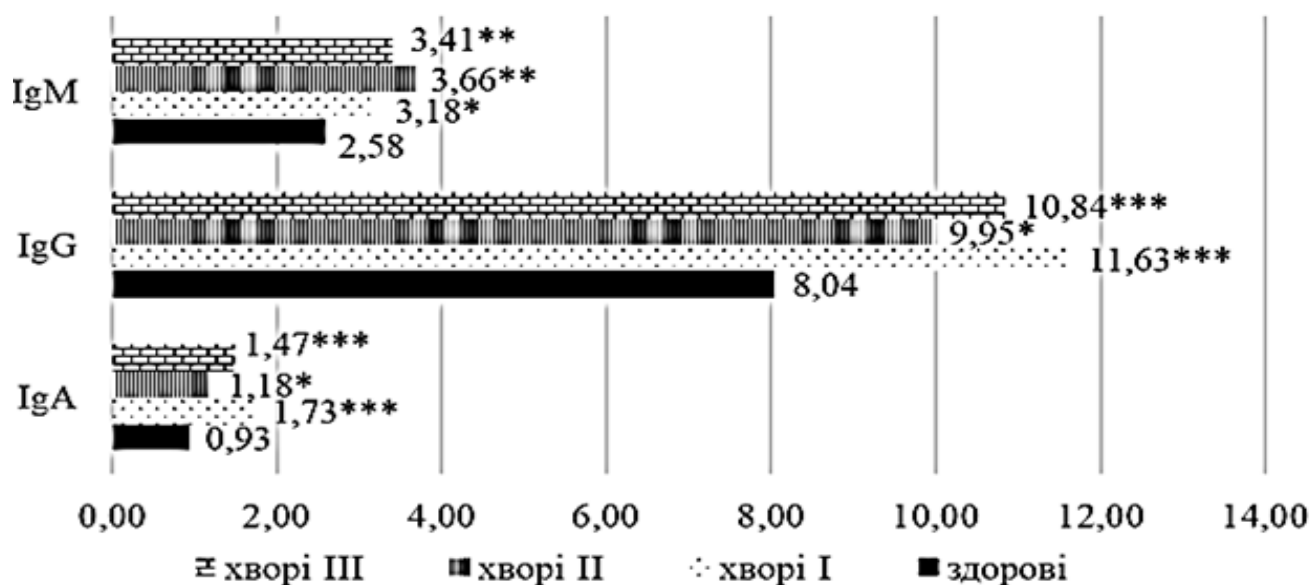


Рис. Вміст IgA, IgG, IgM у крові кролів за пасалурозної інвазії, г/л (\* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,001$  порівняно із здоровими тваринами).

З даних, наведених на рисунку, видно, що у крові кролів I, II та III дослідних груп вміст IgA був вищим відповідно у 2,22 ( $p < 0,001$ ), 1,51 ( $p < 0,001$ ) та 1,88 ( $p < 0,001$ ) рази порівняно з контрольними тваринами. Схожі зміни спостерігались також із вмістом IgG та IgM.

У крові всіх хворих кролів рівень IgG був високим ( $p < 0,001$ ): у 2,16 разу (у тварин з низькою II) до 1,85 разу (у тварин з високою II) порівняно зі здоровими. У крові хворих кролів спостерігався вірогідно ( $p < 0,001$ ) високий рівень IgM проти контролю в 1,58, 1,82 та 1,70 рази відповідно у I, II, III груп. Відомо, що гуморальні антитіла, які відносяться до класів IgG та IgM, здатні пошкоджувати

тіло гельмінтів, формувати преципітати навколо їх вивідних отворів, що порушують нормальний перебіг фізіологічних процесів паразита та зв'язувати їх ферменти [12].

**Висновки.** У крові кролів за впливу збудника *Passalurus ambiguus* достовірно високими були вміст загального протеїну, глобулінів,  $\gamma$ -глобулінів, IgA, IgG, IgM і креатиніну порівняно зі здоровими. Найбільш істотні зміни показників спостерігали у крові кролів з високим рівнем інтенсивності інвазії. Тільки у крові тварин II та III дослідних груп були достовірно вищими вміст  $\beta$ -глобулінів і  $\alpha_2$ -глобулінів. Вище описані зміни за впливу збудника вказують на посилення імунного захисту. Істотно знижений рівень сечової кислоти та протеїнового коефіцієнту за рахунок низького відсотка альбумінів виявили у крові хворих кролів, що може бути обумовлено порушенням процесу синтезу їх у печінці на фоні підвищеного виведення.

**Перспективи подальших досліджень.** Вивчити вплив збудника *Passalurus ambiguus* на показники неспецифічного імунітету кролів.

### Список літератури

1. Паладян З. Економічна ефективність організації невеликих приватних формувань по виробництву продукції кролівництва. *Тваринництво України*. 2004. № 9. С. 12–14.
2. Mykhailiutenko S. M. [et al.]. Pathomorphological changes in the large intestine of rabbits parasitised by *Passalurus ambiguus* (Nematoda, Oxyuridae). *Regul. Mech. Biosyst.* 2019. Vol. 10, No. 1. P. 69–74.
3. Дуда Ю. В., Шевчик Р. С., Кунєва Л. В. Вплив *Passalurus ambiguus* та *Cysticercus pisiformis* на вихід продуктів забою кролів. *Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки*. 2019. Вип. 93. С. 234–239.
4. Sonon T. Enquete sur Pelevage du lapin dans la province du Mono. *Memoire pour obtention du DETS, Abomey-calavi (Benin)*. 1986. P. 123–128.
5. Дубницький А. А. Пассалуроз. Болезни кроликов. Москва : Колос, 1974. С. 184–190.
6. Флориан Дага Даджо. Пассалуроз кроликов в условиях Московской области (биология возбудителя, эпизоотология и меры борьбы) : автореф. дис. ... канд. вет. наук. Москва, 1997. 22 с.
7. Дуда Ю. В., Кунєва Л. В., Христьян О. П. Показники білкового обміну кролів за пасалурозної інвазії. *Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК*. 2017. Т. 5, № 1. С. 93–96.
8. Дуда Ю. В., Прус М. П. Показники клітинного імунітету крові кролів за впливу збудника пасалурозу. *Ветеринарна біотехнологія : бюл.* 2019. Вип. 35. С. 35–44.
9. Пономар С. І., Гончаренко В. П., Соловйова Л. М. Довідник з диференціювання збудників інвазійних хвороб тварин. Київ : Аграрна освіта, 2010. С. 34–37.
10. Влізло В. В. [та ін.]. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Львів : Сполом, 2012. 764 с.
11. Масляно Р. П. [та ін.]. Методичні рекомендації для оцінки та контролю імунної системи тварин. Львів, 2001. 87 с.
12. Гришина Е. А. Иммуно-биологические основы патогенеза кишечных нематодозов : дис. ... канд. биол. наук. Москва, 2019. 278 с.

### LEVELS OF PROTEINS AND IMMUNOGLOBULINS IN RABBIT BLOOD DURING PASSALUROSIS

**Duda Yu. V.**

*Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine*

**Prus M. P.**

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine*

The purpose of our work was to determine the influence of *Passalurus ambiguus* on proteinogram and the level of immunoglobulins in the blood of rabbits. Analog groups of male rabbits of 3–5 months of age were selected for the experiments. Intensity of invasion was determined by the method of the MacMaster. By spectrophotometric method in the blood of animals there was determined: the content of total protein, albumin, globulin fractions, the level of IgA, IgG, IgM — discrete deposition method according to M. Kostina. Rabbits with pasalurosis have different levels of invasion intensity (II): low (II = 276.47 ± 43.33 eggs/g of feces), high (II = 2,446.67 ± 422.11 eggs/g of feces) — II and medium (II = 1,293.75 ± 275.80 eggs/g of feces) — III research groups. We did not find eggs in the control group. The total protein content was significantly ( $p < 0.001$ ) higher — from 1.38 times to 1.66 times compared with healthy ones, due to an increase in the content of globulins from 2.08 times ( $p < 0.001$ ) to 2.26 times ( $p < 0.001$ ), which led to a decrease in the protein ratio from 2.16 times ( $p < 0.001$ ) to 3.29 times ( $p < 0.001$ ) in sick animals with different II. We recorded a high content of  $\gamma$ -globulins almost 1.4 times in these animals compared to healthy ones. We observed a high content of  $\beta$ -globulins and  $\alpha_2$ -globulins by 6.70% and 7.05% ( $p < 0.01$ ) and 5.15% and 3.99% ( $p < 0.05$ ) in animals II and III experimental groups in comparison with control group. A decreased level of uric acid from 4.77 times ( $p < 0.001$ ) to 6.19 times ( $p < 0.001$ ) in rabbits with passalurosis is probably due to a violation of the process of its formation in the liver against the background of an increase in acid output through the intestines and kidneys. The creatinine level in experimental rabbits was significantly higher in groups I, II, III by 42.64% ( $p < 0.001$ ), 46.49% ( $p < 0.001$ ) and 44.42% ( $p < 0.001$ ),

respectively, compared with the control. IgA and IgG levels were high ( $p < 0.001$ ) in comparison to healthy rabbits: 2.22 and 2.16 times (in animals with low II), 1.51 and 1.85 times (in animals with high II). We observed a significant ( $p < 0.001$ ) high level of IgM against the control 1.58 times, 1.82 times and 1.70 times, respectively, in groups I, II, III of infected rabbits. The content of total protein, globulins,  $\gamma$ -globulins, IgA, IgG, IgM and creatinine were significantly higher ( $p < 0.001$ ) in the blood of sick rabbits than healthy ones. We observed significant changes in the proteinogram of rabbits with high levels of II. These changes indicate an increase in the body's immune defense under the influence of *Passalurus ambiguus*. We found a decreased level of uric acid and a protein coefficient due to the low percentage of albumin in sick rabbits. This is possibly due to a violation of the process of their formation in the liver against the background of increased output

**Keywords:** passalurosis, protein metabolism, *Passalurus ambiguus*, albumins, globulins

УДК 619:616-008/009:612.017.1:636.4.082.35

DOI 10.36016/VM-2019-105-19

## СТРЕСОВИЙ СТАН ТА ІМУНОЛОГІЧНИЙ СТАТУС МОЛОДНЯКУ СВИНЕЙ

**Чорний М. В.**

Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна, e-mail: [nycvas@ukr.net](mailto:nycvas@ukr.net)

У статті наведено результати досліджень щодо впливу перегрупувань поросят у різному віці на резистентність їх організму, імунологічний статус, продуктивні якості та збереженість молодняку свиней. Дослідження показали, що перегрупування та переміщення поросят підсисного періоду викликають занепокоєння, зниження продуктивних якостей та прояви діареї

**Ключові слова:** безпека, діарея, жива вага, імунний статус, стрес, поросята

В умовах промислового ведення свиначства, якому притаманне безвигульне утримання, дефіцит природної інсоляції, малозмінюваний мікроклімат [5, 9, 10] обумовлюють стресову дію [2, 11], знижують резистентність організму свиней, особливо молодняку поросят [3, 8], що призводить до шлунково-кишкових захворювань [6, 7]. Пусковим механізмом виникнення незаразних хвороб є несприятливі фактори (перегрупування, раннє відлучення, несприятливі мікрокліматичні умови, неповноцінна годівля), які спричиняють навантаження на організм [1, 4].

Що стосується досліджень з вивчення «факторних» інфекцій, обумовлених дією технології виробництва, то їх виконано недостатньо. Тому з'ясування впливу абіотичних стресових факторів на імунний статус свиней є актуальним з метою їх зниження без масового використання лікарських засобів.

**Мета роботи** — з'ясувати вплив перегрупувань у різному віці на резистентність організму, імунологічний статус, продуктивні якості та збереженість молодняку свиней.

**Матеріали та методи.** Робота проводилась у ТОВ «Стас» на поросятах великої білої породи та їх помісях з ландрас. У досліді використано 60 тварин від народження до двомісячного віку по 20 голів у кожній дослідній групі.

Контрольна група утримувалась від народження до 60-добового віку гніздами, а потім свиней переводили в цех дорощування, дослідна-1 — до 10-добового віку утримували гніздами, а потім проводили одноразове перегрупування за живою масою. Поросята з дослідної-2 перегрупували за живою масою у 5-, 10-, 21- та 30-добовому віці та утримували по 10 голів у станку. Гігієнічні умови та рівень годівлі для дослідних груп були однаковими.

Використовували наступні методи дослідження: загальноприйняті в зооветеринарії (жива вага, середньодобовий приріст, захворюваність, збереженість), гігієнічні (умови мікроклімату, санітарний режим), гематологічні (морфологічний склад крові), імунологічні (клітинні та гуморальні показники резистентності), біохімічні (білковий склад сироватки крові), етологічні та математичні. Вміст гемоглобіну визначали гемометром Салі, кількість еритроцитів і лейкоцитів — у камері Горяєва за А. А. Кудрявцевою та ін. У сироватці крові загальний білок визначали рефрактометром на приладі ІРФ — 22, загальний кальцій — комплекснометрично, неорганічний фосфор — колориметрично з реактивом 167 МВА. Гуморальні показники неспецифічної природної резистентності визначали: БАСК — нефелометрично за Смірноюю О. В. та ін., 1966;



ЛАСК — за В. Г. Дорофейчуком, 1968. Виділення Т-лімфоцитів методом Jondal M., 1972; вміст В-лімфоцитів — за Mendes N. G., 1973; імуноглобулінів класів IgA, IgM, IgG — за Manchini et. al., 1965, зоотехнічні показники визначали на основі контрольних зважувань та щоденних спостережень.

**Результати досліджень.** Негативні абіотичні фактори (переміщення, перегрупування, вакцинації) спричиняють зниження резистентності організму поросят. У протилежність цьому може бути зведення до мінімуму перегрупування, ветеринарних обробок, зменшення чисельності поголів'я в одному станку (до 10–12 поросят), а не застосування біологічно активних добавок, які викликають імунологічні та біохімічні зміни, але не вдосконалюють технологічні процеси. Серед показників, що характеризують імунний інтегральний статус тварин, є жива маса тіла (табл. 1).

**Таблиця 1 — Динаміка живої маси молодняка свиней**

Показник	Групи		
	Контроль	Дослідна-1	Дослідна-2
Жива маса поросяти при народженні, кг	1,32 ± 0,06	1,30 ± 0,04	1,33 ± 0,05
Жива маса поросяти в 21-добовому віці, кг	5,74 ± 0,18	5,27 ± 0,32	5,01 ± 0,20
Частка до контролю, %	100	91,81	87,28
Середньодобовий приріст за 20 діб, г	221,0 ± 6,5	198,0 ± 5,3	184,0 ± 9,1
Частка до контролю, %	100	89,59*	83,25
Жива маса поросяти в 60-добовому віці, кг	17,40 ± 0,32	15,20 ± 0,63	14,60 ± 0,31*
Частка до контролю, %	100,0	87,35	83,90
Середньодобовий приріст за 30 діб	388,6 ± 10,4	331,0 ± 7,8*	300,5 ± 8,6*
Частка до контролю, %	100,0	85,3	78,0
Збереженість, %	100,0	84,3	80,2
Хворих із симптомами діареї, гол.:			
на 3–4-ту доби	1 (5)**	2 (10)**	5 (15)**
на 6–9-ту доби	—	2 (10)**	4 (20)**
на 18–21-шу доби	—	1 (5)**	2 (10)**

Примітки: \* —  $p \leq 0,05$  до контролю; \*\* — кількість, у дужках — %.

Дані свідчать, що поросята з контролю у 21-добовому віці перевершували Д-1 за живою масою на 0,33 кг, Д-2 — на 0,73 кг, по середньодобовий приріст — на 10,05 % і на 16,75 % відповідно ( $p \leq 0,05$ ). У 2-місячному віці підсвинки з контролю мали високу енергію росту 353 г та перевищували приріст з дослідної-2 групи на 48 г.

У свиней з дослідних груп зареєстровано більше мінус-варіантів (з живою масою менше 4 кг у 30-добовому віці): у дослідній-1 — 9,8 %, дослідній-2 — 11,4 %, у контролі — індивідуумів з ознаками депресії росту не виявлено.

Критерієм ослаблення стійкості поросят до шлунково-кишкових захворювань і тяжкості їх перебігу об'єктивно характеризує коефіцієнт Меленберга (КМ):

$$КМ = \frac{\text{кількість перехворівших (гол)} \times \text{середня тривалість хвороби (діб)}}{\text{кількість досліджуваних тварин (гол)} \times \text{період спостереження (діб)}} \times 100$$

Встановлено, що в залежності від перегрупувань в дослідній-1 та дослідній-2 групах у поросят весняного опоросу зареєстровані діареї з тяжкою клінікою хвороби (КМ — 6,13–7,48), загибель відповідно 15,7–19,8 %, це більш порівняно з контрольною (при КМ — 0,34) та 100 % збереженості. Важливим показником фізіологічного стану досліджуваних свиней є їх поведінка (табл. 2).

Дані табл. 2 вказують на те, що поросята, які вирощувались без перегрупувань (контроль) ведуть себе активно, не проявляють сутічок, агресії при підходах до годівниць. Відпочинок лежачи складає 71,4 % добового часу, що відповідно на 15,2 та 18,6 % більше, ніж у тварин з дослідної-1 і дослідної-2 груп. Про стресовий стан тварин судили за вмістом еозинофілів у крові (табл. 3).



Таблиця 2 — Показники етології дослідних свиней, %

Показники	Групи		
	Контроль	Дослідна-1	Дослідна-2
Прийом корму та води	9,10	8,20	8,0 (6,94)
Відпочинок (лежачи)	71,40	56,30	52,80
Рух	18,18	26,60	29,20
Неспокій та агресія	1,02	6,50	7,76
Прояви канібалізму	0,30	2,40	3,30

Таблиця 3 — Вміст еозинофілів в 1 мм<sup>3</sup>/крові свиней залежно від терміну перегрупування

Групи	Перед об'єднанням		Після перегрупування у віці, діб							
			1–3		4–6		7–9		10–12	
	Кількість	%	Кількість	%	Кількість	%	Кількість	%	Кількість	%
Контроль	1060	100	909,1 ± 9,2	85,8*	924,3 ± 14,3	87,2	1011,2 ± 17	95,4	1036,6 ± 13,9	97,8
Дослідна-1	1050	100	842,4 ± 15,4	80,2*	959,7 ± 172*	91,4*	824,4 ± 14,4	97,1	1031,1 ± 14,8	98,2
Дослідна-2	1058	100	505,1 ± 13,8	69,1*	631,6 ± 104	59,7*	786,0 ± 10,8	74,3	1027 ± 7,6	97,1

Примітка: \* —  $p \leq 0,05$  по відношенню до контролю.

Кількість еозинофілів у свиней без перегрупування (контроль) знижувалася до 85,8 % лише у перші три доби після відлучення, при одноразовому перегрупуванні (Дослідна-1) — до 82,2 % упродовж 5 діб, дво- і трикратно (Дослідна-2) — до 69,1–78,3 %, а відновлення їх кількості до 97,1 % відбувалось на 10–12-ту доби. Прояв стресу характеризувався зниженням реакції на подразники довкілля, відмовою від кормів, прискоренням дихання та пульсу, скуйовдженням щетини. Рівень у крові (кортизол — тироксин) у свиней із групи Дослідна-1 у 10-добовому віці був більший — відповідно на 85,2 %, у Дослідна-2 — на 14,12 % порівняно з контролем. Рівень імунного статусу у дослідних тварин оцінювали за ЛАСК і БАСК, і за показниками клітинного захисту — за ФАН і ФІ. Їх значення у тварин з дослідних груп були нижче за БАСК у 7-добовому віці — на 2,7 %, 14-добовому — на 14,63 %, 20-добовому — на 25,15 %; ЛАСК — за вказані вікові періоди у свиней групи Дослідна-1 знизилась з  $21,72 \pm 0,43$  до  $14,62 \pm 0,70$  %, Дослідна-2 — з  $17,56 \pm 0,30$  до  $10,50 \pm 1,56$  %. У 60-добовому віці у тварин з контролю БАСК складала  $48,30 \pm 3,02$ – $50,24 \pm 1,95$  % і перевершувала таку із групи Дослідна-1 — на 14,2 %, із Дослідна-2 — на 24,5 %. У поросят перед об'єднанням встановлено підвищення імуноглобулінів усіх трьох класів (IgA, IgM, IgG), що ми розглядаємо як захисну реакцію на вказані переміщення.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** Свилярські підприємства є складною технологічно-біологічною системою, в якій головною ланкою є тварини. Недотримання мікроклімату, щільності розміщення, перегрупування, ветеринарно-зоотехнічні заходи ведуть до зміни гомеостатичної рівноваги в організмі, викликаючи в ньому стан — стрес, що проявляється втратою продуктивності, виникненням шлунково-кишкових розладів і респіраторних хвороб.

Дослідження показали, що перегрупування та переміщення поросят підсисного періоду викликають занепокоєння, зниження продуктивних якостей та прояви діареї. При одноразовому перегрупуванні в 10-добовому віці поросята відставали в рості на 14,7 %, дво- і триразовому — на 28,1 % у порівнянні з контрольною групою. Серед них реєструються хворі на діарею: у віці 3–4 діб — 15 %, у віці 18–21 доби — 10 %, що на 5–10 % більше, ніж у контролі.

Коефіцієнт Меленберга, що характеризує стійкість поросят до шлунково-кишкових захворювань, становить 6,13–7,48 (група Дослідна-2), а в контролі — 0,34, збереженість до відлучення не перевищує 80,2 %. За рівнем імунного статусу поросята з групи Дослідна-2 поступаються по БАСК — на 25,15 %, по ЛАСК — на 7,56 %, у них нижчі показники по імуноглобулінам класів IgA, IgM і IgG.

У подальшому планується проведення досліджень імунологічного статусу поросят при різному рівні контамінації повітря мікрофлорою.

## Список литературы

1. Чёрный Н. В., Донских О. Д., Герасименко А. Н., Козьменко В. В. Превентивные приёмы снижения стрессовых воздействий на организм свиней. *Современные тенденции и технологические инновации в свиноводстве : материалы XIX междунар. науч.-практ. конф. (Горки, 4–6 окт. 2012 г.)*. Горки : БГСХА, 2012. С. 365–369.
2. Чорний М. В., Хомутовська С. О. Резистентність і збереженість поросят, вирощених при груповому та індивідуальному утриманні підсисних свиноматок. *Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб.* 2013. Вип. 97. С. 489–491.
3. Головкин В. А., Чёрный Н. В., Хомутовская С. А. Влияние технолого-абиотических факторов на продуктивность и стресс-устойчивость свиней. *Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения : материалы XIII междунар. науч.-производ. конф. (Белгород, 19–22 мая 2009 г.)*. Белгород, 2009. С. 110.
4. Картавец Т. В., Воронов Д. В., Кошелюк Ю. Н., Сенько А. В. Показатели, используемые для оценки антиоксидантной системы крови свиней. *Современные технологии сельскохозяйственного производства : материалы X междунар. науч.-практ. конф.*. Гродно : ГГАУ, 2007. С. 221–222.
5. Комлацкий В. И. Этология свиней. Краснодар : КГАУ, 2002. 449 с.
6. Фёдоров Ю. Н. Иммунокоррекция: применение и механизм действия иммуномодулирующих препаратов. *Ветеринария*. 2005. № 2. С. 3–6.
7. Курчатова В. А. Предотвращение стрессовых воздействий на организм поросят при раннем отъёме. *Совершенствование технологий сельскохозяйственного производства*. Москва, 1975. С. 136–138.
8. Митрофанов О. О. Інтер'єрні і продуктивні показники молодняку свиней за впливу паратипових факторів : автореф. дис. ... канд. вет. наук. Харків, 2012. 22 с.
9. Плященко С. И., Сидоров В. Т. Стрессы у сельскохозяйственных животных. Москва : Агропромиздат, 1987. 95 с.
10. Шевцов Ф. Два фактора напряжённого иммунитета. *Животноводство России*. 2007. № 12. С. 39.
11. Трубников Д. В. Стрессовые реакции и адаптационные возможности свиней в условиях современных промышленных комплексов. *Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения её качества : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф.* Брянск : БСХА, 2010. С. 218–221.

## STRESS STATE AND IMMUNOLOGICAL STATUS OF YOUNG PIGS

Chorny M. V.

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

The paper presents the results of studies on the effect of regrouping of piglets at different ages on the resistance of their organisms, immunological status, productive qualities and safety of young pigs. The work was performed at "Stas" LLC on large white breed pigs and their crossbreeds. For the experiment, three groups of piglets were formed from suckling sows — analogues. In the experiment 60 animals from birth up to two months of age were used, 20 animals in each experimental group. The control group of piglets was raised from birth up to 60 days of age in nests, and then they were moved to the rearing workshop; Experimental-1 group was kept up to 10 days old in nests, and then a one-time rearrangement was performed according to live weight. Piglets from experimental group 2 were regrouped according to live weight at 5, 10, 15, 21, 30 days of age. To assess the natural resistance of piglets due to the above groups, hematological, biochemical (total protein, protein fractions) methods, immunological (immunoglobulins of classes IgA, IgM, IgG), and natural resistance (bactericidal activity of blood serum) were used, serum lysozyme activity (LASK), phagocytic neutrophil activity (FAN), phagocytic index (FI), ethological, zootechnical, mathematical. To assess the natural resistance of piglets the following research methods were used: generally accepted zoo veterinary methods (live weight, morbidity, safety), hygienic (microclimate conditions, sanitary regime), hematological (morphological blood composition), biochemical (total protein, protein fractions), immunological (immunoglobulins of classes IgA, IgM, IgG), natural resistance (bactericidal activity of blood serum), ethological and mathematical methods. Results of work. It was found that when growing piglets, nesting, without moving, caused their growth and development without any noticeable physiological disturbances, both from the blood and ethology. In animals (Experimental-1 groups) which underwent a single regrouping in a 10-day reward, their lag in live weight by 12.65% was recorded, compared with the control, with two and three-time movement (Experimental-2) — by 16.10%. Their SSPs were 28% less and 14.7% lower than in the control piglets. Patients with symptoms of diarrhea were identified in the control: in 3–4 daily reimbursement — 1%, in Experimental-1 — 5%, Experimental-2 — 10–15%. The resistance of young animals to gastrointestinal diseases according to the Melenberg coefficient in the Experimental-2 group was 6.13–7.48, in control group it was 0.34, and the safety did not exceed 80.2%. According to the level of immune status, animals from Experimental-2 group were inferior: by BASK — by 25.15% (28 days of age), by LASK — by 7.56%, by FAN — by 10.7% compared with peers from Experimental-1 groups. By the number of eosinophils (Experimental-2 group), characterizing the stress state of piglets, their decrease was observed within 10–12 days, not more than 5 days — in animals from Experimental-1 group and up to 3 days — from control

**Keywords:** piglets, live weight, rearrangement, stress, immune status, diarrhea, safety

## 7. ПАРАЗИТОЛОГІЯ

УДК 619:616.993.192.1:615.283.921.036.8:636.22/.28.082.35

DOI 10.36016/VM-2019-105-20

### ВПЛИВ ДЕЗІНФЕКТАНТУ «БРОВАДЕЗ-ПЛЮС» У РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЯХ НА ООЦИСТИ ЕЙМЕРІЙ ТЕЛЯТ

**Богач М. В., Скальчук В. В.**

Одеська дослідна станція Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Одеса, Україна, e-mail: [bogach\\_nv@ukr.net](mailto:bogach_nv@ukr.net)

**Кущак І. А.**

Одеський державний аграрний університет, Одеса, Україна

*Досліджено дію дезінфікуючого препарату «Бровадез-плюс» на ооцисти еймерій телят. У результаті експериментальних досліджень встановлено, що згубний вплив на ооцисти прямо пропорційно залежить від терміну їх контакту та концентрації робочого розчину досліджуваного препарату. Високий дезінвазійний вплив дезінфектанту «Бровадез-плюс» на ооцисти еймерій телят встановлено при застосуванні 3 і 3,5 % концентрації за експозиції 5 та 8 годин. Спорогонія не проходила у  $96,8 \pm 2,1$  % та  $99,1 \pm 2,4$  % ооцист еймерій*

**Ключові слова:** телята, еймеріоз, ооцисти, «Бровадез-плюс»

Серед причин, що стримують розвиток молодняка великої рогатої худоби та новонароджених телят, є інвазійні хвороби, зокрема, кишкові протозоози. Серед них важливе місце посідає еймеріоз. Збудники хвороби поширюються не лише через хворих тварин, але й тривалий час зберігаються в зовнішньому середовищі [1].

Ооцисти еймерій на екзогенних стадіях розвитку в довкіллі, на відміну від збудників інфекційних хвороб, більш стійкі до впливу факторів зовнішнього середовища [2, 3].

Здійснення ефективної дезінвазії наштотується на чимало проблем: чітко не визначені строки дезінвазії за різних гельмінтозів тварин, збудники інвазійних хвороб швидко набувають резистентності до дії хімічних засобів, чимало з яких є агресивними речовинами в екологічному відношенні [4, 5].

Дуже малий спектр дезінфектантів знищує ооцисти еймерій, і більшість з них є агресивні та руйнують залізо, дерево, гуму [6].

На сьогоднішній день науковці вивчають та порівнюють дезінвазійні властивості та ефективність засобів дезінфекції на ооцисти різних видів еймерій, які можна було б запропонувати для проведення дезінвазії у тваринництві [7].

Встановлено, що дезінфектант «Бровадез-20» має виражені дезінвазійні властивості щодо ооцист еймерій курей і перепілок в 1,5 і 2 % концентрації за умови експозиції 24 години [8]. 2 %-ва концентрація розчину «Бровадез-20», «Бровадез-плюс» та «Бі-дез» має виражені еймеріостатичні властивості за змішаного еймеріозу кролів [6, 9].

**Мета роботи:** визначити вплив різних концентрацій розчину дезінфектанту «Бровадез-плюс» на процес спорудження змішаної культури ооцист еймерій телят.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведені в лабораторії епізоотології, паразитології, моніторингу хвороб тварин та провайдингу Одеської дослідної станції ННЦ «ІЕКВМ». Проби матеріалу були відібрані від спонтанно інвазованих телят 35-ти добового віку в ДП ДГ ЕБ «Дачна» Біляївського району Одеської області.

Культивування ооцист еймерій проводили за Т. В. Арнастаускене (1985) з використанням термостату (за температури 26 °С). Для запобігання розвитку мікроорганізмів та плісняви перед культивуванням досліджуваний матеріал обробляли 2,5 %-м розчином двохромового калію за А. І. Ятусевичем (2004). Процес спорудження контролювали під мікроскопом (ок. 10 × об. 20).

Видову належність окремих видів еймерій ідентифікували за визначниками Є. М. Хейсіна (1967) і М. В. Крилова (1996). Змішану культуру ооцист становили: *Eimeria zuernii* (Zurn F. A., 1878), *E. bovis* (Zublin F., 1908; Fiebiger, 1912), *E. ellipsoidalis* (Becker E. R. і Frye W. W., 1929).

Дезінвазійну активність препарату «Бровадез-плюс» визначали в концентраціях 1,5; 2; 3 та 3,5 % за експозиції 3, 5 і 8 годин шляхом зрошення ними ооцист. Робочі розчини відповідних концентрацій готували згідно з рекомендаціями виробника та розливали у пробірки, попередньо пронумеровані. У кожен з пробірок вносили водну суспензію неспоруваних ооцист, до якої додавали препарат у відповідній концентрації. У контролі була пробірка з суспензією ооцист, які не оброблялись розчином «Бровадез-плюс». Після витримки протягом визначеного терміну ооцисти відмивали у дистильованій воді та розміщали у чашки Петрі та в термостат за температури 26 °С, щоденно контролюючи в них рівень вологості.

Перед постановкою проб на споруляцію підраховували по 100 ооцист у кожній пробі. Дезінвазійну дію препарату вивчали на 3-тю, 5-ту і 8-му доби після обробки.

До досліду та впродовж культивування стан ооцист оцінювали за морфологічними ознаками (форма, розмір, колір, локалізація зародкового шару, наявність полярної гранули та мікропіле), проглядаючи нативні препарати під малим (ок. 10 × об. 8) та великим (ок. 10 × об. 20) збільшеннями мікроскопу.

**Результати досліджень.** За результатами досліджень встановлено, що в досліді *in vitro* при застосуванні дезінфектанту «Бровадез-плюс» на ооцисти еймерій телят виявлено високі дезінвазійні властивості препарату (табл.).

**Таблиця —** Вплив різних концентрацій розчину дезінфектанту «Бровадез-плюс» на процес споруляції змішаної культури ооцист еймерій телят ( $M \pm m$ )

Кількість ооцист	Термін обробки, год	Концентрація препарату, %				Контроль
		1,5	2	3	3,5	
Споруляція проходила із затримкою, %	3	28,9 ± 0,2	22,2 ± 1,6	22,6 ± 0,9	9,8 ± 0,2	4,0 ± 0,1
	5	31,9 ± 0,8	6,4 ± 1,2	2,2 ± 1,1	0,2 ± 0,2	5,2 ± 0,5
	8	31,3 ± 0,2	8,1 ± 0,9	1,3 ± 0,5	–	3,9 ± 0,1
Ооцисти закінчили споруляцію, %	3	36,5 ± 1,1	31,7 ± 1,2	2,7 ± 0,9	1,9 ± 0,2	84,9 ± 0,7
	5	32,2 ± 0,1	26,6 ± 1,4	–	–	80,1 ± 0,9
	8	24,6 ± 0,3	19,2 ± 0,9	–	–	79,5 ± 1,0
Спорогонія не проходила, %	3	22,2 ± 1,6	29,9 ± 1,4	57,8 ± 0,6	78,5 ± 1,1	2,9 ± 0,6
	5	26,4 ± 0,1	51,1 ± 0,5	96,6 ± 1,2	96,8 ± 2,1	3,1 ± 0,1
	8	32,5 ± 1,6	64,4 ± 2,2	98,2 ± 0,8	99,1 ± 2,4	2,7 ± 0,2
Ооцисти з атиповою будовою, %	3	12,4 ± 0,6	16,2 ± 0,4	16,9 ± 1,0	11,7 ± 1,9	8,2 ± 0,1
	5	9,5 ± 0,2	15,9 ± 0,1	1,2 ± 0,7	3,0 ± 0,6	11,6 ± 0,2
	8	11,6 ± 0,1	8,3 ± 0,5	0,5 ± 0,1	0,9 ± 0,2	13,9 ± 0,2

Препарат «Бровадез-плюс» у 2 %-й концентрації за експозиції 3 години виявив еймеріостатичну дію на рівні 29,9 ± 1,4 %. За експозиції 5 годин спорогонія не проходила в 51,1 ± 0,5 % ооцист, а за експозиції 8 годин — 64,4 ± 2,2 % ооцист еймерій телят. Ця концентрація дезінфектанту не вплинула на процес споруляції ооцист, які за 3-годинної експозиції завершили споруляцію 31,7 ± 1,2 %, за експозиції 5 годин — 26,6 ± 1,4 %, за експозиції 8 годин — 19,2 ± 0,9 %.

При застосуванні 3 %-ї концентрації розчину «Бровадез-плюс» за експозиції 3 години процес спорогонії не проходив у 57,8 ± 0,6 % ооцист еймерій, 2,7 ± 0,9 % ооцист закінчили споруляцію і в 19,6 ± 0,9 % споруляція проходила із затримкою.

Найкращі результати отримано за застосування 3 %-го розчину за експозиції 5 та 8 годин. Процес спорогонії не проходив у 96,6 ± 1,2 % та 98,2 ± 0,8 % ооцист еймерій телят. Така концентрація препарату не призвела до закінчення споруляції ооцист і лише у 2,2 ± 0,1 % ооцист за 5-годинної експозиції та у 1,3 ± 0,5 % ооцист за 8-годинної експозиції споруляція проходила із затримкою.

При застосуванні дезінфектанту «Бровадез-плюс» у концентрації 3,5 % за експозиції 3 години спорогонія не проходила у 78,5 ± 1,1 % ооцист еймерій, а вже за експозиції 5 годин — у 96,8 ± 2,1 % ооцист, тоді як за експозиції 8 годин — у 99,1 ± 2,4 % ооцист еймерій.

Таким чином, експериментальними дослідженнями встановлено, що препарат «Бровадез-плюс» за використання його у 3 та 3,5 % концентраціях має високий рівень дезінвазійних властивостей щодо ооцист еймерій телят.

**Висновки.** 1. У результаті експериментальних досліджень встановлено, що згубний вплив на ооцисти прямо пропорційно залежить від терміну їх контакту та концентрації робочого розчину досліджуваного препарату.

2. Високий дезінвазійний вплив дезінфектанту «Бровадез-плюс» на ооцисти еймерій телят встановлено при застосуванні у концентрації 3 і 3,5 % за експозиції 5 та 8 годин —  $96,8 \pm 2,1$  % та  $99,1 \pm 2,4$  % ооцист еймерій.

**Перспективи подальших досліджень.** Пошук комплексних дезінфікуючих засобів за критеріями широкого спектру антимікробної та протиеймерійної дії, відсутності токсичних властивостей, безпечності для персоналу, тварин та зовнішнього середовища.

### Список літератури

1. Слободян Р. О. Еймеріоз телят (поширення, діагностика та лікування) : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.11 / Р. О. Слободян ; [НУБіП України]. — Київ, 2016. — 25 с.
2. Мандигра М. С. Дезінфекція довкілля / М. С. Мандигра, А. В. Лисиця, Г. П. Воловик, Ю. М. Мандигра, О. П. Бойко // Вет. біотехнологія : бюл. — Київ, 2018. — Вип. 32, ч. 2. — С. 355–364.
3. Клименко О. С. Порівняння терапевтичної ефективності та дезінвазійної активності препаратів за гельмінтозів свиней у виробничих умовах приватних господарств Полтавської області / О. С. Клименко, С. М. Михайлютенко, О. В. Кручененко, А. І. Литвиненко // Вісн. Сум. нац. аграр. ун-ту. — Суми, 2018. — Вип. 1(42). — С. 116–120.
4. Волошина Н. О. Ветеринарний санітарно-паразитологічний моніторинг території тваринницьких господарств / Н. О. Волошина // Зб. наук. праць Луган. нац. аграр. ун-ту. Сер. : Вет. науки. — 2007. — № 7(101). — С. 87–90.
5. Коцюмбас І. Я. Щодо розробки та вдосконалення ефективності нових дезінфекційних засобів серії «Кристал» / І. Я. Коцюмбас, О. І. Сергієнко, Л. М. Ковальчик [та ін.] // Вет. медицина України. — 2007. — № 2. — С. 44.
6. Шкромада О. І. Дезінвазійна дія препаратів Бі-дез та Бровітакоксид на ооцисти еймерій кролів / О. І. Шкромада, Ю. А. Дудченко // Вісн. Сум. нац. аграр. ун-ту. — Суми, 2018. — Вип. 1(42). — С. 112–116.
7. Корчан Л. М. Дезінвазійна ефективність препарату «Дезсан» щодо ооцист еймерій кіз / Л. М. Корчан, М. І. Корчан // Вісн. Сум. нац. аграр. ун-ту. — Суми, 2018. — Вип. 1(42). — С. 141–144.
8. Кушнірова Г. А. Еймеріоз домашніх птахів (поширення, патогенез та заходи боротьби) : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.11 / Г. А. Кушнірова ; [ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького]. — Львів, 2017. — 21 с.
9. Передера О. О. Дезінвазійна дія Бровадезу-плюс на ооцисти еймерій кролів / О. О. Передера // Наук. вісн. Львів. нац. ун-ту вет. медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. — 2008. — Т. 10, № 2(37), ч. 2. — С. 207–212.

### INFLUENCE OF “BROVADEZ-PLUS” DISINFECTANT IN DIFFERENT CONCENTRATIONS ON *EIMERIA* OOCYSTS IN CALVES

**Bogach N. V., Skalchuk V. V.**

*Odesa Experimental Station of the National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Odesa, Ukraine*

**Kushak I. A.**

*Odesa State Agrarian University, Odesa, Ukraine*

*The purpose of work was to determine the effect of different concentrations of “Brovadez-plus” disinfectant solution on the sporulation process of mixed culture of eimerias oocysts of calves. Disinvasive activity of the drug “Brovadez-plus” was determined at concentrations of 1.5, 2, 3 and 3.5% for exposures of 3, 5 and 8 hours by irrigation of oocysts. The drug “Brovadez-plus” at 2% concentration for 3 hours exposure showed an eimeriostatic effect at the level of  $29.9 \pm 1.4$ %. At 5 hours exposure, sporogonia did not undergo  $51.1 \pm 0.5$ % oocysts, and at 8 hours exposure  $64.4 \pm 2.2$ % eimerias oocysts of calves. When using 3% concentration of “Brovadez-plus” solution for 3 hours, sporulation process did not take place in  $57.8 \pm 0.6$ % eimerias oocysts,  $2.7 \pm 0.9$ % oocysts completed sporulation and  $19.6 \pm 0.9$  % — the sporulation was delayed. The best results were obtained with the use of a 3% solution at an exposure of 5 and 8 hours. The sporogony process did not occur in  $96.6 \pm 1.2$ % and  $98.2 \pm 0.8$ % of oocysts of eimerias. When using “Brovadez-plus” disinfectant at a concentration of 3.5% at exposure for 3 hours sporogonia did not pass in  $78.5 \pm 1.1$ % of eimerias oocysts, at exposure for 5 hours in  $96.8 \pm 2.1$ % of eimerias oocysts at exposure 8 hours in  $99.1 \pm 2.4$ % of eimerias oocysts of calves. Thus, experimental studies have shown that the drug “Brovadez-plus”, when used in 3% and 3.5% concentrations, has a high level of disinvasive properties relative to eimerias oocysts of calves. Experimental studies have established that the detrimental effect on eimerias oocysts is directly proportional to the duration of their contact and the concentration of the working solution of the studied drug. When using 3% and 3.5% concentrations of “Brovades-plus” disinfectant at an exposure of 5 and 8 hours in  $99.1 \pm 2.4$ % of eimerias oocysts of calves, the process of sporogony did not occur*

**Keywords:** calves, eimeriosis, oocysts, “Brovadez-plus”

**ЗАСТОСУВАННЯ ІНСЕКТИЦИДІВ У ПРОМИСЛОВОМУ ТВАРИННИЦТВІ**

**Палій А. П., Машкей А. М., Сумакова Н. В., Гонтарь В. В.**  
Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної  
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [paliy.dok@gmail.com](mailto:paliy.dok@gmail.com)

**Палій А. П.**

Харківський національний технічний університет сільського  
господарства ім. Петра Василенка, Харків, Україна

У даній статті наведено інформацію стосовно інсектицидних і репелентних засобів, що застосовуються для боротьби зі шкідливими двокрилими комахами в умовах тваринницьких підприємств. Визначено, що важливе науково-практичне значення має розробка сучасних методів боротьби зі збудниками ентормозів сільськогосподарських тварин на основі суворої регламентації лікувально-профілактичних засобів

**Ключові слова:** комахи, інсектицид, репелент, діюча речовина, синтетичні піретроїди, сільськогосподарські тварини

Ентормози сільськогосподарських тварин мають значне поширення на території України і завдають тваринництву значних економічних збитків. Встановлено, що у хворих тварин знижується молочна, м'ясна та вовнова продуктивність, племінні якості, народжується ослаблений молодняк, який легко піддається різним захворюванням заразної та не заразної етіології. Так, при помірному нападі гедзів корови знижують удій на 10–15 % і швидко худнуть [1].

Мошки завдають шкоди тваринам не тільки своїми укусами, як тим, що настирливо набиваються в ніс, очі, вуха. Їх масовий напад на тварин іноді призводить до загибелі останніх від задущення. Крім того, вони є механічними переносниками збудників інфекційних хвороб (туляремія, сибірка, бруцельоз, анаплазмоз та ін.) та біологічними господарями збудників інвазійних хвороб (бабезіоз великої рогатої худоби і собак, піроплазмоз коней, онхоцеркоз і сетаріоз великої рогатої худоби і коней, дирофіляріоз собак і людини та ін.) [2].

У тваринницьких агробіоценозах України зустрічається 22 види мух із сімейства *Muscidae*, а зоофільні мухи, пов'язані з великою рогатою худобою, представлені 10 видами [3].

Токсична дія слини є одним з аспектів шкідливого впливу кровосисних двокрилих комах на організм людини і тварин. При високій чисельності нападників кровососів інтоксикація може мати серйозне значення і виявлятися як зовнішніми ознаками у вигляді запальних процесів в шкірі, так і зміною фізіологічних показників, таких як температура тіла і формула крові [4].

Вивчення широти займаного паразитами ареалу та необхідність розробки ефективних заходів боротьби з ними є найважливішими проблемами сучасного тваринництва [5, 6]. Необхідність збереження поголів'я тварин від падежу та забою постійно залишаються в полі зору науки і практики.

Серед усіх сучасних методів і засобів штучного зниження чисельності комах найбільш ефективним є хімічний метод. Для захисту тварин від гнусу найбільш рентабельним вважається обприскування тварин інсектицидами і репелентами [7].

В якості ефективних інсектицидів проти гнусу широко використовують синтетичні піретроїди [8, 9]. Ці препарати характеризуються тривалим залишковим інсектицидним ефектом на волосяному покриві тварин, при застосуванні в невеликих кількостях вони не накопичуються в органах й тканинах і не виводяться з молоком оброблюваних тварин [10, 11, 12]. Широкого впровадження у виробництво набув дельтаметрин [13].

Використання інсектицидів і репелентів міцно ввійшло в комплекс профілактичних заходів щодо боротьби з гнусом, спрямованих на підвищення рентабельності галузі тваринництва. Однак, раніше запропоновані для захисту тварин від гнусу репеленти («бензімін», «ОКСАМАТ», «ТСН», «репелент терпеноїдний» і деякі інші) на сьогодні є не досить ефективними [10].

Застосування у тваринництві інсектицидів вимагає щоденних обробок волосяного покриву тварин у відносно високих дозах, що веде до значних матеріальних витрат, що пов'язані з високою

вартістю цих препаратів. Незважаючи на це, задовільного цілодобового захисту тварин від нападу кровососів при їх застосуванні не досягається.

Також слід зазначити, що репелентні засоби для захисту тварин від гнусу на сьогодні майже не розробляють, а наявний їх асортимент не задовольняє потреби ветеринарної практики. Аналіз стану даної проблеми за останні роки свідчить про досить значне погіршення стану справ з проведення захисних обробок тварин проти гнусу. Основними факторами при цьому є недостатнє фінансування, невеликий асортимент репелентів і інсектицидів, а також механізмів для обприскування при проведенні масових систематичних обробок тварин [14].

Тому, беззаперечно, зростає значення досліджень, спрямованих на розробку препаративних форм репелентів та інсектицидів, які, поряд з високою ефективністю, були б економічно вигідними і простими в застосуванні, малотоксичними для тварин, і не забруднювали б навколишнє середовище.

Для захисту великої рогатої худоби породи лімузин від гнусу високоефективні обробки тварин 0,001 % (за ДР) водною емульсією дельцида і 0,0125 % (за ДР), водною емульсією ветерина методом середньо-об'ємного обприскування за допомогою штанг горизонтальних розпилювальних універсальних (ШГРУ) з розрахунку 250 мл на молодняк і 500 мл на дорослу тварину. Задовільний захист (коефіцієнт захисної дії — 75 %) при використанні препаратів у цих режимах триває  $9,0 \pm 1,2$  годин і  $8,0 \pm 1,1$  годин відповідно [15, 16].

У попередньому досліді встановлено, що інсектицидна та репелентна дії препарату дельцид проти двокрилих комах складають орієнтовно 19 діб [17].

При цьому обприскування корів водною емульсією дельцида з метою захисту від мошок дозволило отримати додатково від кожної корови по 0,231 л молока в день, або 1,45 %, що більш ніж на половину забезпечує скорочення втрат від нападу комах [18].

Для захисту великої рогатої худоби від гнусу рекомендовано застосовувати «репелент ветеринарний» у вигляді 5,0 % водної емульсії з розрахунку 500 мл на дорослу тварину і 250 мл на теля, та репелент «УМОреп» — із розрахунку 100 і 50 мл на тварину відповідно. Задовільний захист при використанні препаратів у цих режимах триває  $5,5 \pm 0,5$  годин і  $5,2 \pm 1,5$  годин відповідно. Встановлено, що застосування інсектицидної термо-возгоночної суміші «Бізон» (ДР — циперметрин) в безвітряну погоду забезпечує захист тварин від гнусу протягом  $4,3 \pm 0,5$  годин. Поряд з цим, застосування юловидних пасток дозволяє значно (на 64,3 %) знизити кількість гедзів, і вони можуть бути використані як альтернативний спосіб боротьби з гнусом [19].

Використання 0,01 % емульсії циперила методом обприскування великої рогатої худоби і овець забезпечує 100 % ефективність при гіподерматозі, естрозі і вольфартиозі [20, 21].

Дракер 10.2 складається з пиретроїдів циперметрину, тетраметрину і синергисту піперонілбутоксиду. Після застосування препарату у вигляді спрею ефективність склала 94,28–95,35 %. При використанні препарату у вигляді гарячого туману ефективність через три тижні складає 58,46 %, а через п'ять тижнів — 47,79 %.

Москіна — високоефективний інсектицид (ацетаміпрід). Завдяки стабільності діючої речовини засіб характеризується вираженою пролонгованою дією (4–6 тижнів у залежності від умов зовнішнього середовища). Статевий феромон, який використовується як аттрактант, підвищує ефективність препарату. Для безпеки тварин і людей до складу Москіна включена гірка добавка, яка практично неїстівна для теплокровних.

Дюрасід ІС — інсектоакарицид широкого спектру дії; ефективний проти всіх видів літаючих членистоногих; застосовують поза та всередині приміщень. Завдяки поєднанню тетраметрину та перметрину, і синергиста піперонілбутоксиду, що підсилює активність пиретроїдів, препарат має виражений «нокдаун-ефект» і пролонговану інсектицидну дію. Комахи гинуть протягом 2–4 тижнів, запобігається їх подальший розвиток.

Ларва клін — інгібітор росту личинок мух та інших комах. Діючою речовиною є ціромазін. Потрапляючи в організм личинки разом з кормом, він гальмує розвиток кутикули, внаслідок чого у вологому середовищі (у посліді та ін.) зростання личинок припиняється, і вони гинуть [22, 23].

Бриз-проф являє собою розчин діетілтолуаміду (400 г/л) в органічних розчинниках. Репелентна ефективність препарату протягом перших 30 хвилин після обробки складає 76–89 %, потім коефіцієнт відлякуючої дії (КВД) препарату на гедзів починає знижуватися і через 4 години після обробки складає 55 %.



Тобол — репелент на основі сульфонованих сесквітерпенів (800 г/л). Відразу ж після обробки засобом нападу гедзів на тварин зареєстровано не було, при цьому контрольна тварина в цей же час була піддана активному нападу гедзів. Через 30 хвилин репелентна ефективність знизилась до 62,5 %.

Фітоліт — є репелентною композицією, що містить в якості діючої речовини (150 г/л) суміш ефірних олій і вуглекислотних екстрактів рослин. Відлякуюча дія препарату виявляється тільки через 15 хвилин після обробки тварини, а в перші хвилини комахи в рівній мірі нападали на контрольних і дослідних тварин.

Полевик — в якості основної діючої речовини містить діетілтолуамід (400 г/л), в якості синергистів і пролонгаторів — ефірні олії хвойних рослин. Коефіцієнт відлякуючої дії препарату протягом перших 30 хвилин після обробки складає 67–90 %.

Алезан спрей містить репелент, натуральні екстракти лопуха, череди, подорожника, ефірну олію лаванди і воду з іонами срібла, а також допоміжні речовини. Сталий репелентний ефект препарату отримано при дозах 200 і 250 мл на тварину з коефіцієнтом відлякуючої дії 100 % протягом 1 години і 84 % — протягом наступних 4 годин [24].

Репелентну дію протягом 7 діб мають препарати «РольфКлуб 3 D краплі для собак» і «РольфКлуб 3 D краплі для кішок» (етофенпрокс — піретроїд останнього покоління) [25].

Встановлено, що препарат на основі цифлутрину має високу ефективність проти зоофільних мух на пасовищах великої рогатої худоби. Висока ефективність препарату зумовлена інсектицидною та репелентною діями цифлутрину. При застосуванні препарату на основі цифлутрину на великій рогатій худобі не спостерігалось токсичної дії [26].

Визначено, що дезінфікуючий засіб «Геоцид» має ефективну інсектицидну дію відносно комах та ектопаразитів у концентрації 0,5 % і може бути використаний в комплексі ветеринарно-санітарних заходів [27].

На ринку України широко представлені репелентні засоби: Санофлай, Оксареп, Флайблок, Байофлай Пур-он (Bayofly Pour-on), Ціфлон, Мухоцид, Діазінон-рус, Ектометрин, Ектосан пудра [28].

При випробуванні інсектицидів було встановлено, що синтетичні піретроїди (неостомозан, блотік, флайблок, оксареп, санофлай) забезпечують захист великої рогатої худоби на пасовищах до 4–8 діб. Для повного захисту худоби протягом сезону в умовах Алтайського краю досить 5–6 систематичних обробок. Необхідно їх проводити через 3–7 діб у залежності від погоди після вигону худоби на пасовище. Перші три обробки роблять з інтервалами в 5–7 діб, наступні — рідше, у міру збільшення чисельності мух [29].

Співробітниками ННЦ «ІЕКВМ» розроблено та запропоновано практичній ветеринарній медицині вітчизняний імпортозаміщуючий засіб «Діптоцид» для боротьби з мухами та засіб «Ектоцид-плюс» для боротьби з гнусом (гедзі, осіння жалиця, мошки, комарі, мокреці) на пасовищах [30]. Розроблена принада «Мускоцид» для боротьби із зоофільними двокрилими, яка містить три діючі речовини (циперметрин, хлорпіріфос, лямбда-цигалотрин). Ефективність обробки принадою тваринницьких приміщень складає від 67 % до 70 % впродовж 18 діб [31].

Розроблено препарат «Акарібіл» (0,1 % івермектину, оксидат торфу, фармайод), який має високу інсектоакарицидну активність. Він ефективний при псороптозі великої рогатої худоби і кроликів, отодектозі кішок, саркоптозі та гематопінозі свиней, гіподерматозі великої рогатої худоби [32].

Існує інформація, що у стратегії контролю чисельності паразитичних двокрилих має місце застосування цілого ряду фруктів і квітів, як джерел цукру для комах [33].

Встановлено, що захищаючи коней від нападу імаго шкідливих комах шляхом обприскування тварин флуатріном і міцним відваром ліщини та проводячи ранню хіміотерапію проти личинок шлунково-кишкових і носоглоткових гедзів з використанням високоефективних препаратів авермектинового комплексу, практично можна оздоровити конепоголів'я від гастерофільозу та рінестрозу [34].

Повідомляється, що репеленти до складу яких входять запахи живителів, не властивих для даного виду комах, є ефективними та затребуваними ветеринарною практикою. Це є новою парадигмою для боротьби з двокрилими шкідниками [35].

Отримані дані з лабораторного розведення мухи *Hydrotea aenescens* засвідчують про можливість її використання, як біологічного агента, який обмежує шкідливу діяльність кімнатної



мухи на тваринницьких фермах і комплексах. Споживання личинок кімнатної мухи личинками хижака росте зі збільшенням щільності жертви, за одну добу личинка може знищити 11 личинок кімнатної мухи [36].

У сучасній літературі детально описані нові методи визначення ефективності інсектицидів, акариноцидів, регуляторів розвитку комах і репелентів при ектопаразитозах м'ясоїдних тварин, а також в умовах *in vitro*. Також представлені методи визначення інсектицидних властивостей діючих речовин (субстанцій) шляхом примусового контакту комах з обробленими поверхнями, топікального нанесення тощо [37].

Також слід відзначити, що все більш актуальним завданням сучасної ветеринарної санітарії є боротьба з червоним курячим кліщем в умовах птахогосподарств України [38]. Допоміжними у боротьбі зі шкідливими комахами є фізичні та біологічні методи.

Комплекс інсектицидних заходів типового скотарського підприємства повинен містити у собі наступні етапи: обробку поголів'я худоби при вигоні тварин на пасовища інсектицидними засобами у формі розчинів та аерозолів впродовж всього пасовищного періоду, згідно ентомологічних показів та при врахуванні настанов до засобів, що використовуються; застосування у молочних блоках різноманітних липких стрічок, принад, спецприладів тощо; застосування безпосередньо у тваринницьких приміщеннях атрактантів та обробка обладнання розчинами інсектицидів; дезінвазію місць виплоду зоофільних мух та недопущення зберігання поблизу тваринницьких приміщень органічних субстратів; систематичну ротацію інсектицидних засобів та методів [39].

Не дивлячись на те, що на сьогодні запропонована достатньо велика кількість інсектицидних засобів, повідомляється, що до більшості з них у комах сформувалась резистентність, деякі засоби є високотоксичними для теплокровних тварин, а також достатньо коштовними та економічно невиправданими.

Важливе науково-практичне значення має розробка сучасних методів боротьби зі збудниками ентомозів сільськогосподарських тварин на основі суворої регламентації лікувально-профілактичних засобів, що забезпечують можливість зниження чисельності паразитів до невідчутного господарського рівня, запобігання забруднення навколишнього середовища пестицидами і отримання безпечної тваринницької продукції високої санітарної якості.

**Висновок.** На ринку інсектицидів представлено досить великий асортимент ефективних засобів як вітчизняного, так і закордонного виробництва, проте більшість з них не відповідає сучасним викликам і прогресивним технологіям ведення тваринництва.

На сучасному етапі розвитку дезінфектології перспективним є пошук нових композицій хімічних сполук для застосування під час проведення дезінсекції у тваринництві для боротьби зі шкідливими комахами.

### Список літератури

1. Енгашев С. В. Даугалиева Э. Х. [и др.]. Эффективность флайблока против кровососущих насекомых и клещей у крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2012. № 6. С. 35–36.
2. Павлов С. Д. Экономический эффект защиты животных от гнуса. *Пробл. вет. санитарии : тр. ВНИИВС*. 1962. Т. 20. С. 172–178.
3. Машкей А. М., Палій А. П., Сумакова Н. В. Різноманіття зоофільних мух на пасовищах та тваринницьких приміщеннях, їх медико-ветеринарне значення. *Вет. медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2018. Вип. 104. С. 421–424.
4. Хлызова Т. А., Фёдорова О. А., Сивкова Е. И. Патологическое воздействие слюны кровососущих двукрылых насекомых на организм человека и животных. *Вест. Оренбург. гос. ун-та*. 2017. № 7 (207). С. 90–96.
5. Paliy A. P., Mashkey A. M., Sumakova N. V., Paliy A. P. Distribution of poultry ectoparasites in industrial farms, farms, and private plots with different rearing technologies. *Biosystems Diversity*. 2018. Vol. 26, No. 2. P. 153–159.
6. Stewart P., Fears T., Nicholson H. F., Kross B. C., Ogilvie L. K., Zahm S. H., Ward M. H., Blair A. Exposure received from application of animal insecticides. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 1999. Vol. 60, No. 2. P. 208–212.
7. Палій А. П., Палій А. П., Науменко О. А. Інноваційні технології та технічні системи у молочному скотарстві. Харків : Миськдрук, 2015. 324 с.
8. Swiger S. L., Payne R. D. Selected insecticide delivery devices for management of horn flies (*Haematobia irritans*) (Diptera: Muscidae) on beef cattle. *J. Med. Entomol.* 2017. Vol. 54, No. 1. P. 173–177.
9. Hargrove J. W., Omolo S., Msalilwa J. S. I., Fox B. Insecticide-treated cattle for tsetse control: the power and the problems. *Med. Vet. Entomol.* 2000. Vol. 14, No. 2. P. 123–130.
10. Павлов С. Д., Павлова Р. П. Препараты для защиты крупного рогатого скота от гнуса и зоофильных мух. *Ветеринария*. 1999. № 3. С. 30–33.

11. Долгушин С. Н. Эффективность репеллентов при защите крупного рогатого скота от кровососущих двукрылых насекомых : дис. ... канд. вет. наук. Тюмень, 2003. 136 с.
12. Колесников В. И., Кошкина Н. А., Васильченко М. Н. [и др.]. Производственные испытания репеллента Спотон «Ц» против кровососущих насекомых и иксодовых клещей на крупном рогатом скоте. *Животноводство и кормопроизводство : сб. науч. тр.* 2012. Вып. 5. С. 73–74.
13. Maia M., Clausen P. H., Mehrlitz D., Garms R., Bauer B. Protection of confined cattle against biting and nuisance flies (Muscidae: Diptera) with insecticide-treated nets in the Ghanaian forest zone at Kumasi. *Parasitol. Res.* 2010. Vol. 106, No. 6. P. 1307–1313.
14. Чайка В. И. Эффективность инсектицидов против гнуса при применении методом ультрамалообъемных опрыскиваний крупного рогатого скота : автореф. дис. ... канд. вет. наук. Тюмень, 1993. 17 с.
15. Деркач С. В., Сивков Г. С., Долгушин С. Н., Гулятьев Ю. В. Экономическая эффективность применения препарата ветерин при защите крупного рогатого скота. *Сб. науч. тр. ВНИИВЭА.* 2004. № 46. С. 106–110.
16. Федорова О. А., Павлов С. Д., Павлова Р. П., Хлызова Т. А. Снижение молочной продуктивности коров в зависимости от численности гнуса на пастбищах и эффективность защитных мероприятий. *Тр. ВНИИВЭА.* 2007. № 49. С. 160–174.
17. Колесников В. И., Кошкина Н. А., Енгашев С. В. [и др.]. Инсектицидная и репеллентная эффективность нового препарата Дельцид против кровососущих двукрылых насекомых. *Сб. науч. тр. Ставропольск. науч.-исслед. ин-та животноводства и кормопроизводства.* 2013. Т. 2, № 6. С. 234–238.
18. Федорова О. А., Хлызова Т. А. Эффективность систематических опрыскиваний крупного рогатого скота дельцидом против кровососущих мошек на пастбищах. *Вестн. КрасГАУ.* 2016. № 2. С. 159–164.
19. Деркач С. В. Формирование гельминтофауны, защита от гнуса и инвазионных болезней мясного скота породы лимузин, поступившего в Тюменскую область из Франции : автореф. дис. ... канд. вет. наук. Тюмень, 2007. 22 с.
20. Лысенко И. О. Экологические основы функционирования системы «паразит–хозяин» при энтомозах сельскохозяйственных животных : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Москва, 2009. 44 с.
21. Вацаев Ш. В., Тумриев А. Д., Даулакова Э. Я., Джамалова А. З. Экологические аспекты использования методов малообъемного и ультрамалообъемного опрыскивания для борьбы с арахноэнтомозами крупного рогатого скота. *Рос. паразитол. журн.* 2014. Вып. 1. С. 89–92.
22. Новиков П. В., Бондаренко Л. А., Сафиуллин Р. Т., Ташбулатов А. А. Методические положения по борьбе с зоофильными мухами и другими членистоногими в условиях промышленного птицеводства. *Рос. паразитол. журн.* 2014. Вып. 1. С. 118–122.
23. Коренник И. В. Современные аспекты гигиены в молочном животноводстве. *Ветеринария Кубани.* 2012. № 2. С. 21–23.
24. Латкин С. В., Павлов С. Д., Хлызова Т. А., Федорова О. А., Метелица И. А., Лещев М. В. Новые препараты для защиты животных от кровососущих двукрылых насекомых. *Рос. паразитол. журн.* 2014. Вып. 3. С. 81–85.
25. Степанов В. А., Арисов М. В. Изучение репеллентной активности препаратов «РольфКлуб 3 D капли для собак» и «РольфКлуб 3 D капли для кошек» по отношению к кровососущим двукрылым насекомым. *Рос. паразитол. журн.* 2014. Вып. 4. С. 102–104.
26. Квичко Л. И., Архипов И. А., Абрамов В. Е., Панфилова М. Н., Ливерко И. В. Эффективность препарата на основе цифлутрина против зоофильных мух. *Теория и практика паразитарных болезней животных.* 2011. С. 239–240.
27. Коваленко В. Л., Бовкун Т. В., Розумнюк А. В., Лясота В. П., Балацкий Ю. О. Основні перспективи дезінфектанту Геоцид. *Vet. біотехнологія.* 2015. № 27. С. 148–153.
28. Палій А., Палій А. Репеленти для ВРХ. *The Ukrainian Farmer.* 2017. № 8 (92). С. 184–186.
29. Понамарев Н. М., Носова О. Э. Эффективность инсектицидов против имаго зоофильных мух в хозяйствах Алтайского края. *Вестн. Алтайск. гос. аграр. ун-та.* 2014. № 12 (122). С. 113–117.
30. Стегній Б. Т., Герілович А. П., Палій А. П., Машкей А. М., Сумакова Н. В. Ектопаразити як механічні і трансмісивні переносники інфекційних хвороб. *Вісн. аграр. науки.* 2017. № 11. С. 35–38.
31. Сумакова Н. В. Ветеринарно-санітарна оцінка ефективності застосування дезінфікуючих та дезінсекційних засобів в системі захисту здоров'я тварин : автореф. дис. ... канд. вет. наук. Суми, 2018. 21 с.
32. Столярова Ю. А. Разработка эффективного инсектоакарицида *in vitro*. *Паразитарные системы и паразитоценозы животных : материалы V науч.-практ. конф. Междунар. ассоц. паразитоценологов (Витебск, 24–27 мая 2016 г.).* Витебск, 2016. С. 172–173.
33. Müller G. C., Hogsette J. A., Beier J. C., Traore S. F., Toure M. B. [et al.] Attraction of *Stomoxys* sp. to various fruits and flowers in Mali. *Med. Vet. Entomol.* 2012. Vol. 26, No. 2. P. 178–187.
34. Стасюкевич С. И. Эффективность некоторых препаратов при оводных болезнях лошадей. *Паразитарные системы и паразитоценозы животных : материалы V науч.-практ. конф. Междунар. ассоц. паразитоценологов (Витебск, 24–27 мая 2016 г.).* Витебск, 2016. С. 170–172.
35. Saini R. K., Orindi B. O., Mbahin N., Andoke J. A., Muasa P. N., Mbuvi D. M., Muya C. M., Pickett J. A., Borgemeister C. W. Protecting cows in small holder farms in East Africa from tsetse flies by mimicking the odor profile of a non-host bovid. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017. Vol. 11, No. 10. P. e0005977. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005977>.
36. Paliy A. P., Sumakova N. V., Paliy A. P., Ishchenko K. V. Biological control of house fly. *Ukrainian Journal of Ecology.* 2018. Vol. 8, No. 2. P. 230–234.
37. Арисов М. В., Архипов И. А. Методы определения эффективности инсектицидов, акарицидов, регуляторов развития и репеллентов при эктопаразитозах плотоядных животных. *Рос. паразитол. журн.* 2018. Т. 12, № 1. С. 81–97.

38. Paliy A. P., Sumakova N. V., Mashkey A. M., Petrov R. V., Paliy A. P., Ishchenko K. V. Contamination of animal-keeping premises with eggs of parasitic worms. *Biosystems Diversity*. 2018. Vol. 26, No. 4. P 327–333.
39. Нагорна Л. В., Проскуріна І. В. Особливості інсектицидних обробок у скотарстві. *Вет. медицина : міжвід. темат. наук. зб.* 2018. Вип. 104. С. 424–427.

#### APPLICATION OF INSECTICIDES IN INDUSTRIAL ANIMAL BREEDING

**Paliy A. P., Mashkey A. M., Sumakova N. V., Gontar V. V.**

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

**Paliy A. P.**

Petro Vasylenko Kharkiv National Technical University of Agriculture, Kharkiv, Ukraine

*Entomoses of farm animals are widespread in the territory of Ukraine and cause significant economic losses to animal husbandry. It is established that the sick animals have reduced milk, meat and wool productivity, breeding qualities; weakened young animals, which are easily exposed to various diseases of infectious and non-infectious etiology, are born. Among all modern methods and means for artificial reduction of the number of insects, the most effective is the chemical method. To protect animals from midges the most cost-effective is the spraying of animals with insecticides and repellents. The analysis of the presented literature data allows us to say that sufficiently large range of effective preparations of both domestic and foreign production is presented on the market of disinsection agents. However, it has been reported that resistance to insects has formed for most of them, some of the products are highly toxic to warm-blooded animals, and also they are quite expensive and their use is economically unjustified. Great scientific and practical importance has the development of modern methods of combating the causative agents of farm animal entomoses based on strict regulations for treatment-and-prophylactic means, which make it possible to reduce the number of parasites to an economically intangible level, prevent environmental pollution by pesticides, and obtain safe animal products of high sanitary quality. The insecticide market has a fairly large range of efficient products, both domestic and foreign, but most of them do not meet modern challenges and advanced livestock technologies. At the present stage of the disinfectology development, the search for new compositions of chemical compounds for disinsection in animal husbandry to combat harmful insects is promising*

**Keywords:** insects, insecticide, repellent, active ingredient, synthetic pyrethroids, farm animals

УДК 619:616.993.192.1-036.2:636.596(477.52/.54+477.62)

DOI 10.36016/VM-2019-105-22

#### ПОШИРЕННЯ ЕЙМЕРІОЗУ ГОЛУБІВ В УМОВАХ ІНДИВІДУАЛЬНИХ ГОСПОДАРСТВ СХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ

**Люлін П. В.**

Харківська державна зооветеринарна академія,  
Харків, Україна, e-mail: [liulinpetr@gmail.com](mailto:liulinpetr@gmail.com)

*У статті наведені результати дослідження епізоотичної ситуації — поширення еймеріозу голубів в умовах індивідуальних господарств сходу України (EI — 52,3 %). Встановлений видовий склад збудників еймеріозу голубів *Eimeria labbeana* (71,0 — 81,5 %), *Eimeria columbarum* (14,5 — 26,5 %), *Eimeria columbae* (2,5–4,0 %)*

**Ключові слова:** голуби, еймерії, екстенсивність, інтенсивність, інвазія

Еймеріоз голубів — протозойна хвороба, збудником якої є моноксенні, внутрішньоклітинні, епітеліотропні паразити з підцарства Protozoa, типу Apicomplexa, класу Sporozoa, ряду Coccidiida, родини Eimeriidae, роду *Eimeria*, видів *Eimeria columbae* (Mittra and Das Gupta, 1937), *Eimeria columbarum* (Nieschulz, 1935), *Eimeria labbeana* (Labbe, 1896, Pinto, 1928) [1, 2].

Хвороба характеризується розладами травлення, проявляється діареєю, часто з прожилками крові, спрагою, супроводжується втратою крові, розвитком анемії, інколи нервовими явищами, відставанням у рості та розвитку і навіть загибеллю молодняка від 5–30 до 35–50 %, чим і завдає значних економічних збитків [3–7].

Хворі птиці втрачають здатність до польоту, пригнічені, апетит відсутній, мають настовбурчене пір'я, втягують голову, тонус крил ослаблений.

У зв'язку з вищевикладеним, дослідження епізоотичної ситуації щодо поширення еймеріозу голубів у регіонах України, визначення видового складу збудників є важливим для розробки ефективних заходів боротьби і профілактики. Тому метою роботи було з'ясувати епізоотичну ситуацію щодо поширення еймеріозу голубів в умовах індивідуальних господарств східного регіону України та визначити видову належність збудників еймеріозу.

**Матеріали і методи дослідження.** Робота виконувалась протягом 2016–2019 років на базі індивідуальних господарств із утримання голубів в Харківській, Сумській, Донецькій і Полтавській областях. Матеріалом для дослідження слугували фекалії від голубів загальною кількістю 926 проб. Матеріал (фекалії) відбирали методом випадкової вибірки з підлоги та індивідуально під час дефекації. Відібраний матеріал досліджували в лабораторії кафедри паразитології Харківської державної зооветеринарної академії стандартизованим методом Фюлеборна [6, 8]. Мікроскопічні дослідження проводили за малого збільшення мікроскопу (8×10) з подальшим визначенням середніх показників екстенсивності інвазії (EI, %) та інтенсивності інвазії (II, кількість ооцист в 1 г фекалій). Видову належність збудників еймеріозу визначали за результатами власних досліджень морфології ооцист (форми, кольору, строків споруляції) порівнюючи їх з даними визначальних таблиць L. P. Pellerdy (1974) [2].

**Результати досліджень.** За результатами спеціальних копроскопічних досліджень різновікових груп голубів індивідуальних господарств східного регіону України інвазованість на еймеріоз в середньому склала 52,3 % (табл.)

**Таблиця —** Поширення еймеріозу голубів на сході України

Область	Досліджено, гол.	Інвазовано, гол.	EI, %	II, ооцист в 1 г фекалій
Харківська	217	109	50,2	274,5 ± 12,5
Сумська	223	147	65,9	308,6 ± 16,8
Донецька	249	117	46,9	198,3 ± 13,6
Полтавська	237	112	47,2	243,5 ± 14,5
Всього	926	485	52,3	256,2 ± 40,6

Як видно з таблиці, інвазованість голубів східного регіону України висока. Найменша екстенсивність інвазії виявлялась у голубів індивідуальних господарств Донецької та Полтавської областей — відповідно 46,9 та 47,2 %, в Харківській області — 50,2 % і найвища в Сумській області — 65,9 %. При цьому інтенсивність інвазії була різноманітна: слабка (1–10 ооцист в 1 г фекалій) реєструвалась у 43–64 %, середня (11–100 ооцист в 1 г фекалій) — у 26–45 % та сильна (> 100 ооцист) в 1 г фекалій — у 10–12 % від кількості інвазованих голубів.

Видовий склад збудників еймеріозу голубів представлений трьома видами еймерій — *Eimeria columbae*, *Eimeria columbarum*, *Eimeria labbeana*. Із них у загальній кількості ооцист найбільш поширеним видом виявилась *Eimeria labbeana* (71,0–81,5 %), *Eimeria columbarum* (14,5–26,5 %), *Eimeria columbae* (2,5–4,0 %). Таким чином, основними видами, що спричиняють еймеріоз голубів сходу України є *Eimeria labbeana* та *Eimeria columbarum*, і значно меншу частку в патології еймеріозу складає вид *Eimeria columbae*.

**Висновки.** 1. Еймеріоз голубів в умовах індивідуальних господарств сходу України — широко поширена інвазія (EI — 52,3 %).

2. Клінічно еймеріоз голубів перебігав із слабким ступенем інвазії у 43–64 %, середнім — у 26–45 % та сильним — у 10–12 % поголів'я голубів.

3. Основними видами еймеріозу голубів сходу України є *Eimeria labbeana* (71,0–81,5 %) та *Eimeria columbarum* (14,5–26,5 %), а *Eimeria columbae* мав незначне поширення (2,5–4,0 %).

### Список літератури

1. Krautwald-Junghanns M. E. Zebisch R., Schmidt V. Relevance and treatment of coccidiosis in domestic pigeons (*Columba livia* forma domestica) with particular emphasis on toltrazuril. *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 2009. Vol. 23, No. 1. P. 1–5.
2. Pellérdy L. P. Coccidia and coccidiosis. Berlin : Verlag Paul Parey and Akademiai Kiady, 1974. 959 p.
3. Romaniuk K. Robaczyce gołębi. *Magazyn Weterynaryjny*. 2000. No. 9. S. 48.
4. Stenzel T., Koncicki A. 2007. Occurrence of parasitic invasions in domestic pigeons (*Columba livia domestica*) in the Northern Poland. *Polish Journal of Veterinary*. 2007. No. 10. P. 275–278.

5. Szeleszczuk P. Praktyczne uwagi na temat terapii i profilaktyki chorób gołębi domowych. *Magazyn Weterynaryjny*. 1995. No. 4. P. 25–30.
6. Бакулин В. А. Болезни птиц. Санкт-Петербург, 2006. С. 364–374.
7. Бейер Т. В. Протисты : руководство по зоологии. Часть 2. Класс Coccidea Leuckart, 1879 — Кокцидии. — Санкт-Петербург : Наука, 2007. С. 216–229.
8. Котельников Г. А. Гельминтологические исследования окружающей среды. Москва : Россагропромиздат, 1991. — 144 с.

**SPREAD OF PIGEON EIMERIOSIS IN THE CONDITIONS OF  
INDIVIDUAL FARMS OF THE EASTERN REGION OF UKRAINE**

**Lyulin P. V.**

*Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine*

*Compliance with veterinary sanitary norms and rules for keeping pigeons does not completely solve the problem of eimeriosis due to the high reproductive ability of the parasite and the long (about a year) preservation of oocysts in the external environment. The aim of the work was to study the epizootic situation regarding the spread of pigeon eimeriosis in individual farms in the eastern region of Ukraine and to determine the species composition of pathogens. Feces of pigeons from individual farms of the eastern region of Ukraine (Kharkiv, Donetsk, Sumy and Poltava regions) served as material for research. 926 samples of pigeon feces were investigated by flotation methods. The species belonging of the causative agents of eimeriosis was determined by the results of own studies of oocyst morphologies and by data from L. P. Pellerdy tables (1974). As a result of studies, it was found that pigeon eimeriosis is widespread in individual farms in the eastern region of Ukraine (prevalence — 52.3%). The smallest eimeriosis invasion was detected in pigeons in Donetsk and Poltava regions, 46.9% and 47.2% respectively, in Kharkov region — 50.2%, and the largest in Sumy region — 65.9%. At the same time, a weak degree of invasion (1–10 oocysts in 1 g of feces) was recorded in 43–64%, medium (11–100 oocysts in 1 g of feces) — 26–45% and strong (> 100 oocysts in 1 g feces) — 10–12% of the number of invaded birds. In the eastern region of Ukraine, three species of Eimeria that cause eimeriosis of pigeons (Eimeria columbae, Eimeria columbarum, Eimeria labbeana) were identified, the ratio of which in the total number of oocysts ranged: Eimeria labbeana — 71.0–81.5%, Eimeria columbarum — 14.5–26.5%, Eimeria columbae — 2.5–4.0%*

**Keywords:** *pigeons, Eimeria, extensiveness, invasion intensity*

## 8. ІСТОРІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ НАУКИ

УДК 619(092)[Nechval I. T.]

DOI [10.36016/VM-2019-105-23](https://doi.org/10.36016/VM-2019-105-23)

### ДО 100-РІЧЧЯ ДОКТОРА ВЕТЕРИНАРНИХ НАУК ІВАНА ТИМОФІЙОВИЧА НЕЧВАЛЯ — ДИРЕКТОРА ОДЕСЬКОЇ НАУКОВО-ДОСЛІДНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ СТАНЦІЇ (1970–1989 рр.)

**Богач М. В., Селіщева Н. В.**

Одеська дослідна станція Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Одеса, Україна, e-mail: [bogach\\_nv@ukr.net](mailto:bogach_nv@ukr.net)

**Стегній Б. Т., Воек Д. В., Унковська О. М.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [admin@vet.kharkov.ua](mailto:admin@vet.kharkov.ua)

У статті висвітлено основні етапи життя та наукової діяльності Івана Тимофійовича Нечваля, доктора ветеринарних наук, який у 1970–1989 рр. обіймав посаду директора Одеської науково-дослідної ветеринарної станції. Основним напрямом його понад 60-річної наукової та адміністративної роботи було вивчення епізоотіології туберкульозу тварин, розробка заходів профілактики та боротьби з цією інфекцією. Наукові досягнення Івана Тимофійовича викладені у 82 наукових працях щодо інфекційних хвороб тварин (книги, статті, інструкції та методичні вказівки).

Система заходів щодо профілактики та боротьби з туберкульозом великої рогатої худоби та свиней, розроблена І. Т. Нечвалем знайшла широке практичне використання та була включена до інструкції «Про заходи з профілактики та оздоровлення тваринництва від туберкульозу» (1997). Окремі фрагменти його робіт були використані в доповідях на науково-практичних конференціях.

**Ключові слова:** ювілей, історія науки, Одеська науково-дослідна ветеринарна станція, велика рогата худоба, свині, туберкульоз, заходи боротьби, профілактика.

Іван Тимофійович Нечваль, доктор ветеринарних наук, полковник ветеринарної служби в запасі — випускник Київського ветеринарного інституту, директор Одеської науково-дослідної ветеринарної станції (1970–1989 рр.). Його науковий та управлінський досвід роботи у сфері ветеринарної медицини нараховує понад 60 років.

Народився Іван Тимофійович 28 січня 1919 року на Чернігівщині у м. Ніжині в сім'ї робітника. Батько працював майстром на залізниці, мати була домогосподаркою. Дитинство було важким і голодним. У багатодітній родині було шестеро дітей, з яких вижили лише троє, решта — загинули під час голодомору, від епідемій та в період окупації. Один брат підірвався на німецькій міні в полі, коли пас корів.

Але, незважаючи на скрутні часи, Іван Тимофійович тягнувся до знань. Спеціальну освіту здобував спочатку у Ніжинському ветеринарному технікумі, потім вступив до Київського ветеринарного інституту. В інституті був майстром лижного спорту на дистанції 50 км. З вірним другом Сергієм Разумовичем Дідовцем завойовував не одну нагороду на змаганнях. Іван Тимофійович часто з теплотою згадував свого друга — і як ділили один костюм на двох, який одягав той, у кого були більш важливі справи (як правило це були побачення з дівчатами), і як здійснювали довгі пробіги на лижах у зимному голосіївському лісі. Та швидко пролетіли веселі студентські роки, останній державний екзамен здавали у Харкові, тому що Київ був окупований німецько-фашистськими військами.



Але, незважаючи на скрутні часи, Іван Тимофійович тягнувся до знань. Спеціальну освіту здобував спочатку у Ніжинському ветеринарному технікумі, потім вступив до Київського ветеринарного інституту. В інституті був майстром лижного спорту на дистанції 50 км. З вірним другом Сергієм Разумовичем Дідовцем завойовував не одну нагороду на змаганнях. Іван Тимофійович часто з теплотою згадував свого друга — і як ділили один костюм на двох, який одягав той, у кого були більш важливі справи (як правило це були побачення з дівчатами), і як здійснювали довгі пробіги на лижах у зимному голосіївському лісі. Та швидко пролетіли веселі студентські роки, останній державний екзамен здавали у Харкові, тому що Київ був окупований німецько-фашистськими військами.

Одразу ж зі студентської лави в 1941 році Іван Тимофійович відправився на фронт. Війна закарбувалася в його пам'яті на все життя, особливо — оборона Сталінграда. Нескінчені бомбардування міста, через ворожі літаки не видно було неба. Масовані ворожі удари перетворювали місто в суцільні руїни. В одну з перерв між бомбардуваннями три офіцери, серед яких був і Іван Тимофійович, зібралися у зруйнованому підвалі будинку щоб перепочити та поїсти. Через декілька хвилин почули шум бомби, яка летіла прямісінько на них. У цей час один з офіцерів швидко зорієнтувався в ситуації і вискочив через вікно у велику вирву від раніше розірваної бомби, що стало для нього порятунком, а Іван Тимофійович з другим офіцером не встигли вискочити й опинилися глибоко присипаними під руїнами будинку. Становище виявилось критичним, дихати ставало все важче, не вистачало повітря. Промайнула думка покінчити з життям, але руки були міцно затиснуті, до пістолета не дотягнутися, і він утратив свідомість. Після закінчення бомбардування, офіцер, який встиг вискочити, показав місце, де залишилися люди, і солдати лопатами стали розгрібати розвалини. Через деякий час вони помітили як почав просипатися пісок унаслідок повороту голови Івана Тимофійовича. Серед живих залишився він один, другий офіцер загинув. Непритомного, його погрузили на полторку на соломі та повезли до шпиталю по мосту через Волгу, який був складений з дерев'яних колод. Від сильної тряски він отямився, але мова відновилася лише через тиждень у шпиталі, коли його здолала сильна спрага, і він простогнав — «Води!». Це його перше слово-крик супроводжувалося радісними емоціями поранених бійців, які лежали в цій палаті. За оборону Сталінграда Івана Тимофійовича нагороджено медаллю. Через багато років після закінчення війни в нього була нагода побувати у Волгограді. Довго він шукав те місце, де вони тримали оборону, і де він удруге народився, а коли знайшов, то довго-довго стояв у роздумах і спогадах про воєнні часи, бойових побратимів і про свою долю.

Потім були довгі та суворі дороги війни з боями, пораненнями, контузіями, втратами бойових побратимів, скрутою і екстремальними ситуаціями. Він згадував випадок, коли виснажені від тривалих переходів бійці засинали на ходу, і він по інерції крокував якийсь час у протилежному напрямку в бік від основного шляху. Двічі поранений і двічі контужений Іван Тимофійович дійшов до Будапешта, де одержав дуже серйозне поранення в ділянці стегна. Знаходячись у важкому стані проходив тривале лікування в польовому шпиталі. На нижню частину тіла був накладений гіпс, цей стан був дуже болючий, з неймовірними стражданнями. Під час Великої Вітчизняної війни 1941–1945 рр. І. Т. Нечваль — старший ветеринарний лікар 265-го гвардійського стрілецького полку Південно-Західного, Сталінградського, Українського фронтів, учасник боїв за Сталінград, Ростов, Одесу та інші невеликі населені пункти.

По закінченні війни дивізію, де він проходив службу, направили на Далекий Схід на війну з японцями. З 1945 року Іван Тимофійович — старший офіцер військово-ветеринарної служби Забайкальського військового округу (м. Чита). У 1955 році його було обрано депутатом Борзенської районної ради народних депутатів Читинської області. У 1956 році — звільнено у запас з військовим званням підполковника.

Довгі роки Іван Тимофійович тримав у пам'яті всі населені пункти, які визволяв від Сталінграда до Будапешта, тим чином перевіряючи свою пам'ять.

З 1956 по 1959 рр. І. Т. Нечваль обіймав посаду директора Станіславської (Івано-Франківської), а з 1959 по 1968 рр. — Полтавської обласних ветеринарних лабораторій. У 1966 році, без відриву від виробництва, закінчив аспірантуру при кафедрі мікробіології Полтавського сільськогосподарського інституту, у 1967 році — захистив кандидатську дисертацію на тему «Епізоотологія інфекційного атрофічного риніту свиней в Україні».



З 1968 року трудова діяльність Івана Тимофійовича була пов'язана з Одеською науково-дослідною ветеринарною станцією УНДІЕВ (нині — Одеська дослідна станція ННЦ «ІЕКВМ»). Спочатку він був обраний за конкурсом на посаду старшого наукового співробітника, а в подальшому — завідувача відділу епізоотології, з 1970 року — директор станції, у 1989 р. переведений на посаду головного наукового співробітника, а з 1995 по 2003 рік — очолював лабораторію епізоотології. На всіх етапах своєї трудової діяльності Іван Тимофійович виявляв чималі організаторські здібності та відданість ветеринарній справі. У 1987 році він захистив докторську дисертацію на тему «Мікобактеріози свиней».

За розробку вакцини та її застосування за невстановленої етіології хвороби норок, Іван Тимофійович був включений у програму 18-ї міжнародної ветеринарної конференції (Париж, 1967 р.). У наступному році він брав участь у науково-методичній нараді країн економічної взаємодопомоги (Варшава, 1968 р.) на тему «Атрофічний риніт і пневмонія свиней» і делегації спеціалістів Головного ветеринарного управління СРСР з переймання досвіду оздоровлення Чехословачії від бруцельозу та туберкульозу тварин.

Основний напрям наукової роботи І. Т. Нечвала — епізоотологія туберкульозу тварин, заходи профілактики та боротьби з цією інфекцією. Його науковий доробок — це 82 наукові праці з інфекційних хвороб тварин (книги, брошури, методичні рекомендації, статті, інструкції та настанови). Визначні заслуги Івана Тимофійовича у розробці системи заходів з профілактики й оздоровлення від туберкульозу поголів'я великої рогатої худоби та свиней, що знайшли практичне застосування та включені до інструкції «Про заходи з профілактики та оздоровлення тваринництва від туберкульозу» (1997), окремі фрагменти робіт були використані в доповідях на науково-практичних конференціях.

За бойові заслуги І. Т. Нечвала нагороджено орденом Великої Вітчизняної війни I ступеня, орденом «Червоної Зірки», орденом Богдана Хмельницького, медаллю «За бойові заслуги», 14 медалями за участь у бойових діях і звільнення міст-героїв, а за плідну роботу — орденами Трудового Червоного Прапора та «Знак Пошани». За успішне виконання планів наукових досліджень і впровадження досягнень науки в практику Іван Тимофійович багато разів нагороджувався грамотами Президії Південного відділення ВАСГНІЛ, адміністрацією УНДІЕВ. Івана Тимофійовича призначено пенсіонером «За особливі заслуги перед Україною».

Іван Тимофійович користувався дуже високим авторитетом серед керівників різного рівня та спеціалістів господарств. Йому були притаманні простота та скромність, чесність і доброзичливість, дисциплінованість і вимогливість, невтомна наполегливість у досягненні мети, і, у той же час, він вирізнявся своєю активною життєвою позицією, життєлюбністю, ерудицією та мудрістю. Помер Іван Тимофійович Нечваль 2 лютого 2008 року.

Його світлий образ назавжди залишиться у пам'яті колег, співробітників і всіх, кому довелося спілкуватися з цією чудовою людиною.

**TO THE 100<sup>th</sup> ANNIVERSARY OF DOCTOR OF SCIENCES (VETERINARY MEDICINE) IVAN TYMOFIIOVYCH NECHVAL — DIRECTOR OF THE ODESSA SCIENTIFIC-RESEARCH VETERINARY STATION (1970–1989)**

***Bogach N. V., Selishcheva N. V.***

*Odesa Experimental Station of the National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Odesa, Ukraine*

***Stegniy B. T., Vovk D. V., Unkovska O. M.***

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

*The article covers the main stages of life and scientific activity of Ivan Tymofiiovych Nechval, Doctor of Science (Veterinary Medicine), director of Odessa Scientific-Research Veterinary Station (1970–1989). His scientific and administrative experience in veterinary medicine is over 60 years. The main area of scientific work was the epizootiology of tuberculosis of animals, measures for prevention and control of this infection. His scientific achievements are 82 scientific works on infectious animal diseases (books, brochures, guidelines, articles, instructions and guidelines). System of measures on prevention and control of tuberculosis of cattle and pigs, developed by I. T. Nechval, were of practical use and were included in the Instructions "On measures for the prevention and recovery of livestock from tuberculosis" (1997), some fragments of works were used in reports at scientific and practical conferences.*

**Keywords:** anniversary, history of science, Odessa Scientific-Research Veterinary Station, cattle, pigs, tuberculosis, measures for prevention, control.



**ДО 100-РІЧЧЯ ПРОФЕСОРА ІВАНА ОЛЕКСІЙОВИЧА КАЛАШНИКА —  
РЕКТОРА ХАРКІВСЬКОГО ЗООВЕТЕРИНАРНОГО ІНСТИТУТУ (1962–1970 рр.)**

**Стегній Б. Т.**

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [admin@vet.kharkov.ua](mailto:admin@vet.kharkov.ua)*

**Головко В. О., Люлін П. В.**

*Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна, e-mail: [liulinpetr@gmail.com](mailto:liulinpetr@gmail.com)*

*У статті висвітлені основні етапи життя, наукової та державної діяльності Івана Олексійовича Калашника на шляху розвитку та становлення Харківської школи ветеринарних хірургів, розвитку Харківського зооветеринарного інституту, а також основного напрямку наукової діяльності вченого щодо розробки методів тканинної терапії та біогенної стимуляції у тварин.*

**Ключові слова:** ювілей, історія науки, Харківський зооветеринарний інститут, наукова школа, хірургія, тканинна терапія, біогенна стимуляція.



Іван Олексійович Калашник — відомий вчений у галузі ветеринарної медицини, розробник різноманітних методів тканинної терапії та біогенної стимуляції тварин, доктор ветеринарних наук, професор, ректор Харківського зооветеринарного інституту (1962–1970 рр.), Заслужений діяч науки і техніки Української РСР.

Народився Іван Олексійович 19 жовтня 1919 року в селі Межиріч Лебединського району Сумської області, славному козацькому поселенні, де і до сьогодні можна чути не назви вулиць, а «сотня». У 1856 році йому було надано окремий статус спеціального Слобожанського козацького полку. До революції в селі нараховувалося 8 церков (нині залишилась одна діюча), мешкало понад 10 000 осіб, які займались землеробством, скотарством, ремеслами, з яких найпоширенішим було гончарство [5].

Дитячі та юнацькі роки життя Івана Олексійовича були непростими. На його долю випала післяреволюційна розруха, епоха НЕПу, колективізації, репресій. Після закінчення

Лебединської середньої школи він поїхав до Ленінграда, де вступив на літературний факультет університету, але це місто зустріло його непривітно (скрута, голод), через рік він повернувся до батьківської хати. І, напевно, розповіді батька про землю, про «хліб» докорінно змінили його свідомість і привели (у 1937 році) до Харкова, де він вступив на ветеринарний факультет Харківського ветеринарного інституту, який успішно закінчив з відзнакою в 1941 році [3].

У серпні 1941 року Іван Олексійович добровольцем вступив до діючої армії. Проїшов бойовий шлях від Москви до Кенігсберґа. Спочатку на посаді старшого ветлікаря полку, начальника дивізійного ветеринарного лазарету, потім начальника ветеринарної служби 31-ї гвардійської дивізії. За період війни його було двічі поранено. За хоробрість і бойові заслуги Іван Олексійович нагороджений чисельними бойовими медалями та орденом Вітчизняної війни 2-го ступеня [3].

Після демобілізації в 1946 році він повернувся до рідного інституту, вступив до аспірантури кафедри оперативної хірургії і під керівництвом Михайла Олександровича Мальцева та Івана Івановича Магди послідовно виконав і захистив дисертації: кандидатську (1949 р.) на тему «Проводниковая анестезия при операциях в аноректальной области, на промежности и наружных гениталиях у собак и свиней» і докторську (1957 р.) «Тканевая терапия в ветеринарной хирургии». Цього ж року 30 листопада йому було присуджено науковий ступінь доктора

ветеринарних наук, а в 1959 році — учене звання професора. У 1957 року І. О. Калашник призначений завідувачем кафедри загальної та спеціальної хірургії Харківського ветеринарного інституту [3, 4, 6].

Після об'єднання (1961 р.) двох Харківських вузів: зоотехнічного та ветеринарного, у 1962 році наказом Міністерства сільського господарства УРСР, І. О. Калашник призначений ректором об'єданого Харківського зооветеринарного інституту. Посаду ректора вчений обіймав до 1970 року. За цей час він згуртував колектив, інститут набув величезного авторитету в державі та за кордоном. Він став «кузницею» кадрів не тільки для своєї країни, а й для країн Європи, Близького Сходу, Азії, Латинської Америки. В інституті нараховувалося 30 кафедр, де працювали 173 викладачі, з них: 16 професорів, докторів наук, 2 члени-кореспонденти ВАСГНІЛ, 4 Заслужених діячі науки і техніки УРСР, 101 кандидат наук (80 доцентів, 10 старших викладачів), 48 асистентів, 9 викладачів.

Під керівництвом ректора І. О. Калашника були розроблені нові навчальні плани, які передбачали раціональне поєднання теоретичного навчання з виробничою працею, що були затверджені Міністерством сільського господарства СРСР і Міністерством вищої і середньої спеціальної освіти СРСР. Для більш глибокої загально біологічної та теоретичної підготовки спеціалістів на факультетах було збільшено кількість годин, введені курси — вірусологія, радіологія, біофізика, хвороби риб, хвороби бджіл, хвороби хутрових звірів. Кафедри оснащувались новітньою навчальною та науковою апаратурою. З 1963 року відповідно до плану Міністерства сільського господарства був збільшений прийом на ветеринарний, а з 1968 року на зоотехнічний факультети. За 10 років (1960–1970 рр.) було підготовлено 4 016 спеціалістів (стаціонарно 2 501, за заочною формою — 1515), з них зоотехніків — 2 200, ветеринарних лікарів — 1 816. За цей період в інституті 71 особа закінчила аспірантуру. Із зоотехнічної й ветеринарної наук були відкриті спеціалізовані вчені ради, і за 10 років у них було захищено 200 кандидатських і 26 докторських дисертацій.

Одночасно велось будівництво об'єктів інфраструктури (стадіон, клуб, гуртожитки, будинки для співробітників та інші господарсько-важливі об'єкти). Іваном Олексійовичем було започатковано музей інституту. Високого рівня розвитку досягли учбові господарства. Зросла урожайність зернових на 8–9 ц/га у порівнянні з показниками 1960 року, збільшилось поголів'я худоби, та підвищилась її продуктивність. Виробництво м'яса в учгоспі «Прогрес» збільшилось у два, а в учгоспі «Ветеринар» у три рази, валовий надій молока у середньому на 1 фуражну корову досяг показника майже 4 000 кг [1]. Щорічно інститут брав участь у Всесоюзній виставці досягнень народного господарства (ВДНГ), мав численні нагороди — грамоти, а Іван Олексійович особисто був нагороджений трьома медалями ВДНГ [3].



**Професор І. О. Калашник  
проводить практичні заняття**



**Викладачі ХЗВІ (1981 р.):** 5-й зліва сидить професор І. О. Калашник, 7-й — ректор І. Ф. Храбустовський

Іван Олексійович досяг значних висот у науці і був продовжувачем Харківської школи ветеринарних хірургів, засновником якої по праву є професор М. О. Мальцев. Також продовжувачами школи ветеринарних хірургів були професори І. І. Магда та В. О. Герман. Під керівництвом професора В. О. Германа було захищено 6 кандидатських дисертацій, він опублікував понад 50 наукових праць. Великий внесок у формування Харківської школи ветеринарних



**Обговорення напрямів наукових досліджень:**  
зліва направо професор І. О. Калашник  
і дипломник П. В. Люлін

хірургів зробив видатний вчений І. І. Магда, ним опубліковано понад 100 наукових праць, 10 підручників, підготовлено 12 кандидатів ветеринарних наук, з яких двоє потім стали докторами наук (І. О. Калашник, Г. М. Фоменко) [2, 6].

Іван Олексійович Калашник був постійним членом спеціалізованих учених рад у Московській ветеринарній академії та Ленінградському ветеринарному інституті. Під його керівництвом виконано та захищено 16 кандидатських (Л. І. Юрченко, З. І. Дорогая, М. Я. Кокович, В. П. Багінскас, К. О. Гончарова, В. В. Кирилін, О. Г. Санін, С. М. Кульшов, Т. Ш. Папуашвілі, Г. І. Кочмар, Г. М. Нгареджимті, В. П. Бакшеєв, П. І. Бреславець, Д. М. Житков, Д. В. Сарбаш, О. В. Кантимір) і 4 докторські (Б. Я. Передера, О. Ф. Русінов, В. М. Лабунський, К. А. Рейдла) дисертації. Учений є автором і

співавтором підручників і посібників: «Тканинна терапія у ветеринарній хірургії» (2-ге видання), «Тканинна терапія у ветеринарній практиці», «Стимулююча терапія у ветеринарії» (2-ге видання), «Біологічні стимулятори у ветеринарії і тваринництві», «Незаразні хвороби коней», «Кування коней та хвороби копит» та інші. Ним опубліковано 156 наукових статей [3]. За досягнення в науці у 1990 році Указом президії Верховної Ради УРСР, І. О. Калашнику присвоєно почесне звання Заслуженого діяча науки і техніки УРСР. Включно до 1994 року він працював завідувачем кафедри хірургії ХЗВІ, а з 1990 року майже до кінця життя був професором цієї ж кафедри. На схилі трудової діяльності Іван Олексійович написав такі строки (мовою оригіналу):

Видно время. Я сам постарел.  
Память стала как то решето.  
Что вчера ещё чётко умел,  
То сегодня не так и не то.

Или это ускорила жизнь  
Её темп напряжённо возрос,  
Но вокруг погляди, оглянись,  
Ведь пассивней меня молодёжь.

Я ещё в полнокровном строю,  
С полной выкладкой твёрдо иду.  
Если хочешь признанья и славы  
Не иди по чужому следу,  
А тори непрерывно дорогу свою  
И достигнешь всё это по праву.

До кінця життя І. О. Калашник втілював юнацьку мрію літератора і у 2000–2002 роках видав дві збірки віршів «О память сердца прошлых дней...» (2000 р.) і «Эхо юности» (2002 р.).

У 2009 році за клопотанням колективу кафедри та за рішенням ученої ради Харківської державної зооветеринарної академії кафедрі хірургії ХДЗВА присвоєно ім'я професора І. О. Калашника та відкрито меморіальну дошку.



**На рідній кафедрі:** зліва направо  
доц. каф. анатомії та гістології, заст.  
декана ф-ту вет. медицини В. І. Симоненко,  
проф. І. О. Калашник, доц. В. Ф. Мусієнко

**Список літератури**

1. Калашник И. А. 10 лет объединённому Харьковскому зооветеринарному институту (1960–1970 гг.) / И. А. Калашник // Науч. тр. ХЗВИ. — Харьков, 1970. — Т. 5(29). — С. 3–11.
2. Історія, здобутки та перспективи кафедри хірургії ім. професора І. О. Калашника (до 150-річчя кафедри хірургії) / Д. В. Сарбаш, О. В. Кантемир, Д. В. Слюсаренко, К. А. Синяговська // Проблеми зооінженерної та ветеринарної медицини : зб. наук. праць ХДЗВА. — Харків : РВВ ХДЗВА. 2012. — Вип. 24, ч. 2 : Ветеринарні науки. — С. 570–574.
3. Калашник І. О. (1919–2003) : бібліографічний покажчик наукових праць за 1919–2002 р. і до 100-річчя від дня народження / укл. З. І. Шакула, О. В. Фетісова ; за ред. Г. В. Свириденко, Т. О. Зінченко. — Харків, 2018. — 73 с.
4. Калашник І. О. Кафедра хірургії / І. О. Калашник // Тваринництво України. — 1991. — № 8. — С. 11–12.
5. Село Межирич — центр сельсовета в Лебединском районе Сумщины [Електрон. ресурс]. — Режим доступа : URL : <https://tochka-na-karte.ru/Goroda-i-Gosudarstva/15353-Mezhirich.html>.
6. Калашник И. А. Харьковская школа ветеринарных хирургов / И. А. Калашник // Материалы Всесоюз. межвуз. конф. по вопр. вет. хирургии / ХЗВИ. — Харьков 1970. — С. 3–6.

**TO THE 100<sup>th</sup> ANNIVERSARY OF PROFESSOR IVAN OLEKSIYOVYCH KALASHNIK —  
RECTOR OF THE KHARKIV ZOOVETERINARY INSTITUTE (1962–1970)****Stegniy B. T.***National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine***Golovko V. O., Lyulin P. V.***Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine*

*The basic stages of life, scientific and state activity on the way of development and establishment of the Kharkov School of Veterinary Surgeons, the development of the Kharkiv Zooveterinary Institute, the main direction of scientific activity in the development of methods of tissue therapy and biogenic stimulation in animals are highlighted.*

**Keywords:** anniversary, history of science, Kharkov Zooveterinary Institute, scientific school, surgery, tissue therapy, biogenic stimulation.

## ЗМІСТ

### 1. ПРОБЛЕМИ БІОБЕЗПЕКИ ТА БІОЗАХИСТУ. ЕМЕРДЖЕНТНІ ІНФЕКЦІЇ

*Білоконов І. І.*

ПРО ПОХОДЖЕННЯ ТА ЕВОЛЮЦІЮ *BACILLUS ANTHRACIS* .....5

*Завгородній А. І., Позмогова С. А.*

ФОРМИРОВАНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕМУ  
ПРЕПАРАТУ «ДЕЗАКТИН» У МИКОБАКТЕРИЙ ..... 11

### 2. ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ ТА МІКРОБІОЛОГІЯ

*Мартиненко Г. А.*

АНАЛІЗ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ  
*SALMONELLA* SPP. У ДНІПРОПЕТРОВСЬКІЙ ОБЛАСТІ (УКРАЇНА)..... 16

*Рудова Н. Г., Солодянкін О. С., Герілович А. П.*

ДЕТЕКЦІЯ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ ЦИРКОВІРУСУ СВИНЕЙ ІІ ТИПУ  
МЕТОДОМ ПЕТЛЕВОЇ ІЗОТЕРМАЛЬНОЇ АМПЛІФІКАЦІЇ (LAMP) .....20

*Стегній Б. Т., Музика Д. В., Ткаченко С. В., Рула О. М.,  
Стегній А. Б., Колесник О. С., Вовк С. І., Напненко О. О.*

КОМІСІЙНІ ВИПРОБУВАННЯ ТЕСТ-СИСТЕМИ  
«НАБІР ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ ДО ВІРУСУ НЬЮКАСЛСЬКОЇ  
ХВОРОБИ В РЕАКЦІЇ ЗАТРИМКИ ГЕМАГЛЮТИНАЦІЇ» .....26

### 3. ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

*Стегній Б. Т., Завгородній А. І., Горбатенко С. К.,  
Корнєйков О. М., Стегній М. Ю., Болотін В. І.,  
Горлов Ю. І., Ганова Л. О., Чумак О. М., Співак М. Я.*

ПОРІВНЯЛЬНА ДІАГНОСТИКА ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ МЕТОДОМ ІФА В  
ТЕСТ-СИСТЕМАХ РІЗНИХ КОНСТРУКЦІЙ .....32

*Корнєйков О. М., Горбатенко С. К., Завгородній А. І.,  
Стегній Б. Т., Мандигра М. С.*

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ЩОДО ОЗДОРОВЛЕННЯ  
ТВАРИННИЦТВА УКРАЇНИ ВІД ЛЕЙКОЗУ ВРХ .....37

*Завгородній А. І., Позмогова С. А., Гончарова Н. В.,  
Калашник М. В., Білушко В. В.*

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕПІЗООТИЧНИХ СИРОВАТОК КРОВІ ЖУЙНИХ  
ТВАРИН У РЕАКЦІЇ ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ (РЗК)  
З ПАРАТУБЕРКУЛЬОЗНИМ АНТИГЕНОМ .....41

*Корнєйков О. М., Прохорятова О. В., Кольчик О. В.,  
Олешко А. Ю., Бородай Н. І., Аль Джабарі Мунір*

ЕФЕКТИВНІСТЬ РІЗНИХ ПІДХОДІВ ПРОФІЛАКТИКИ ТА БОРОТЬБИ  
З ІНФЕКЦІЙНИМИ ПНЕВМОЕНТЕРИТАМИ ВРХ.....46

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

<i>Сачук Р. М., Жигалюк С. В., Лук'яник І. М., Мандигра М. С., Стравський Я. С., Кацараба О. А.</i> ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ, АЛЕРГІЗУЮЧОЇ ТА МІСЦЕВО- ПОДРАЗНЮВАЛЬНОЇ ДІЇ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТУ «ЙОДОЗОЛ».....	54
<i>Сіренко О. С., Десятникова О. В., Гур'єва В. Б.</i> ЕФЕКТИВНІСТЬ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ «ГУАНІДЕЗ» НА ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ БДЖІЛ У ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ .....	59
<i>Стегній Б. Т., Драгуть С. С., Куценко В. А., Рамазанова Т. П., Марченко Н. В., Обуховська О. В., Болотін В. І., Горлов Ю. І., Ганова Л. О., Чумак О. М., Горлов А. Ю., Співак М. Я.</i> ПОРІВНЯЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ДІАГНОСТИЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ІМУНОФЕРМЕНТНИХ ТЕСТ-СИСТЕМ ВІТЧИЗНЯНОГО ТА ЗАКОРДОННОГО ВИРОБНИЦТВА ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ТВАРИН НА БРУЦЕЛЬОЗ .....	63
<i>Ісіченко Н. В., Литвин В. М., Дехтяр І. І.</i> ЗАСТОСУВАННЯ НОВИХ ВІТЧИЗНЯНИХ ДЕЗІНФЕКЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ТА БОРОТЬБИ З ІНФЕКЦІЙНИМИ ХВОРОБАМИ ШОВКОВИЧНОГО ШОВКОПРЯДА .....	69
<i>Родіонова К. О., Палій А. П.</i> АНАЛІЗ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕЧНИХ ЧИННИКІВ У ТЕХНОЛОГІЇ ВИГОТОВЛЕННЯ СИРОВ'ЯЛЕНИХ КОВБАС .....	74

#### 5. БІОТЕХНОЛОГІЯ

<i>Павленко Л. М., Стегній Б. Т., Дідик Т. Б., Павленко Б. М.</i> РЕЗУЛЬТАТИ КРІОКОНСЕРВАЦІЇ СПЕРМИ БУГАЇВ У РОСЛИННОМУ ФОРТИФІКАНТІ З ВИКОРИСТАННЯМ СОРБЕНТУ .....	81
<i>Рудой О. В., Дзюба Я. М., Полупан І. М.</i> АКТИВНІСТЬ АНТИРАБІЧНИХ АНТИТІЛ У СИРОВАТКАХ КРОВІ ЗА РІЗНИХ УМОВ ЗБЕРІГАННЯ .....	84

#### 6. ІМУНОЛОГІЯ ТА ПАТОЛОГІЯ В ГУМАННІЙ ТА ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ

<i>Кравченко Н. О., Коваленко Л. В., Руденко О. П., Бойко В. С.</i> СТАН МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ У ОРГАНІЗМІ КОНЕЙ У ВЕСНЯНИЙ ПЕРІОД .....	88
<i>Дуда Ю. В., Прус М. П.</i> РІВЕНЬ БІЛКІВ І ІМУНОГЛОБУЛІНІВ У КРОВІ КРОЛІВ ЗА ПАСАЛУРОЗНОЇ ІНВАЗІЇ .....	91
<i>Чорний М. В.</i> СТРЕСОВИЙ СТАН ТА ІМУНОЛОГІЧНИЙ СТАТУС МОЛОДНЯКУ СВИНЕЙ .....	95

#### 7. ПАРАЗИТОЛОГІЯ

<i>Богач М. В., Скальчук В. В., Кущак І. А.</i> ВПЛИВ ДЕЗІНФЕКТАНТУ «БРОВАДЕЗ-ПЛЮС» У РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЯХ НА ООЦИСТИ ЕЙМЕРІЙ ТЕЛЯТ .....	99
<i>Палій А. П., Машкей А. М., Сумакова Н. В., Гонтарь В. В., Палій А. П.</i> ЗАСТОСУВАННЯ ІНСЕКТИЦИДІВ У ПРОМИСЛОВОМУ ТВАРИННИЦТВІ .....	102

**Люлін П. В.**  
ПОШИРЕННЯ ЕЙМЕРІОЗУ ГОЛУБІВ В УМОВАХ ІНДИВІДУАЛЬНИХ ГОСПОДАРСТВ  
СХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ..... 107

## **8. ІСТОРІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ НАУКИ**

**Богач М. В., Селіщева Н. В., Стегній Б. Т., Вовк Д. В., Унковська О. М.**  
ДО 100-РІЧЧЯ ДОКТОРА ВЕТЕРИНАРНИХ НАУК  
ІВАНА ТИМОФІЙОВИЧА НЕЧВАЛЯ — ДИРЕКТОРА ОДЕСЬКОЇ  
НАУКОВО-ДОСЛІДНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ СТАНЦІЇ (1970–1989 рр.)..... 110

**Стегній Б. Т., Головка В. О., Люлін П. В.**  
ДО 100-РІЧЧЯ ПРОФЕСОРА ІВАНА ОЛЕКСІЙОВИЧА КАЛАШНИКА —  
РЕКТОРА ХАРКІВСЬКОГО ЗООВЕТЕРИНАРНОГО ІНСТИТУТУ (1962–1970 рр.)..... 113



## CONTENTS

### 1. PROBLEMS OF BIOSAFETY AND BIOSECURITY. EMERGENT INFECTIONS

<i>Bilokonov I. I.</i> ON THE ORIGIN AND EVOLUTION OF <i>BACILLUS ANTHRACIS</i> .....	5
<i>Zavgorodniy A. I., Pozmogova S. A.</i> FORMATION OF RESISTANCE TO THE DISINFECTANT DRUG "DEZAKTIN" IN MYCOBACTERIA .....	11

### 2. VETERINARY VIROLOGY AND MICROBIOLOGY

<i>Martynenko H. A.</i> ANALYSIS AND FORECASTS OF <i>SALMONELLA</i> SPP. ANTIBIOTIC RESISTANCE IN DNIPROPETROVSK REGION (UKRAINE) .....	16
<i>Rudova N. G., Solodianskin O. S., Gerilovych A. P.</i> DETECTION OF GENETIC MATERIAL OF PORCINE CIRCOVIRUS TYPE II BY LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP) .....	20
<i>Stegniy B. T., Muzyka D. V., Tkachenko S. V., Rula O. M., Stegniy A. B., Kolesnyk O. S., Vovk S. I., Napnenko O. O.</i> COMMISSION TESTING OF THE TEST SYSTEM "A KIT FOR THE DETECTION OF ANTIBODIES TO NEWCASTLE DISEASE VIRUS IN HEMAGGLUTINATION INHIBITION TEST" .....	26

### 3. EPIZOOTOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

<i>Stegniy B. T., Zavgorodniy A. I., Gorbatenko S. K., Kornieikov O. M., Stegnyy M. Yu., Bolotin V. I., Gorlov Yu. I., Ganova L. O., Chumak O. M., Spivak M. Ya.</i> COMPARATIVE DIAGNOSTICS OF CATTLE LEUKEMIA BY ELISA METHOD IN TEST KITS OF VARIOUS CONSTRUCTIONS .....	32
<i>Korneikov O. M., Gorbatenko S. K., Zagorodniy A. I., Stegniy B. T., Mandyhra M. S.</i> CURRENT APPROACHES TO THE LIVESTOCK RECOVERY FROM CATTLE LEUKEMIA .....	37
<i>Zavgorodniy A. I., Pozmogova S. A., Goncharova N. V., Kalashnyk M. V., Bilushko V. V.</i> THE STUDY OF EPIZOOTIC SERA OBTAINED FROM RUMINANT ANIMALS IN COMPLEMENT FIXATION TEST (CFT) WITH THE USE OF PARATUBERCULOUS ANTIGEN .....	41
<i>Kornieikov O. M., Prokhoriatova O. V., Kolchik O. V., Oleshko A. Yu., Borodai N. I., Al Jabari Munir</i> THE EFFICIENCY OF DIFFERENT APPROACHES TO THE PREVENTION AND CONTROL OF BOVINE PNEUMOENTERITIS .....	46



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

**Sachuk R. M., Zhyhalyuk S. V., Lukyanik I. M.,  
Mandyhra M. S., Stravsky Ya. S., Katsaraba O. A.**  
RESEARCH OF ACUTE TOXICITY, ALLERGIZING AND LOCAL-  
IRRITATIVE ACTION OF THE VETERINARY DRUG “YODOZOL” .....54

**Sirenko O. S., Desyatnikova O. V., Gurieva V. B.**  
EFFECTIVENESS OF THE “GUANIDEZ” DISINFECTANT ON THE AGENTS  
OF BEE INFECTIOUS DISEASES IN LABORATORY CONDITIONS .....59

**Stegniy B. T., Drahut S. S., Kutsenko V. A., Ramazanova T. P.,  
Marchenko N. V., Obuchovska O. V., Bolotin V. I., Gorlov Yu. I.,  
Ganova L. O, Chumak O. M., Gorlov A. Yu., Spivak M. Ya.**  
COMPARATIVE RESEARCH OF DIAGNOSTIC EFFICIENCY OF ELISA TEST SYSTEMS  
OF DOMESTIC AND FOREIGN PRODUCTION FOR ANIMAL BRUCELLOSIS DIAGNOSTICS.....63

**Isichenko N. V., Litvin V. M., Dekhtyar I. I.**  
APPLICATION OF NEW DOMESTIC DISINFECTANTS FOR PREVENTION  
AND CONTROL OF THE SILKWORM INFECTIOUS DISEASES .....69

**Rodionova K. O., Paliy A. P.**  
ANALYSIS AND IDENTIFICATION OF HAZARDOUS FACTORS  
IN THE TECHNOLOGY OF MANUFACTURE OF RAW CURED SAUSAGES .....74

**5. BIOTECHNOLOGY**

**Pavlenko L. M., Stegnyy B. T., Didyk T. B., Pavlenko B. M.**  
THE RESULTS OF CRYOPRESERVATION OF BULL SPERM  
IN VEGETABLE FORTIFIER USING SORBENT .....81

**Rudoj O. V., Dzyuba Ya. M., Polupan I. M.**  
ACTIVITY OF ANTIRABIC ANTIBODIES IN BLOOD SERUM  
UNDER THE DIFFERENT STORAGE CONDITIONS .....84

**6. IMMUNOLOGY AND PATHOLOGY IN HUMAN AND VETERINARY MEDICINE**

**Kravchenko N. O., Kovalenko L. V., Rudenko O. P., Boiko V. S.**  
STATUS OF METABOLIC PROCESSES IN HORSES DURING SPRING PERIOD .....88

**Duda Yu. V., Prus M. P.**  
LEVELS OF PROTEINS AND IMMUNOGLOBULINS  
IN RABBIT BLOOD DURING PASSALUROSIS .....91

**Chornyj M. V.**  
STRESS STATE AND IMMUNOLOGICAL STATUS OF YOUNG PIGS .....95

**7. PARASITOLOGY**

**Bogach N. V., Skalchuk V. V., Kushak I. A.**  
INFLUENCE OF “BROVADEZ-PLUS” DISINFECTANT IN DIFFERENT  
CONCENTRATIONS ON EIMERIA OOCYSTS IN CALVES.....99

**Paliy A. P., Mashkey A. M., Sumakova N. V., Gontar V. V., Paliy A. P.**  
APPLICATION OF INSECTICIDES IN INDUSTRIAL ANIMAL BREEDING ..... 102

**Lyulin P. V.**  
SPREAD OF PIGEON EIMERIOSIS IN THE CONDITIONS OF  
INDIVIDUAL FARMS OF THE EASTERN REGION OF UKRAINE ..... 107

**8. HISTORY OF VETERINARY SCIENCE*****Bogach N. V., Selishcheva N. V., Stegny B. T., Vovk D. V., Unkovska O. M.***TO THE 100<sup>th</sup> ANNIVERSARY OF DOCTOR OF SCIENCES (VETERINARY  
MEDICINE) IVAN TYMOFIIIOVYCH NECHVAL — DIRECTOR OF THE ODESSA  
SCIENTIFIC-RESEARCH VETERINARY STATION (1970–1989) ..... 110***Stegny B. T., Golovko V. O., Lyulin P. V.***TO THE 100<sup>th</sup> ANNIVERSARY OF PROFESSOR IVAN OLEKSIYOVYCH KALASHNIK —  
RECTOR OF THE KHARKIV ZOOVETERINARY INSTITUTE (1962–1970)..... 113