

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ
ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО–КОНТРОЛЬНИЙ ІНСТИТУТ
БІОТЕХНОЛОГІЇ І ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КЛІЩОВА ЖАННА ЄВГЕНІЇВНА

УДК 619:616.34-008.314.4:614.916:636.5

ДИСЕРТАЦІЯ

**ОБҐРУНТУВАННЯ ІННОВАЦІЙ У ПРОФІЛАКТИЦІ ЗА ЕШЕРИХІОЗУ
ТА САЛЬМОНЕЛЬОЗУ ПТИЦІ**

16.00.03 – ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та
імунологія

Подається на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на
відповідне джерело _____

Науковий керівник:
Фотіна Тетяна Іванівна
доктор ветеринарних наук,
професор

СУМИ 2018

АНОТАЦІЯ

Клішова Ж. Є Обґрунтування інновацій у профілактиці за ешерихіозу та сальмонельозу птиці. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук (доктора філософії) за спеціальністю 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія». – Сумський національний аграрний університет, Суми, 2018.

В дисертаційній роботі науково обґрунтовано та експериментально доведено доцільність використання для профілактики ешерихіозу та сальмонельозу птиці цитратів Ag та Zn. Розроблена схема профілактичних заходів за умови з'ясування чутливості ізолюваних, потенційних збудників ешерихіозу та сальмонельозу птиці. Аргументовано перспективу застосування досліджених препаратів у технологіях промислового птахівництва.

Вивчаючи видовий спектр мікрофлори птахогосподарств північно-східного регіону України було ізолювано найбільший відсоток мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae* роду *Escherichia* – 34,0 % та *Salmonella* – 16,0 %. Решта (50%) виділених культур була представлена видами: *Pseudomonas aerogenosae* – 3 %, *Proteus spp* – 12%, *Klebsiella spp* – 6,5 %, *Citrobacter spp* – 9%, *Enterobacter spp* – 15 %, *Yersinia spp* – 12,5 %, *Campilobacter spp* – 5%, *Clostridium spp* – 2%, які є патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами. При серотипізації ешерихій та сальмонел за допомогою латексної аглютинації з використанням тест-системи *SPECTATE*[®] було виділено по 11 сероварів кожного виду.

До збудників кишкової палички були віднесені такі серотипи *E. coli*, як: O35, O157, O55, O78, O7, O1, O4, O9, O41, O8, O2.

До збудників сальмонельозу: *S. enteritidis*, *S. pullorum-gallinarum*, *S. typhimurium*, *S. anatum*, *S. london*, *S. infantis*, *S. bredeney*, *S. tsioque*, *S. jawa*, *S. montevideo*, *S. kentyki*.

Вивчаючи чутливість ізолюваних культур сальмонел та ешерихій до 32 антибактеріальних препаратів було встановлено, що ешерихії були чутливі до

13 антибіотиків (офлоксацин, гатіфлоксацин, левофлоксацин, пефлоксацин, левофлоксацин цефтіофур, флорфеніколь, «ТімТіл-250», «Бровасептол концентрат» амоксоцилін/клавуланат калію, імепенем, меропенем, неоміцин та стрептоміцин), слабочутливі – до 7 (егоцин 20, тобраміцин, амікацин окситетрациклін, хлортетрациклін, віброміцин, дексал), резистентними до 12 – з груп цефалоспоринів (цефтріаксон, цефіпім, цефотоксим, цефтазідін), пеніцилінів (амоксоциліну, карбеніцилін та ампіцилін), лінкозамідів (кліндаміцин та лінкоміцин) та частково до фторхінолонів (енрофлоксацину, моксіфлоксацину) та аміноглікозидів (гентаміцин).

Сальмонела – проявила чутливість 50\50, тобто до 13 препаратів (офлоксацин, гатіфлоксацин, пефлоксацин, моксіфлоксацин, левофлоксацин, гентаміцин, цефтіофур, флорфеніколь, «ТімТіл-250», «Бровасептол концентрат», амоксоцилін/клавуланат, імепенем та меропенем) була чутлива; до 6-ти препаратів (тобраміцин, амікацин, окситетрациклін, хлортетрациклін, віброміцин, дексал) – слабочутлива, і до 13 (енрофлоксацин, амоксоцилін, карбеніцилін, ампіцилін, цефтріаксон, цефотоксим, цефтазідін, цефепім, лінкоміцин, кліндаміцин, егоцину 20, неоміцин, амікацин) – резистентна. Отримані результати свідчать про мінливі властивості культур, які необхідно враховувати при використанні антибіотиків у птахівничих господарствах.

Саме тому нами було проведено дослідження бактерицидної дії нового препарату «Сарофлос» 10 % до збудників сальмонельозу, колібактеріозу, стерептококозу, стафілококозу, єрсиніозу, кампілобактеріозу, аспергильозу та синьогінійної палички, у порівнянні з «Енрофлоксацин 10 %», який останнім часом широко використовується з лікувально-профілактичною метою при бактеріальних інфекціях в тому числі при ешерихіозі та сальмонельозі. Для цього використовували метод двократних та десятикратних серійних розведень з визначенням максимальної та мінімальної інгібуючої концентрації. При визначенні мінімальної та максимальної інгібуючої концентрації препаратів «Сарофлос» та «Енрофлоксацин», встановлено широкий спектр бактерицидної дії 10 % сарофлоксацину гідрохлорид до 13 збудників бактеріальних

захворювань птиці, у максимальній та мінімальній концентрації 0,488 мг/см³ та 0,244 мг/см³, що у 2 рази менше на відмінну від дії «Енрофлоксацину» (0,976 та 0,499 мг/см³). Як альтернативу антибіотикам ми запропонували застосування цитратів Ag та Zn (хімічна формула $\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ та $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)$), які не поступаються антибіотикам та деяким хіміотерапевтичним засобам через їх бактерицидні та універсальні властивості поєднуватися з різними метаболітичними препаратами, які тільки посилюють їх ефект. Доведена терапевтична ефективність цитратів Ag та Zn в дозі 15 г/250 см³ води впродовж 5 днів за експериментального ешерихіозу, що дозволяє отримати 100 % збереженість курчат на відмінну від антибактеріальних препаратів (флорфеніколь і амоксоцилін клавуланат), де відсоток одужавших курчат становить 90 %.

Вивчаючи токсичність цитратів нами встановлено, що згідно ГОСТ 12.1.007–76 цитрати, Ag та Zn відносяться до IV класу малотоксичних речовин. Поєднання цитратів цинку та срібла з органічними кислотами яблучної, пропіонової та лимонної кислот дає можливість організму курчат протистояти бактеріальному впливу *S. pullorum-gallinarum*, в дозі 3:1:200 см³ води, що говорить про 100 % збереженість дослідних курчат.

Для усунення рециркуляції патогенної мікрофлори у приміщенні застосовували аерозольний метод дезінфекції 3% розчинами Ag та Zn. До застосування розчинів кількість бактеріальних збудників становила від 12,8±1,0 (*Enterobacter aerogenes*) до 138±5,6 (*Escherichia coli*). Після використання 3% розчину Ag кількість мікроорганізмів різко зменшувалася, а саме: ешерихій – в 10, сальмонел – у 19, ентеробактер – 6, стрептококів – 15, стафілококів – 24, протей – 13 разів. В той час, як за дії 3% Zn кількість мікроорганізмів знизилася у 9 разів, сальмонел – 13, ентеробактер – 4, стрептококів – 7, стафілококів – 16, протей – 6 разів.

До обробки інкубаційних яєць дез-розчинами показник бактеріальної забрудненості поверхні шкаралупи становив 400,18±31,1 КУО. Після обробки цитратами Ag через 24 год цей показник знизився на 72±7,8, 48 год на

117,57±12,17 КУО/см², 72 год на 145,76±14,05 КУО/см². Кількість виділених мікроорганізмів при аерозольній обробці 3 % розчином Zn кількість становили: через 24 год—83,18±14,0*** КУО/см², 48год – 124,9±11,6** КУО/см², 72 год – 146,67±21** КУО/см².

Аналізуючи отримані результати досліджень крові хворих курчат на ешерихіоз та сальмонельоз встановлено вірогідне підвищення показників крові (еритроцитів, лейкоцитів, еозинофілів, базофілів та моноцитів, у 2 рази) та зниження гематологічних (тромбоцитів, гемоглобіну, БАСК, ЛАСК,) і біохімічних (загального білку, глюкози та ферментативних показників АсАт і АлАт) показників, що підтверджують розвиток запального процесу спричиненого збудниками колібактеріозу (*E.coli*) та сальмонельозу (*S. pullorum-gallinarum*), що пригнічують захисні сили організму.

Але після застосування іонів цитратів Zn та Ag хворим курчатам на ешерихіоз спостерігали зниження кількості еритроцитів на $2,32 \times 10^{12}/л$ та $2,29 \times 10^{12}/л$ ($4,05 \pm 0,65^{**}$, $P < 0,01$); лейкоцитів на 50,4 % (Zn) та на 53,7 % (Ag) ($61,30 \pm 6,80$; $P < 0,05$); еозинофілів на 50,9 % (Ag) та на 33,8 % (Zn) ($6,42 \pm 1,58$; $P < 0,01$); моноцитів на 42,5 % та на 42,8 % ($6,96 \pm 0,19\%$).

Рівень лімфоцитів був нижчим на 63,0 % (Zn) та на 75,6 % (Ag) відповідно до контролю ($58,12 \pm 1,15$; $P < 0,001$). Аналогічне зниження базофілів спостерігали за дії Zn на 46,4 % ($3,00 \pm 0,10\%$) та 47,1 % ($2,96 \pm 0,24\%$) за дії Ag відповідно до контролю ($5,60 \pm 0,78\%$; $P < 0,05$).

Використання іонів цитратів Zn та Ag сприяло вірогідному підвищенню БАСК на $61,73 \pm 1,73\%$ та на $62,50 \pm 2,01\%$ ($25,38 \pm 2,01$; $P < 0,01$). Стосовно ЛАСК вона також вища за контроль ($5,25 \pm 0,42$) на $27,8 \pm 0,05$ та на $26,2 \pm 0,12\%$ відповідно.

При сальмонельозі курчат нормалізацію кількості еритроцитів та лейкоцитів спостерігали під час поєднання іонів цитратів Ag та Zn з органічними кислотами (3:1:200 см³води). Так, кількість еритроцитів Zn+K становила $1,45 \times 10^{12}/л$ та $1,50 \times 10^{12}/л$ (Ag+K), що на $2,30 \times 10^{12}/л$ та $2,25 \times 10^{12}/л$ була нижчою за контроль ($3,75 \pm 0,59$; $P < 0,01$).

Рівень лейкоцитів знизився у 2 рази відповідно до контролю ($62,24 \pm 1,40$; $P < 0,05$) до $38,41 \times 10^9/\text{л}$ та $30,04 \times 10^9/\text{л}$.

Рівень моноцитів аналогічно був нижчий за контроль ($6,57 \pm 0,58\%$) на 27,7 % і 46,7 % ($4,75 \pm 0,26\%$ –Zn+K та $3,50 \pm 0,58\%$ –Ag+K). Також нижча за контроль ($6,40 \pm 1,62$; $P < 0,01$) була і кількість еозинофілів – на 51% та 46 % ($3,13 \pm 0,31\%$ і $3,45 \pm 0,28\%$). Лімфоцити – на 71,5% ($17,13 \pm 0,29\%$) та 70,1 % ($18,00 \pm 1,58\%$) нижче за контроль ($60,23 \pm 2,14\%$; $P < 0,01$).

Стосовно показника БАСК – спостерігали її підвищення на $59,70 \pm 1,11\%$ (Zn+K) та $60,82 \pm 1,07\%$ (Ag+K) у порівнянні з контролем ($26,40 \pm 0,62\%$). ЛАСК становила $25,8 \pm 0,52\%$ та $26,2 \pm 0,12\%$, що була вища за контроль ($5,49 \pm 0,05$; $P < 0,001$) на 74,2% та 73,8 % відповідно.

Рівень біохімічних показників після лікування даними препаратами суттєво змінився в бік нормалізації фізіологічної норми метаболічних та ферментативних показників білка, білкових фракцій (α - β - γ глобулінів), глюкози, сечової кислоти, АсАТ та АлАТ.

В сироватці крові контрольної та дослідної птиці після задавання препаратів упродовж експерименту вміст загального білку підвищився в цілому за ешерихіозу на $30,60 \pm 0,1$ ($30,61 \pm 0,20$) г/л, за сальмонельозу - $33,12 \pm 1,02$ г/л та $32,42 \pm 1,78$ г/л, та незалежно від препаратів Ag та Zn (Zn+K та Ag+K) змінювався тільки на 1 або 2 одиниці в цілому, що складає 69,4% та 69,3%, 27,1% та 67,58 % в порівнянні з контролем ($25,81 \pm 0,55$; $26,05 \pm 0,14$ г/л; $P < 0,001$) відповідно.

На підставі отриманих результатів, можна вважати, що зниження показників еритроцитів та лейкоцитів зумовлено ефективною дією застосовуваних препаратів Ag та Zn, (Zn+K та Ag+K), що вказує на відсутність негативної дії препаратів та зменшення запалення в організмі хворих курчат на ешерихіоз та сальмонельоз.

Таким чином, при оздоровленні птахогосподарства від бактеріальних хвороб птиці було встановлено, що при комплексному застосуванні препаратів у вигляді розчинів Ag– 3 %, Zn – 3 % та цитратів Ag та Zn кількість патогенної

мікрофлори зменшується, як в навколишньому середовищі пташника від 4 до 24 разів, так і в організмі самої птиці від 10 до 26 разів залежно від виду мікроорганізмів (*Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*). За використання цитрату срібла відсоток збереження поголів'я становить 95,9%, за використання цитрату цинку 96,6%.

Встановлено, що новий експериментальний препарат «Сарофлор» проявив високу терапевтичну ефективність (100 %) при застосуванні під час перебігу ешерихіозу та сальмонельозу та значну профілактичну здатність при попередній корекційній обробці курчат. Крім того, застосування препарату підвищує живу масу бройлерів у 36-денному віці на 9,3%, а збереженість – на 1,4%.

Наукова новизна одержаних результатів.

Уперше науково-експериментально обґрунтовано та впроваджено у птахівництво для профілактики ешерихіозу та сальмонельозу птиці цитрати Ag та Zn у дозі 15 г на 250см³ води. Результатом ефективності цих препаратів є те, що вони не пригнічують нормальну мікрофлору кишечника та не призводять до перехресної антибіотикорезистентності циркулюючої мікрофлори. Не накопичуються в навколишньому середовищі та продукції птахівництва. Був застосований один із способів поєднання цитратів з органічними кислотами (яблучної, лимонної та пропіонової) у співвідношенні 3:1:200 см³ води для профілактики сальмонельозу курей. Вивчено їх токсичну дію, встановлено бактерицидну властивість цитратів Ag та Zn, як при дезінфекційній обробці яєць, так при пероральному задаванні з питною водою. Було встановлено, що цитрат Ag володіє бактерицидними властивостями до більшості культур: *Escherichia coli* O2, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*. Розчин із вмістом Zn ефективний тільки по відношенню до *E. coli* та *St. epidermidis*. Описано вплив цитратів Ag та Zn на гематологічні показники крові курчат, які не призводять до зрушень поза межі фізіологічних параметрів

Доведена ефективність антибактеріального засобу «Сарофлор» при застосуванні під час перебігу ешерихіозу та сальмонельозу та встановлено його значну профілактичну здатність при попередній корекційній обробці курчат для впровадження у схеми комплексного лікування.

Наукова новизна досліджень підтверджена Патентом України на корисну модель № 113243 від 25.01. 2017, Бюл. № 2.

Ключові слова: ешерихіоз, сальмонельоз, профілактика, *Escherichia coli*, *Salmonella*, цитрат Ag, цитрат Zn, органічні кислоти, терапевтична ефективність, резистентність, чутливість, «Сарофлор»

ABSTRACT

Klishova Zh. E. Substantiation of innovations in prevention of treatment of poultry diseases: escherichia colitis and salmonellosis. - Qualifying scientific work published in manuscript form.

The dissertation for the degree of the candidate of veterinary sciences (PhD) in specialty 16.00.03: «Veterinary Microbiology, epizootiology, infectious diseases and immunology» - Sumy National Agrarian University, Sumy, 2018.

In the dissertation work the feasibility of using Ag and Zn citrates for the prevention of such poultry diseases as E. coli and salmonellosis are scientifically substantiated and experimentally proved. The developed scheme of preventive measures based on condition of sensitivity of isolated, potential causative agents of poultry escherichia and salmonellosis. The perspective of the use of investigated treatment in industrial poultry technology had been substantiated.

While studying the species spectrum of the microflora of poultry farms in the northeastern region of Ukraine, it had been found that the highest percentage of microorganisms of the family *Enterobacteriaceae* of the genus *Escherichia* - 34,0 % and *Salmonella* – 16,0 % were isolated, the remaining 50 % of the isolates of *Pseudomonas. aerogenosa* – 3 %, *Proteus spp.* – 12 %, *Klebsiella spp.* - 6.5 %, *Citrobacter spp.* – 9 %, *Enterobacter spp.* – 15 %, *Yersinia spp.* – 12.5 %, *Campilobacter spp.* – 5 %, *Clostridium spp.* – 2 % are pathogenic and conditionally

pathogenic microorganisms. With serotyping of *escherichiae* and *salmonella* with latex agglutination using SPECTATE® test system 11 serovars of each species were identified.

Serotypes such as O35, O157, O55, O78, O7, O1, O4, O9, O41, O8, O2 were referred to *E. coli*.

Salmonella is as follows: *S. enteritidis*, *S. pullorum-gallinarum*, *S. typhimurium*, *S. anatum*, *S. london*, *S. infantis*, *S. bredeney*, *S. tsioque*, *S. jawa*, *S. montevideo*, *S. kentyki*.

Studying the sensitivity of isolated cultures of salmonella and escherichia to 26 antibacterial agents, it was found that escherichia were susceptible to 13 antibiotics (ofloxacin, gatifloxacin, levofloxacin, enroxyl, ceftiocour, florfenicol, carbenicillin, ampicillin, chloramphenicol, «TimTil-250», «Brovaseptool concentrate», imepenem and meropenem), weakly sensitive to 2 (egocin 20 and ceftiocour), resistant to cephalosporins of 11 groups (ceftriaxone, cefipim, cefotaxime, ceftazidime), penicillins (amococillinum, amikacin, gentamicin) and partly fluoride Olona (enrofloxacin, moxifloxacin, pefloxacin).

Salmonella showed a sensitivity of 50/50, that is, up to 12 drugs (ofloxacin, gatifloxacin, levofloxacin, enroxyl, ceftiokur, florfenicol, carbenicillin, ampicillin, «TimTil-250», «Brovaseptol concentrate», imepene and meropenem) were up to 2 drugs (chloramphenicol and colistinum) is weakly sensitive and up to 12 (enrofloxacin, moxifloxacin, amoxicillin, ampicillin, amikacin, ceftriaxone, cefatoxime, ceftazidime, cefepime, ceftiokur, clindamycin) are resistant, indicating the changing properties of cultures to most newly used antibiotics today.

Therefore, in search of an alternative to antibiotics, we have proposed the use of citrate ions Ag and Zn, which are not inferior to antibiotics and some chemotherapeutic agents because of their bactericidal and universal properties combined with various metabolic drugs that only enhance their effect. The therapeutic efficacy of Ag and Zn and Zn in the dose of 15 g / 250 ml of water during 5 days of experimental escherichia has been shown to allow 100% chicken

preservation to be different from antibacterial drugs (florfenicol and amoxicillin clavulanate), where the percentage of recovered chickens is 90%.

By studying the toxicity of citrate ions, it has been established that, according to GOST 12.1.007-76, of citrates Ag and Zn belong to the IV class of low-toxic substances. The combination of zinc citrate and silver ions with organic acids of apple, propionic and citric acids enables the chicken body to withstand the bacterial action of *S. pullorum-gallinarum*, at a dose of Zn ml of water, indicating a 100% safety of the experimental chickens.

To eliminate the pathogenic microflora recirculation in the room, an aerosol disinfection method was used with 3% solutions of Ag and Zn. Prior to the application of solutions, the amount of bacterial pathogens was 12.8 ± 1.0 (*Enterobacter aerogenes*) to 138 ± 5.6 (*Escherichia coli*) after using 3% solution of Ag, the amount of microorganisms sharply decreases, namely: *Escherichia* - 10 times, *salmonella* - 19 times, *enterobacter* - 6 times, *streptococci* - 15, *staphylococcus* - 24, *protia* - 13, and in the action of 3% Zn^{3+} ($C_6H_5O_7^{3-}$). The number of microorganisms decreased - 9 times, *salmonella* - 13 times, *enterobacter* in - 4 times, *streptococcus* - in - 7, *staphylococcus* - in -16, *protius* - in - 6 times.

As regards the treatment of hatching eggs, the bacterial contamination index of the shell surface was 400.18 ± 31.1 CFU, then after treatment with $3Ag + C_6H_5O_7^{3-}$ ions in 24 hours, the bacterial contamination index of the shell surface of the incubation eggs decreased by $72 \pm 7,8$ CFU / cm^2 , after 48 hours - $117,57 \pm 12,17$ CFU / cm^2 , after 72 hours - 145.76 ± 14.05 CFU / cm^2 . The number of isolated microorganisms in aerosol treatment with $3Zn^{2+} + 2C_6H_5O_7^{3-}$ ions was set to 24 hours- $83,18 \pm 14.0^{***}$ CFU / cm^2 , 48 hours - $124,9 \pm 11,6^{**}$ CFU / cm^2 , 72 hours - $146,67 \pm 21^{**}$ CFU / cm^2 .

Analyzing the obtained results of researches of the sick chickens blood to *escherichia coli* and salmonellosis, a probable increase (erythrocytes, leukocytes, eosinophils, basophils and monocytes, 2 times) and reduction of hematological (platelets, hemoglobin, BASK, LASK) and biochemical (total protein, glucose and enzymatic parameters of AsAt and AlAT), which confirm the development of the

inflammatory process caused by the causative agents of colibacteriosis (*E. coli*) and salmonellosis (*S. pullorum-gallinarum*), which inhibit the body's defenses.

However, after application of Zn and Ag citrates, chickens suffering from escherichia colitis decreased the amount of erythrocytes by $2,32 \times 10^{12} / l$ and $2,29 \times 10^{12} / l$ ($4,05 \pm 0,65$; $P < 0,01$); leukocytes by 50,4% (Zn) and 53,7% (Ag) ($61,30 \pm 6,80$; $P < 0,05$); eosinophils by 50,9% (Ag) and 33,8% (Zn) ($6,42 \pm 1,58$; $P < 0,01$); monocytes by 42,5% and 42,8% ($6,96 \pm 0,19\%$).

The level of lymphocytes was lower by 63,0% (Zn) and 75,6% (Ag), according to control ($58,12 \pm 1,15$; $P < 0,001$). A similar decrease in basophils was observed for the action of Zn by 46,4% ($3,00 \pm 0,10\%$) and 47,1% ($2,96 \pm 0,24\%$) by the action of Ag according to control ($5,60 \pm 0,78\%$; $P < 0,05$).

The use of Zn and Ag ions contributed to a likely increase in BASK by $61,73 \pm 1,73\%$ and by $62,50 \pm 2,01\%$ ($25,38 \pm 2,01$; $P < 0,01$). In the case of LASK, it is also higher than control (5.25 ± 0.42) by 27.8 ± 0.05 and $26.2 \pm 0.12\%$ respectively.

The normalization of the number of red blood cells and leukocytes of salmonella infected chickens was observed during the combination of ions of citrate Ag and Zn with organic acids. Thus, the number of erythrocytes Zn + K was $1,45 \times 10^{12} / l$ and $1,50 \times 10^{12} / l$ (Ag + K), which was $2,30 \times 10^{12} / l$ and $2,25 \times 10^{12} / l$ was lower than control ($3,75 \pm 0,59$; $P < 0,01$).

The level of leukocytes decreased by 2 times according to control ($62,24 \pm 1,40$; $P < 0,05$) to $38,41 \times 10^9 / l$ and $30,04 \times 10^9 / l$.

The level of monocytes was similarly lower than control ($6,57 \pm 0,58\%$) by 27,7% and 46,7% ($4,75 \pm 0,26\%$ - Zn + K and $3,50 \pm 0,58\%$ Ag + K). Also, the number of eosinophils was 51% and 46% ($3,13 \pm 0,31\%$ and $3,45 \pm 0,28\%$), lower than control ($6,40 \pm 1,62$; $P < 0,01$). Lymphocytes were 71,5% ($17,13 \pm 0,29\%$) and 70,1% ($18,00 \pm 1,58\%$) below control ($60,23 \pm 2,14\%$; $P < 0,01$)

In the case of BAS was observed the increasing by $59,70 \pm 1,11\%$ (Zn + K) and $60,82 \pm 1,07\%$ (Ag + K) compared to control ($26,40 \pm 0,62\%$). LASK was $25.8 \pm 0,52\%$ and $26.2 \pm 0.12\%$, which was higher in comparison to control ($5,49 \pm 0.05$; $P < 0.001$) by 74,2% and 73.8% respectively.

The level of biochemical parameters after treatment with these drugs significantly changed the direction of normalizing of physiological norm of metabolic and enzymatic parameters of protein, protein fractions (α - β - γ globulins), glucose, uric acid, AsAT and ALAT.

In the serum of control and experimental poultry blood after the prescribing of drugs during the experiment, the total protein content increased as a result of escherichia colitis by $30,60 \pm 0,1$ ($30,61 \pm 0,20$) g / l, with salmonellosis - $33,12 \pm 1,02$ g / l and $32,42 \pm 1,78$ g / l, and independently of the preparations Ag and Zn (Zn + K and Ag + K) only changed 1 or 2 units as a whole, which is 69,4% and 69,3 %, 27,1 % and 67,58 % compared with control ($25,81 \pm 0,55$, $26,05 \pm 0,14$ g/l, $P < 0.001$), respectively.

Based on the obtained results, it can be assumed that the decrease of red blood cells and leukocytes is due to the effective action of the drugs Ag and Zn (Zn + K and Ag + K), which indicates the absence of adverse effects of drugs and the reduction of inflammation in the diseased chickens on escherichia coli and salmonella

Thus, in the improvement of poultry farming from bacterial diseases of poultry, it was established that in the complex application of preparations in the form of ionic solutions $\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 - 3\%$, $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2 - 3\%$ and citrate ions $3\text{Ag} + \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ and $3\text{Zn}^{2+} + 2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ the amount of pathogenic microflora decreases as in the environment of the poultry house from 4 to 24 times and in the body itself of the bird 10 to 26 times depending on the type of microorganisms (Escherichia coli and Staphylococcus aureus). With the use of ions of citrate silver, the percentage of conservation of the stock is 95.9%, for the use of zinc citrate ions 96.6%.

It was established that the new experimental drug «Saraflox» showed high therapeutic efficacy (100%) when used during the course of escherichia and salmonellosis and a significant prophylactic capacity for the previous correction treatment of chickens. In addition, the use of the drug increases the live weight of the 36 days old broilers to 9.3%, preservation – to 1.4%.

Scientific novelty of the obtained results.

For the first time scientifically-experimentally grounded and implemented to the poultry farming using of ions citrate $\text{AgC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ and $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)$ for prevention of poultry escherichia and salmonellosis in a dose of 15 g to 250 cm³ of water. The result of the effectiveness of these drugs is that they did not inhibit normal intestinal microflora and did not lead to – antibiotic resistance of the circulating microflora. It does not accumulate in the environment and poultry products. One of the methods of combining ions of citrates with organic acids (apple, lemon and propionic) in a ratio of 3: 1: 200 cm³ of water for the prevention of chicken salmonellosis. Their toxic effect had studied by the bactericidal property of citrate ions $\text{Ag C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ and $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)$ – was established as in the case of disinfection treatment of eggs in the case of oral intake with drinking water. Was found that silver citrate has bactericidal properties in most cultures: *Escherichia coli* O2, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*. A solution containing Zn is effective only for *E. soli* and *St. epidermis* The influence of ions citrate $\text{Ag C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ – and $\text{Zn}_3(2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)$ – on hematological parameters of chickens blood did not lead to the shifts beyond the limits of described physiological parameters.

The effectiveness of the anti-bacterial agent "Saroflox" has been proved after applying of it during the course of escherichia and salmonellosis development and its significant prevention capacity had established with the prior correction of chickens treatment for introduction into the scheme of integrated treatment.

The scientific novelty of the researches is confirmed by the Ukrainian Patent to utility model No. 113243 dated 25.01. 2017, Bull. 2.

Key words: escherichia coli, salmonella, citrate Ag, citrate Zn, organic acids, therapeutic efficacy, resistance, sensitivity, «Saroflox»

СПИСОК ПРАЦЬ, У ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Фотіна, Т. І. та Кліщова, Ж. Є. (2016) Профілактика ешерихіозу птиці за допомогою цитратів. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної*

медицини, серія «Ветеринарні науки», 33(2), 118–121. (Дисертант виконала експерименти).

2. **Кліщова, Ж.Є.** (2017) Застосування іонів цитратів як альтернатива при сальмонельозі птахів. *Міжвідомчий тематичний науковий збірник ІЕКВМ. Ветеринарна медицина*, 103, 339–342.

3. **Кліщова, Ж.Є.** (2017). Експериментальне дослідження резистентності до антибактеріальних засобів «Сарофлос» та «Енрофлосацин» виділеної мікрофлори пташників північно-східного регіону України. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і інституту біології тварин*, Львів, 18 (2), 234–239.

4. Фотіна, Т. І. та **Кліщова, Ж. Є.** (2018) Моніторинг сальмонельозної інфекції птиці. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і інституту біології тварин*, Львів, 19 (1), 136–141. (Дисертант виконала експериментальну частину роботи та брала участь в оформленні матеріалів).

5. **Кліщова, Ж. Є.** та Фотін, О. В (2018) Вивчення експериментальної ефективності антибактеріального засобу «Сарофлос» за ешерихіозу та сальмонельозу курей. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Ветеринарна медицина»*, 1 (42), 175– 177. (Дисертант провела експерименти).

6. Фотіна, Т. І., Сторчак, Ю. Г. та **Кліщова Ж. Є** (2017) Поєднання іонів цитратів з органічними кислотами та їх вплив на фізіологічні показники курей. *Вісник Сумського національного аграрного університету Серія «Ветеринарна медицина»*, 11 (41), 43–46. (Дисертант виконала експериментальну частину роботи).

Наукові праці, опубліковані в фахових наукових виданнях інших

держав:

7. **Клищева, Ж. Е** (2016). Чувствительность возбудителей бактериальных болезней птицы к антибактериальным препаратам. *Научные труды ветеринарного научно–исследовательского института*, Баку, 34, 287–291.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

Патент України на корисну модель

8. Фотіна, Т. І., та **Кліщова, Ж. Є** Заявник і патентовласник Сумський НАУ (2016). Патент на корисну модель № 113243, Україна МПК (2006.01) и 201606119 *Спосіб профілактики ешерихіозу птиці за допомогою цитратів*. заявл. 06.06.2016; опубл. 25.01.2017, Бюл. № 2. (Здобувач брала участь у дослідженнях, розробці принципу корисної моделі, у підготовці матеріалів до патентування).

Методичні рекомендації:

9. Фотіна, Т. І., Старосельська, А. Л. та **Кліщова, Ж. Є** (2017). Методичні рекомендації щодо експрес-аналізу продуктів харчування на бактеріальну забрудненість за допомогою тест-систем *Rida®Stamp та Compact Dry*. Суми, Сумський НАУ. (Здобувач підготувала та оформила матеріали для методичних рекомендацій).

Тези і матеріали конференцій

10. Фотіна, А. А., **Клищева, Ж. Е.** та Фотин, А. В (2016) Ассоциированное течение эшерихиоза и эймериоза. *Материалы V научно–практической конференции Международной ассоциации паразитологов, Витебск ВГАВМ 184* (Дисертант виконала експериментальні дослідження).

11. **Кліщова, Ж. Є.** (2016). Чутливість збудників бактеріальних хвороб птиці до антибактеріальних препаратів. *Тези науково–практичної конференції викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ.*(20–21 квітня 2016 р.), Т. 2, 136.

12. **Кліщова, Ж. Є.**(2017). Проблема резистентності мікроорганізмів до антибіотиків. *Матеріали щорічної науково–практичної конференції молодих вчених: «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин», присвячена 40–річчю заснування Інституту ветеринарної медицини НААН* (м Київ 22 червня 2017р), 37.

13. **Клищева, Ж. Е.** (2017). Применения ионов цитратов при сальмонеллезе птиц для повышения резистентности организма стада. *Материалы Международной научно–практической конференции молодых ученых: молодежь и инновации* (г. Горки, 1–3 июня 2017 г), БГСХА, 120

14. **Кліщова, Ж. Є.** (2017). Вплив іонів цитратів на показники крові курей *Міжнародна науково-практична конференція: «Епізоотологія, здоров'я та добробут тварин. Виклики сучасності* (НМЦ «Агроосвіта» м. Київ 12 вересня 2017 року), 153

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- Zn – цинк
- Zn+K–цинк разом з органічними кислотами
- Ag+K–срібло разом з органічними кислотами
- БГКП–бактерії групи кишкової палички
- ЕПКП– Ентеропагогенні кишкові палички
- КУО – колонієутворююча одиниця – бактеріальна клітина або частина гриба, що здатні утворювати на поживному середовищі окрему колонію;
- ЛД₅₀(DL₅₀) – середньо летальна доза;
- МПА – м'ясо-пептонний агар;
- МПБ – м'ясо-пептонний бульйон;
- ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція;
- НВФ – науково виробнича фірма;
- СОІКЛ – сумська обласна інфекційна клінічна лікарня
- МОЗ – міністерство охорони здоров'я
- МЕБ – міжнародне епізоотичне бюро
- ВООЗ – всесвітня організація охорони здоров'я
- Ag – срібло
- КПА – карбоксипептидаза
- АТФ-аденозинтрифосфорна кислота
- Ag₃C₆H₅O₇ –цитрат срібла
- Zn₃ (C₆H₅O₇) – цитрат цинку

ЗМІСТ

	стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	
ВСТУП	20
РОЗДІЛ 1	27
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1.1 Поширення ешерихіозу і сальмонельозу птиці в Україні	27
1.2 Обґрунтування комплексних заходів профілактики бактеріальних хвороб птиці.	31
1.3 Аналіз резистентності мікроорганізмів до антибактеріальних засобів які застосовуються з профілактичною метою за бактеріальних хвороб птиці	41
1.4 Антимікробні властивості та хіміотерапевтична активність наноаквахелатів та нанометалів	45
1.5 Висновок з огляду літератури та вибір напрямку досліджень	58
РОЗДІЛ 2	
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	59
РОЗДІЛ 3	80
РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	
3.1 Епізоотичний моніторинг бактеріальних хвороб в Україні	80
3.2 Вивчення біологічних властивостей ешерихій та сальмонел	84
3.2.1 Вивчення патогенних властивостей виділених ешерихій та сальмонел	92
3.2.2 Вивчення чутливості виділених культур <i>Escherichia</i> і <i>Salmonella</i> до антибактеріальних засобів	96
3.3 Фізико-хімічні властивості іонів цитратів	105
3.3.1 Визначення бактерицидних властивостей цитратів $Ag_3C_6H_5O_7$ та $Zn_3(C_6H_5O_7)$.	106
3.3.2 Визначення токсичності цитратів $Ag_3C_6H_5O_7$ та $Zn_3(C_6H_5O_7)$ на дослідних щурах	109
3.4 Вивчення терапевтичної ефективності цитратів Ag та Zn за експериментального ешерихіозу та сальмонельозу птиці	118
3.4.1 Вплив іонів цитратів $Ag_3C_6H_5O_7$ та $Zn_3(C_6H_5O_7)$ на гематологічні показники крові курей	123

- 3.5 Вивчення ефективності антибактеріального засобу широкого спектру дії «Сарофлор» для лікування ешерихіозу та сальмонельозу птиці 132
- 3.6 Обґрунтування перспективи застосування профілактичного комплексу за ешерихіозу та сальмонельозу в умовах виробництва. 137

РОЗДІЛ 4 143

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

ВИСНОВКИ 155

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ 157

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 158

ДОДАТКИ

ВСТУП

Актуальність теми. Здоров'я нації та економічне процвітання країни у більшій мірі залежить від забезпечення населення якісними продуктами харчування, у тому числі й за рахунок продукції птахівництва. Тому виробництво продукції птахівництва має велике значення в забезпеченні продовольчої безпеки країни, і вважається одним з найперспективніших напрямів діяльності галузі тваринництва не лише в Україні, а і в усьому світі [1,13]. Тим паче якщо, воно в нашій країні розвивається стрімкими та високими темпами. Важливими напрямками інтенсифікації даної галузі, підвищення ефективності використання виробничого потенціалу є вдосконалення типів і структур птахівничих підприємств та об'єднань на основі спеціалізації і концентрації, розвиток фермерських господарств різного технологічного напрямлення, впровадження наукової організації праці.

Неодмінна вимога до птахівницьких підприємств – їх висока економічність, що можливо лише в тому випадку, коли пташники укомплектовані здоровим поголів'ям і створені оптимальні умови утримання й використання птиці [2].

Але циркуляція умовно-патогенної мікрофлори, і її рециркуляція серед поголів'я птиці є однією із особливостей бактеріальних хвороб. На даний час в птахогосподарствах поширений ешерихіоз та сальмонельоз. Збудники даних хвороб є постійні мешканці шлунково-кишкового тракту здорової птиці. У навколишньому середовищі патогенні штами ешерихій та сальмонел можуть зберігати свою життєдіяльність до чотирьох місяців. У яйці збудник ешерихіозу зберігається протягом усього періоду інкубації [2]. Тому, для розвитку вітчизняного виробництва продукції птахівництва є обов'язковим зменшенням ризиків втрати власних ринків та забезпечення сталого експорту продукції за кордон, першочерговим завданням є підвищення конкурентоспроможності підприємств та проведення вітчизняного виробництва у відповідність до стандартів ЄС [1].

Тому, для лікування даних хвороб використовують низку антибактеріальних препаратів, які пригнічують не лише патогенну, а й корисну мікрофлору кишечника, що веде до появи резистентних до антибіотиків штамів мікроорганізмів, які накопичуються у органах і тканинах тварин та птиці [3–4]. Тому особливої актуальності на сьогоднішній день набуло використання цитратів, як нових інгредієнтів кормових добавок, що застосовуються у птахівництві. Поєднання неорганічних складових (металів) з амінокислотами дало змогу створити принципово нові хімічні сполуки, які за механізмом дії та за своїми фізико-хімічними характеристиками значно відрізняються від традиційно застосовуваних добавок у годівлі птиці. З суто хімічної точки зору, хелати складаються з атома металу (наприклад Zn, Cu, Fe, Mg, Mn тощо), що є комплексоутворювачами, та відповідних лігандів, якими є амінокислоти. Взаємодія іонів металів з амінокислотами полягає у координації через аміно – та карбоксильну групу. Прості ди–, три– та тетрапептиди утворюють комплекси з іонами перехідних металів. Найбільш характерним прикладом взаємодії металу та пептиду є металофермент карбоксипептидаза (КПА), що містить іон Zn^{2+} і близько 300 амінокислотних залишків, де Zn^{2+} зв'язується з двома імідазольними групами гістидинових залишків та карбоксильною групою залишку глютамінової кислоти. За допомогою ряду експериментів доведено, що Zn є обов'язковим компонентом багатьох ферментних систем, необхідних для росту, розвитку і розмноження тварин [5, 6]. Mg важливий чинник у процесах мембранного транспорту. Зв'язуючись з клітинними, мітохондріальними та іншими мембранами, магній регулює їх проникність для багатьох іонів. Особливе значення іони Mg мають для підтримки трансмембранного потенціалу. Активуючи Mg залежну K^{+}/Na^{+} -АТФ вони визначають роботу K^{+}/Na^{+} -насоса, підтримуючого баланс (калію) K всередині клітини і в міжклітинному просторі, забезпечуючи таким чином поляризацію мембрани і сприяючи її стабільності. Доведена участь Mg в передачі нервових імпульсів, забезпеченні нервово-м'язової провідності [7]. Біохімічна функція Mn проявляється в тканинному диханні, окисно-відновних процесах,

кісткоутворення, кровотворенні та підвищенні активності ферментів і гормонів. Відомо, що марганець бере участь в синтезі вітаміну Е і нікотинової кислоти, в білковому, жировому і вуглеводному обмінах, стимулює біосинтез вітаміну С і впливає на використання вітаміну В1, на ріст і продуктивність тварин [8]. Ag розглядається не просто як метал, здатний вбивати мікроби, а й, як мікроелемент, що є необхідною і постійною складовою частиною тканин будь-якого тваринного і рослинного організму. Іони Ag беруть участь в обмінних процесах організму. Ag є ефективним проти 650 видів бактерій, і не призводить до стійкості, на відміну від всіх антибіотиків [9,10,11, 12,]

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Матеріали дисертаційної роботи є фрагментом наукових досліджень кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету. Робота виконана відповідно до наукової тематики кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського НАУ в рамках теми: «Система моніторингу методів контролю та ветеринарно-санітарних заходів щодо якості й безпеки продукції тваринництва при хворобах заразної етіології» (номер державної реєстрації 0114U005551, 2015–2018).

Мета і задачі дослідження. Метою досліджень було обґрунтувати комплекс заходів щодо профілактики ешерихіозу та сальмонельозу птиці.

Для досягнення поставленої мети необхідно було виконати такі завдання:

1. Провести епізоотологічний моніторинг бактеріальних хвороб птиці в птахогосподарствах Північно-Східного регіону України;
2. Вивчити видовий спектр циркулюючої мікрофлори птахогосподарств України, ізольованої з повітряного середовища, технологічного обладнання пташників та залів інкубаторію, ембріонів – задохликів, посліду, трупів, продуктів птахівництва та визначити її чутливість до антибактеріальних препаратів;

3. Вивчити бактерицидні властивості цитратів Ag та Zn (хімічна формула $\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ та $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$), експериментально встановити їх безпечність для обґрунтованого застосування у птахівництві з метою профілактики ешерихіозу та сальмонельозу;
4. Дослідити терапевтичну ефективність цитратів Ag та Zn за експериментального ешерихіозу та сальмонельозу;
5. Вивчити вплив іонів цитратів Ag та Zn на гематологічні показники крові курей;
6. Встановити ефективність застосування цитратів з профілактичною метою за ешерихіозу та сальмонельозу в умовах птахогосподарства;
7. Вивчити ефективність антибактеріального засобу широкого спектру дії «Сарофлор» для включення його до комплексної лікувально-профілактичної схеми за ешерихіозу та сальмонельозу птиці.

Об'єкт дослідження: хвороби сільськогосподарської птиці, що спричинені бактеріальною мікрофлорою.

Предмет дослідження – ізолювана мікрофлора з повітряного середовища, технологічного обладнання пташників в залах інкубаторію, ембріонів-задохликів, посліду, трупів, продуктів птахівництва та приміщень, де утримується птиця різних вікових груп; антибіотикорезистентність сероварів *Escherichia* та *Salmonella* до більшості застосованих антибактеріальних засобів.

Методи дослідження: епізоотологічні, клінічні, мікроскопічні, мікробіологічні, фізико-хімічні, гематологічні, токсикологічні та статистичні.

Наукова новизна роботи.

Уперше науково-експериментально обґрунтовано та впроваджено у птахівництво для профілактики ешерихіозу та сальмонельозу птиці цитрати Ag та Zn у дозі 15 г на 250 см³ води. Результатом ефективності цих препаратів є те, що вони не пригнічують нормальну мікрофлору кишечника та не призводять до перехресної антибіотикорезистентності циркулюючої мікрофлори. Не накопичуються в навколишньому середовищі та продукції птахівництва. Був застосований один із способів поєднання цитратів з органічними кислотами

(яблучної, лимонної та пропіонової) у співвідношенні 3:1:200 см³ води для профілактики сальмонельозу курей.

Вивчено їх токсичну дію, встановлено бактерицидну властивість цитратів Ag та Zn, як при дезінфекційній обробці яєць, так при пероральному задаванні з питною водою. Було встановлено, що цитрат Ag володіє бактерицидними властивостями до більшості культур: *Escherichia coli* O2, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*. Розчин із вмістом Zn ефективний тільки по відношенню до *E. coli* та *St. epidermidis*. Описано вплив цитратів Ag та Zn на гематологічні показники крові курчат, які не призводять до зрушень поза межі фізіологічних параметрів

Доведена ефективність антибактеріального засобу «Сарофлос» при застосуванні під час перебігу ешерихіозу та сальмонельозу та встановлено його значну профілактичну здатність при попередній корекційній обробці курчат для впровадження у схеми комплексного лікування.

Наукова новизна досліджень підтверджена Патентом України на корисну модель № 113243 від 25.01. 2017, Бюл. № 2.

Практичне значення отриманих результатів. На основі проведених досліджень розроблена настанова по застосуванню цитратів Ag та Zn за профілактики ешерихіозу та сальмонельозу у птахогосподарствах. Розроблена листівка-вкладка щодо використання та нормативно-технічна документація для реєстраційного досьє, на основі якого проведено офіційну реєстрацію та впроваджено до серійного виробництва в НВФ «Бровафарма» хіміотерапевтичний препарат «Сарофлос». Результати дисертаційної роботи включені до навчального плану та робочих програм дисциплін «Ветеринарна мікробіологія», для студентів факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету. Окремі положення дисертаційної роботи ввійшли до «Методичних рекомендацій щодо експрес-аналізу продуктів харчування на бактеріальну забрудненість за допомогою тест-систем *Rida®Stamp* та *Compact Dry*».

Особистий внесок здобувача. Здобувач самостійно здійснював пошук та аналіз літературних джерел вітчизняних і закордонних авторів; опанував необхідні методи досліджень, статистичну обробку даних та їх обґрунтування. Інтерпретація отриманих результатів, оформлення висновків і практичних рекомендацій, підготовка нормативно-технічної документації здійснена за участю наукового керівника.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації доповідались, обговорювались на: щорічних конференціях викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ (20–21 квітня 2016 р.); Міжнародній науково – практичній конференції «Проблеми емерджентних хвороб тварин, молекулярна епізоотологія, експрес-діагностика та біобезпека» (м. Одеса, 6–10 червня 2016 р.); науково-практичній конференції молодих вчених: «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (м. Київ 22 червня 2017 р.); Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених «Молодь та інновації» (м. Горки, 1–3 червня 2017 р.); VII Міжнародній науково-практичній конференції «Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування» (м. Львів, 4–6 жовтня 2017 року); Міжнародній науково-практичній конференції: «Епізоотологія, здоров'я та добробут тварин. Виклики сучасності (НМЦ «Агроосвіта» м. Київ, 12 вересня 2017 р.).

Публікації. Основні положення дисертаційної роботи викладено в 15 наукових статтях, серед них: 7 статей у наукових фахових виданнях України, що входять до затвердженого МОН України переліку (з них 3 - одноосібних); 1 – опублікована у закордонному фаховому виданні, тези – 5, методичні рекомендації – 1 та 1 патент на корисну модель.

Особистий внесок здобувача. Здобувач самостійно здійснював пошук та аналіз літературних джерел вітчизняних і закордонних авторів; опанував необхідні методи досліджень, статистичну обробку даних та їх обґрунтування. Інтерпретація отриманих результатів, оформлення висновків і практичних рекомендацій, підготовка нормативно-технічної документації здійснена за участю наукового керівника.

Структура та обсяг дисертації. Основний зміст дисертації викладено на 157 сторінках комп'ютерного тексту. Роботу ілюстровано 36 таблицями та 23 рисунками. Дисертація складається з розділів: вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати власних досліджень, узагальнення результатів досліджень та їх аналіз, висновки, пропозиції виробництву, списку використаних літературних джерел, який включає 264 найменування, у тому числі 132 – латиницею, та 11 додатків.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ТА ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

1.1 Поширення ешерихіозу та сальмонельозу птиці в Україні та світі

Птахівництво перебуває під постійною загрозою з боку багатьох інфекційних чинників. У структурі інфекційної патології птиці, провідне місце займають такі бактеріальні інфекції, як сальмонельоз, колібактеріоз, пастерельоз, стафілококоз, стрептококоз і респіраторний мікоплазмоз. Названі хвороби завдають найбільші збитки птахівництву (особливо промисловому) [14]. Їх збудники дуже часто знаходяться в зовнішньому середовищі та в організмі самої птиці в асоціативному симбіозі [19–24].

Найчастіше бактеріальна інфекція носить змішаний характер. Провідне місце в етіологічній структурі займають мікроорганізми кишкової групи, які представлені ешерихіями та сальмонелами в асоціаціях з іншими видами умовно-патогенних бактерій. Наслідком цього є розвиток бактеріальних інфекцій, які різко знижують резистентність птиці порівняно з моноінфекціями та негативно впливають на імунобіологічну реактивність організму і залишаються основною причиною загибелі птиці [15].

За даними Зона Г. А. такий перебіг асоційованих хвороб не випадковість, так як ешерихіоз являє собою типову, вторинну або системну інфекцію, яка може проявлятися у формі колісептицемії, колігрануломатозу, аеросакулітів, пташиного целюліту, симптому набряку голови, перитоніту, сальпінгіту, остеомієліту, панофтальміту та омфаліту [25].

За даними Лизогуб Л. С. у більшості птахогосподарств за 2013–2014 рр. колісептицимія створює складну ситуацію тому, що зустрічається у формі ензоотії, а також у вигляді змішаної інфекції, яка супроводжується інфекційним бронхітом курчат, сальмонельозом, інфекційним ларинготрахеїтом, еймеріозом, також на фоні гіповітамінозу. Окрім цього ешерихіоз характеризується значними економічними збитками та відсутністю сезонності та стаціонарності. І аналіз епізоотичної ситуації птахогосподарств свідчить про те що, серед

бактеріальних інфекцій переважають ентеробактеріози, серед яких виділені культури *E. coli* складають значну частину – 23,7–24,7% [247].

На даний час існують складнощі в ідентифікації епізоотичних штамів кишкової палички, яка схильна до постійної мінливості та може до 20 % випадків не піддаватись серологічній типізації стандартним набором сироваток. Крім того у ешерихій швидко розвивається резистентність до антибіотиків [26]. Якщо донедавна застосовування більшості антибактеріальних препаратів широкого спектру дії таких, як азитроміцин, тилозин, амоксицилін, окситетрациклін та колістин використовували для програм лікування колібактеріозу стали клінічно марними через розвиток резистентності [248].

В країнах Європейського Союзу, згідно з директивою ЄС 2003/99, здійснюють моніторинг і контроль харчових зоонозів з 2003 р. У нашій країні моніторинг сальмонельозу проводять з 1967 р. [16]. Інформація звіту Ерба показав, що найбільш поширеним в ЄС харчовими зоонозом в 2014 р був кампілобактеріоз за ним, за поширеністю, слідували сальмонельоз, ерсиніоз, харчові інфекції, викликані веротоксигенними штамми *E. coli* (VTEC) і лістеріоз. В Європі зареєстровано 236851 випадок кампілобактеріозу людини (в 2,6 рази більше, ніж сальмонельозів) [17]. Сальмонельоз у 28 країнах–членах ЄС зайняв друге місце серед виявлених харчових зоонозів (88715 випадків). Російська Федерація, на відміну від країн ЄС, також потерпала від сальмонельозу, на частку якого довелося 42478 випадків всіх зареєстрованих в країні харчових зоонозів (60403). За спалахами сальмонельоз перевищує дизентерію в 3,9 рази, склавши 22% кишкових інфекцій з встановленої етіології [18]. За сальмонельозом слідували інфекції, викликані веротоксигенні штамми *E. coli* (14578). Кампілобактеріоз, ерсиніоз бруцельоз спостерігаються у населення досить рідко (1740, 1820 і 369 випадків відповідно). В етіологічній структурі сальмонельозу людини в РФ переважають, як і в попередні роки, серовар *S. enteritidis* (80,6% встановлених випадків сальмонельозу). Друге місце займає *S. typhimurium*, третє – *S. infantis*. Сальмонельози на сьогодні є однією з найбільш актуальних проблем для гуманної та ветеринарної медицини.

Сальмонельози – це гострі кишкові зоонозні інфекції, які характеризуються патологіями шлунково-кишкового тракту, що тривають частіше у формі локального гастроентериту, рідше у вигляді генералізованих форм – тифоподібної або септикопіємічної. Збудником сальмонельозу є різні бактерії роду сальмонел. У нашій країні їх майже 500 видів, найпоширеніші серед яких *S. typhimurium*, *S. heidelberg*, *S. enteritidis*, *S. derby*, *S. newport*, *S. anatum*, *S. choleraesuis* та ін., сприйнятливість до яких у людини неоднакова. Мінімальна доза для інфікування людини становить від 1,5 млн. до 1,5 млрд. мікробних клітин [27]. Сальмонельоз зустрічається у всьому світі. Резервуаром сальмонел у природі та джерелом інфекції є свійські тварини, різні птахи [47, 48, 49]. Основний шлях інфікування при сальмонельозі – аліментарний. Велике значення в якості джерела інфекції відіграє обслуговуючий персонал різних дитячих закладів, закладів харчування, тощо [47, 48, 49, 50, 51, 52]. У останні роки спостерігається у багатьох країнах світу, зростання захворюваності на сальмонельоз, пов'язане із розповсюдженням збудника через м'ясо птиці та яйця [48, 53]. Сальмонельоз реєструють як у вигляді масових спалахів, так і у вигляді спорадичних випадків [48, 49].

Окремою великою проблемою також є контамінація сальмонелами різних об'єктів, зокрема кормів, обладнання, продуктів харчування, сировини тощо. Сальмонели розглядаються як один з основних збудників харчових токсикоінфекцій у людини [31].

В усьому світі реєструється щорічно близько 90 мільйонів випадків гастроентеритів у людей, причиною яких є *Salmonella* [28, 29, 30]. Також існують дані у різних наукових джерелах про те, що у світі реєструється щороку до 1,3 млрд. випадків захворювання на сальмонельоз [32, 33, 34]. Тому сальмонельоз є одним з основних ризик-факторів, що підлягає контролю в контексті реалізації спільної концепції МЕБ, ВООЗ і ФАО «Єдине здоров'я» («OneHealth») [35, 36, 37].

Багатьма дослідженнями відмічено, що на теренах Європейського Союзу захворюваність на нетифоїдний сальмонельоз серед людей напряму корелює з наявністю спалахів сальмонельозу серед курей-несучок.

Проблема сальмонельозу та пов'язані з нею ризики для здоров'я тварин і людини є актуальними і для України та потребують постійного контролю з боку відповідних служб, які мають використовувати у своїй роботі найбільш сучасні й ефективні методи [45, 46].

Сальмонельоз є актуальною проблемою для птахівництва, зумовлюючи ризики для якості та безпечності птахівничої продукції. Яйця та продукція птахівництва є основним джерелом інфікування людини сальмонелами [38, 39, 40, 41, 42, 43, 44]. Інфікування сальмонелами відбувається внаслідок споживання контамінованих кормів, води, продуктів харчування: яйця та молоко, м'яса птиці та інших тварин. Ще одним із способів інфікування є вживання контамінованої води. Крім того, джерелом інфекції можуть бути відкриті водойми [54]. За даними FAO, близько 20 % продукції птахівництва у світі контаміновані сальмонелами [55]. Щорічно на планеті реєструють 21 млн. випадків сальмонельозу, з котрих близько 216 тис. закінчується летально [54].

Класична діагностика сальмонельозу є на сьогодні трудовитратою та потребує до 10–14 днів для встановлення остаточного діагнозу. Ідентифікація серологічних варіантів сальмонел за допомогою біохімічних методів не завжди є точною.

У 2006–2009 роках в країнах Євросоюзу зафіксовано достовірне збільшення кількості випадків виявлення сальмонел у м'ясі птиці [56]. Як правило, велику небезпеку представляють яйця і яйце продукти. Даний харчовий продукт в Європі продовжують розглядати, як один з найважливіших факторів передачі сальмонельозної інфекції. Пояснюється це тим, що він є продуктом масового вживання, призначеним практично для всіх верств і вікових груп населення. Його споживають у великій кількості і часто, в тому числі в сирому вигляді (в складі майонезу, кремів, мусу і т.д.). У зв'язку з цим в країнах ЄС з 1 січня 2009 р заборонено споживання сирих столових яєць з комерційних

стад несучок, якщо їх власники (оператори) не дотримуються вимоги національних програм контролю сальмонельозу [57, 58, 59, 60]. У США щорічно фіксується більше мільйона випадків сальмонельозу серед людей, причому близько 600 є летальними. Щорічно економічний збиток фіксується на рівні \$ 2,4 млрд [14].

В Україні за період 10 років (2002–2012) захворюваність гострими кишковими інфекціями відрізняється певною статистичною стабілізацією, що в деякій мірі вказує на відсутність зростання санітарно-епідеміологічного благополуччя та комунального благоустрою населення [62, 63, 64]. На території України сальмонельози тварин найчастіше зумовлюють 14–16 сероварів сальмонел, частка кожного з яких від загальної кількості виділених збудників захворювань перевищує 1 %. Найбільш поширеними є *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *S. dublin*, *S. enteritidis*, *S. gallinarum-pullorum*, *S. typhisuis*. Сальмонельоз у птахів переважно викликають *Gallinarum-pullorum*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*. [45]. Багато дослідників зазначають можливість реєстрації як поодиноких випадків сальмонельозу, так й масові спалахи з охопленням 40–70 % поголів'я, причому останні більш характерні для інфекції, що викликається *S. gallinarum-pullorum*. Загибель молодняку курей за різними даними складає від 5 % до 80 %. Інфекція *S. typhimurium* призводить до масового захворювання та загибелі молодняку качок (до 80 %) [65, 66].

Основним серологічним варіантом, що викликає сальмонельоз у гусей, голубів, фазанів, є *S. typhimurium* (більш ніж 95 %), *S. enteritidis* відіграє менш визначну роль 1–3 %. Дані збудники є також небезпечними і для людини.

1.2 Обґрунтування комплексних заходів профілактики бактеріальних хвороб птиці, обумовлених ешеріхіями та сальмонелами.

Профілактика – це комплекс заходів, який спрямований на попередження захворювань та усунення факторів ризику. В основу комплексу профілактики покладено дотримання загально прийнятих ветеринарно-гігієнічних правил, які

складаються з дезінфекції, дезінсекції, дератизації та гігієни утримання тварин. Птахівнича галузь є прибутковою у порівнянні з іншими галузями сільського господарства, яка за короткий період часу здатна забезпечити населення білком тваринного походження. Але технології вирощування птиці вимагають дотримання всіх норм і правил що обґрунтовані науковими дослідженнями. Значних економічних збитків птахівничим господарствам завдають бактеріальні хвороби, як сальмонельоз та ешерихіоз, які стають причиною банкрутства господарств різної форми власності. Збудники хвороб здатні переживати весь період інкубації та проникати через шкаралупу яєць, а контаміноване умовно-патогенною та патогенною мікрофлорою яйце є основною ланкою передачі всіх бактеріальних інфекцій.

Збудник ешерихіозу є постійним мешканцем шлунково-кишкового тракту здорової птиці. У навколишньому середовищі патогенні штами ешерихій, або, як їх часто називають кишкові палички, що спричиняють хворобу, можуть зберігати свою життєдіяльність до чотирьох місяців, але за температури 60°C через 15 хвилин вони втрачають здатність розмножуватись [67, 68].

Останніми роками кишкова паличка все більше приваблює увагу фахівців гуманної та ветеринарної медицини – гастроентерологів, мікробіологів, імунологів. Інтерес виник як до автохтонної облігатної мікрофлори, необхідної для нормальної життєдіяльності організму людини, так і до здатності викликати інфекційно-запальні захворювання кишечника та екстраентеральні гнійно-запальні процеси.

Останнє десятиріччя кишкова паличка стала поширеним нозокоміальним патогеном. Ешерихіозна інфекція характеризується вираженим поліморфізмом, що пов'язано не тільки з протиінфекційним імунним статусом, але і від біологічних властивостей штамів ешерихій. Кишкові палички, які проявляють ознаки патогенності, викликають шлунково–кишкові захворювання і хвороби позакишкової локалізації. В цьому питанні особливий інтерес являють генетичні детермінанти *E. coli* – плазміді, що забезпечують адаптацію бактерій

до певної еконіші, а також антигенна характеристика ешерихій, яка тісно пов'язана з клінічною маніфестацією захворювання [69-76].

Антигенна структура ешерихій. Кишкові палички належать до роду *Escherichia*, родини *Enterobacteriaceae*. Ентеропатогенні кишкові палички (ЕПКП) морфологічно не відрізняються від непатогенних. Це паличкоподібні мікроорганізми із закругленими кінцями, грамнегативні, рухливі. Добре ростуть на звичайних живильних середовищах, високоактивні в біохімічному відношенні, стійкі до дії факторів зовнішнього середовища. Містять соматичний О–антиген, джгутиковий Н– та поверхневий К– антигени.[67]

За хімічним складом О–антигени ешерихій поділено на хемотипи. Деякі антигени – спільні для ешерихій та сальмонел (1–8, Х–ХІІІ), клебсієл, шигел та ін. За морфологічними, ферментними, культуральними властивостями патогенні та непатогенні ешерихії не диференціюються. Тому надзвичайно актуальним є пошук в матеріалі патогенних ешерихій. Для цього використовується орієнтовна реакція аглютинації.

При ешерихіозній інфекції, напевно, найбільше патогенетичне значення має система захисту, пов'язана з К–антигенами і коліцинами; фактори колонізації (адгезії), зумовлені фімбріями; наявність у ешерихій власних агресивних речовин – токсинів, гемолізинів, які контролюються плазмідами Ent, Hly; фактори активного захисту, детерміновані R–плазмідами. Всі детермінанти, які контролюють певні властивості ешерихій та їх здатність до внутрішньоепітеліального розмноження, корелюють з вірулентністю *E. coli* і певним патогенезом захворювання, тому їх і вважають факторами патогенності [71].

За О–антигенами виділяють майже 100 ентеропатогенних для людини різновидів збудника. За руйнування – виділяють ендотоксин, а деякі з них здатні утворювати й екзотоксин, а також розмножуватися в ентеро– і колоноцитах. У залежності від наявності тих чи інших факторів патогенності та ферментів агресії, за класифікацією ВООЗ (1980), усі патогенні для людини ешерихії поділяють на 3 групи:

- *ентеропатогенні для дітей раннього віку*, переважно першого року життя, з розвитком у них колієнтериту (власне ЕПКП);
- *ентеротоксигенні (ЕТКП)*, здатні виділяти ентеротоксини типу холерогена з розвитком холероподібної форми ешерихіозу;
- *ентероінвазивні (ЕІКП)*– не утворюють ентеротоксину, але здатні проникати в ентероцити і розмножуватися в них.

Вони антигенно споріднені із шигелами, спричинюють запальний процес за типом дизентерієподібних уражень [67].

Епізоотологія хвороби. Захворювання поширене в багатьох країнах світу, особливо в господарствах з незадовільним ветеринарно-санітарним станом. Економічні збитки зумовлюються масовим захворюванням та загибеллю молодняку, а також витратами на ліквідацію інфекції [72]. Інфікування птиці й розвиток інфекції відбувається за пошкодження шкірного або слизового бар'єрів (наприклад: наявність ран, пошкодження слизової оболонки вірусами, бактеріями або паразитами), за втрати нормальної мікрофлори кишечника порушенні інфекції системи мононуклеарних фагоцитів в разі вірусних інфекцій, токсикозів, в умовах негативного впливу чинників навколишнього середовища (антисанітарія, поганна вентиляція в приміщенні та наявність у повітрі токсичних газів, аміаку, пилу), за не якісної та контамінованої патогенною та умовно-патогенною мікрофлорою води, наявності короточасних, але систематично повторюваних стресів, а також одноразових, але дуже інтенсивних стресів, порушень технологічного режиму годівлі й утримання, за дефіциту в раціоні поживних і біологічно активних речовин (зокрема вітаміну А) або порушення їх біологічно обумовленого співвідношення, при зниженні місцевої й загальної резистентності.

За наявності й поєднання перелічених вище чинників кишкова паличка активно розмножується в організмі птиці, проникає у кров із подальшим розвитком септико-токсемічного процесу. Розвитку колібактеріозу сприяє респіраторний мікоплазмоз, інфекційний бронхіт, інфекційний ларинготрахеїт,

хвороба Ньюкасла, грип птиці, аденовірусна інфекція й інші, заразні й неінфекційні хвороби.

Джерелом інфекції є хвора та перехворіла птиця, що виділяє бактерії з трахеальним слизом, забрудненні *E. coli* корми, вода повітря. Фекалії гризунів можуть містити патогенні серотипи *E. coli*, що потрапляють до птиці із контамінованою водою та кормом. Іноді джерелом збудника може бути персонал, інфікований кишковою паличкою. Основний шлях поширення інфекції – горизонтальний: аерогенний, аліментарний. Класична трансоваріальна передача бактерій великого значення не має, проте від 0,5 до 6 % яєць від здорових курей містять *E. coli* [73].

Патогенез хвороби. Патогенез захворювання залежить від шляхів інфікування. При аерогенному попаданні збудника первинні патологічні процеси локалізуються в органах дихання, при аліментарному – в шлунково-кишковому тракті. Мікроорганізми з адгезивними антигенами швидко колонізують слизові оболонки і розмножуються, утворюючи токсини. Після колонізації кишечника ентеротоксигенними штамами ешерихій відбувається їх швидке розмноження, яке супроводжується продукуванням ентеротоксинів, що відповідають за клінічний прояв захворювання [77]. В подальшому збудники потрапляють в кров і з током крові – в паренхіматозні органи. При розмноженні в крові збудники виробляють токсини, в результаті чого порушується порозність кровоносних судин, особливо серозних покривів. Це супроводжується масивними серозними набряками, крововиливами та виходом за межі судин білку, фібриногену і розвитком фібринозних полісерозитів [78].

Протягом останнього часу в літературі накопичено багато інформації про те, що ешерихіози можуть зумовлювати також штами ешерихій, що не володіють здатністю до інвазії, але продукують ентеротоксин. Цим штамам відводиться велике значення. Термостабільний токсин *E. coli* – високо специфічна білкова речовина, що продукується бактеріальною клітиною в процесі життєдіяльності. Під впливом термолабільного токсину в мембрані епітеліальних клітин тонкого відділу кишечника підвищується активність

ферменту аденілциклази, що стимулює напрацювання в цитоплазмі 35–аденозинмонофосфату й сприяє підвищенню секреторної функції клітин, одночасно зменшуючи їх резорбтивні властивості. В результаті чого збільшується кількість рідини і електролітів, що виділяються епітеліальними клітинами тонкого відділу кишечника, що і зумовлює появу діареї [79]. Дія термолабільного токсину може спостерігатись деякий час навіть після повного його видалення.

У патогенезі ешерихіозу першою умовою є забезпечення можливості потрапившим *per os* (через рот) ешерихіям розмножуватися в тонкому кишечнику. У птиці, хворої на ентеротоксигенну форму ешерихіозу 80–90 % ентеротоксигенних бактерій виду *E. coli* перебували на слизовій оболонці кишечника і лише 10–20 % перебували у хімусі. Після прикріплення до слизової оболонки кишечника за допомогою адгезинів, ентеротоксигенні ешерихії бурхливо розмножуються шляхом поділу материнської клітини на дві дочорні які отримують однакову кількість генетичного матеріалу [70].

Відомо, що термолабільні та термостабільні токсини утворені патогенними ешерихіями впливають на нервові клітини, змінюють тонус мускулатури кишечника та бронхів, а також збільшують прозорість судинної стінки, що призводить до набряку в підслизовому і підсерозному шарах, а також до виразки слизової оболонки тонкого та товстого відділів кишечника внаслідок накопичення у крові бактерій і їх токсичних продуктів, різко збільшується проникливість судин і особливо судин серозних покривів.

Патологоанатомічні зміни за ешерихіозу та сальмонельозу.

За ешерихіозу у птахів відмічають виснаження і відставання в рості та розвитку. Серцева сорочка містить різну кількість серозно-фібринозного або фібринозно-казеозного ексудату. При цьому розвиваються спайки між листками перикарду за рахунок організації (заміщення сполучного тканинного) фібринозного ексудату. Міокард з ознаками зернистої дистрофії. Іноді реєструють некроз субепікардіальних ділянок міокарду. Часто відмічають відкладання фібрину на поверхні печінки у вигляді суцільної плівки сірого

кольору, яка легко відділяється. Сама печінка знаходиться в стані застійної гіперемії (або без неї) та дистрофії. Аналогічні відкладання фібрину знаходять також на поверхні капсули селезінки, серозних оболонок м'язового та залозистого шлунку, кишечника. Стінки повітроносних мішків осередково чи дифузно потовщені, непрозорі, в їх порожнинах міститься різна кількість серозно-фібринозного ексудату, іноді казеозні маси сіруватого чи жовтуватого кольору. Зміни в легенях як правило обмежуються застійною гіперемією, рідше знаходять ділянки катаральної бронхопневмонії. Нирки підвищено кровонаповнені. Як правило, в них розвивається зерниста дистрофія і некробіоз епітелію каналців. В нервовій системі основні зміни виявляють в головному, рідше в спинному мозку. Гістологічно в цих відділах виявляють гострий негнійний енцефаломієлітлімфоцитарного типу в різному ступені вираження.

Захворювання курчат колісептицемією призводить до атрофії фабрицієвої бурси, до змін селезінки, яку в даному випадку характеризують як «септичну» селезінку. При кишкової формі хвороби розвивається катаральне запалення слизової оболонки тонкого відділу кишечника. Така слизова набрякла, гіперемійована, пронизана крапковими крововиливами. Вміст кишечника рідкий, сірувато-білого кольору, з домішками великої кількості слизу, іноді в ньому знаходять кров. Часто розвивається катарально-геморагічний ентерит. В більшості випадків у трупів птиці реєструють геморагічне запалення сліпих кишок. У дорослої птиці відмічають посиніння гребеня, сережок, застійну гіперемію шкіри та внутрішніх органів, фібринозне запалення суглобів, а також фібринозний сальпінгіт, іврит, атрофію яєчників та яйцеводу, пневмонії, аеросакуліти. Часто розвиваються жовтковий перитоніт (оваріо-сальпінгіт), який характеризується запаленням серозних оболонок очеревини та кишечника внаслідок потрапляння жовткових мас в черевну порожнину [78].

За сальмонельозу (при гострому перебізі) спостерігають гостро катаральний ентерит, катарально-фібринозний тифліт, геморагічний діатез, септичну селезінку та зернисту дистрофію печінки, нирок, міокарда. Хронічний перебіг характеризується утворенням гнійно-некротичних ділянок в

легенях та наявністю фібрину на плеврі. Стінки кишечника потовщені, гіпермійовані і вкриті дифтерійними плівками. Також це призводить до некрозу селезінки [236].

Діагностика ешерихіозу та сальмонельозу.

Встановлення діагнозу на «ешерихіоз» та «сальмонельоз» здійснюється на підставі аналізу анамнестичних даних, епізоотологічного обстеження птахогосподарств та прилеглих районів, клінічних ознак, результатів патологоанатомічного розтину та результатів серологічних, бактеріологічних досліджень, патологічного матеріалу. Бактеріологічні дослідження проводять у відповідності з «Методичними вказівками з бактеріологічної діагностики колибактеріозу (ешерихіозу) тварин» та «Методичних рекомендацій щодо виділення та ідентифікації сальмонел» [200, 201].

Діагноз на «ешерихіоз» вважається встановленим в разі виділення культур ешерихій із селезінки, кісткового або головного мозку, без визначення їх серологічної належності та патогенності, а також при виділенні не менш, ніж з двох досліджуваних органів культур ешерихій, які патогенні для мишей або належить до О–сероваріантів, визнаних патогенними для птиці [80].

Лабораторна діагностика передбачає виділення чистої культури ешерихій з патологічного матеріалу, встановлення її патогенності, або виявлення збільшення титрів аглютининів у парних сироватках крові. В лабораторію для бактеріологічних досліджень відправляють свіжі трупи птиці, яка тільки що загинула. Для серологічних досліджень направляють парні сироватки крові з інтервалом 14–21 день. В лабораторії з патологічного матеріалу готують мазки-відбитки та фарбують їх за Грамом для проведення світлової мікроскопії. Для дослідження в реакції імунофлюоресценції мазки фарбують специфічними імунофлюоресцентними сироватками.

Бактеріологічні дослідження при септичній формі хвороби передбачають посіви на живильні середовища з крові серця та внутрішніх органів, а при ентеритній формі хвороби – із слизової оболонки тонкого відділу кишечника, патологічно змінених лімфовузлів брижі, а також з фекалій.

Біопробу проводять на білих мишах, яким вводять 10 % суспензію з патологічного матеріалу

Вирішальне значення в постановці діагнозу на «сальмонельоз» має виділення сальмонели бактеріологічними методами в державних лабораторіях ветеринарної медицини або уповноважених лабораторіях, визначених компетентним органом.

Для індикації сальмонел можна застосовувати ПЛР (полімеразну ланцюгову реакцію) або інші альтернативні методи дослідження, але при позитивному результаті дослідження слід проводити підтвердження класичними (еталонними) бактеріологічними методами. Прижиттєву діагностику інфікування птиці *S. pullorum-gallinarum* (у молодих курей, індиків, фазанів, качок), *S. gallinarum* проводять методом ККРНГА (кровокрапельної реакції непрямої гемаглютинації) з еритроцитарним антигеном або методом ККРА (кровокрапельної реакції аглютинації) з кольоровим пулорним антигеном. Вік птиці, при якому найбільша вірогідність виявлення сальмонелозносії серед птахопоголів'я: курей – 50–55 днів, індиків – 45–50 днів, серед дорослої птиці – при досягненні нею 40 % продуктивності. Дослідженню підлягає 10 % батьківського поголів'я [205].

Серологічні методи. Щодо виявлення специфічних антитіл у тварин та птиці використовують ККРА, СКРА, РНГА, ПРА та імуноферментний аналіз (Enzyme-linked immunosorbent assay). ККРА та СКРА найбільш прості та недорогі методи серологічної діагностики сальмонельозу, вони мають високу чутливість, але низьку специфічність. Казахські дослідники Кенжебаєва А.Т. та Аймурзаєва Е.Т. із наукового центру гігієни та епідеміології ім. Х. Жуматова (Алмати) пропонують еритроцитарний діагностикум для виявлення сальмонел та шигел за допомогою реакції непрямої гемаглютинації [81]. Існують комерційні антигени для СКРА, ККРА, РНГА.

ELISA застосовують у двох варіантах – непрямому та конкурентному. У першому випадку у лунках мікротітраційних пластинок абсорбують сальмонельозний антиген (О–, Н– або зовнішні мембранні), які пов'язують

антитіла проби, що тестується (за умов наявності їх в ній) зв'язуються кон'югатом антивидової сироватки (або Ig) або з ферментом (наприклад, пероксидазою). Утворений в позитивних випадках комплекс виявляють за допомогою субстрату, який змінює свій колір у результаті контакту з вищезазначеним ферментом. Під час проведення конкурентного ELISA в лунках плашок адсорбують моноклональні антитіла з антигеном сальмонел. Вони реагують з антигеном сальмонел, який додається у лунки, а той, в свою чергу, – з антитілами сироватки, яка тестується. Подальші етапи є аналогічними непрямому його варіанту [206].

Чутливість ELISA досягає (10^5 – 10^6) бакт. кл./см³, а його специфічність 85–94 %. Конкурентний ELISA специфічніше непрямого варіанту, але менш чутливий та дорожчий (з причини необхідності використання моноклональних антитіл). За допомогою ELISA можливим є встановлення серотипу, який став причиною інфекції у птиці. При цьому слід враховувати наявність перехресних реакцій серотипів В та D. Перевагою ELISA перед РА є можливість автоматичного обліку результатів [82]. На сьогодні пропонується багато різних тест-систем на основі методу ELISA для пришвидшеного виявлення сальмонел. Румунські дослідники розробили та провели валідацію тест-системи на основі конкурентного ELISA-тесту для виявлення та типування наявності *S. typhimurium*.

Експрес методи виявлення сальмонел. Із стандартних методів прискореного виявлення бактерій роду *Salmonella* використовують офіційно рекомендоване середовище Раппопорта-Вассіліадіса. Принцип селективного визначення цих бактерій полягає у виявленні рухливості сальмонел у напіврідкому середовищі та утворенні ними непрозорої зони росту – феномен роїння [83].

З більш сучасних середовищ використовують тест-системи фірми R-biopharm, а саме CompactDry та RIDA®STAMP, які є простими та легкими у використанні, і являють собою сухе хроматогенне середовище з нетканим матеріалом на дні чашки для швидкої дифузії досліджуваного матеріалу. Завдяки наявності хроматогенного субстрату колонії фарбуються у відповідний

колір, що дає можливість точно ідентифікувати видову та родову приналежність. Для виявлення наявності представників родин *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* використовували тест-систему *Compact Dry EC*, *Compact Dry SL*, *RIDA®STAMP S. aureus*, *RIDA®STAMP Staph*, *RIDA®STAMP Pseudomonas*, *RIDACREEN® Salmonella*, *AFNOR RBP 31/01–06/08*. Час інкубування становить лише 24–48 год. Результати зчитують візуально. Колонії, що ростуть на чашках досліджуваних тест-систем змінюють забарвлення в характерний колір видової приналежності. Наприклад, при виявленні *E. coli*, колонії мають блакитний колір, а *coliforms* – червоний. *Salmonella* змінює свій колір від фіолетового до жовтого завдяки своїм властивостям розчиняти лізинкарбоксилазу. Для серотипування сальмонел та ешерихій використовують метод латексної аглютинації (використовуючи кольоровий латекс, що аглютинує різні серогрупи) за допомогою тест-системи *SPESTATE®* [84]

1.3 Аналіз резистентності мікроорганізмів до антибактеріальних засобів, які застосовуються з профілактичною метою за бактеріальних хвороб птиці

Проблема резистентності мікроорганізмів не є новою, вона існувала ще до відкриття першого антибіотика. У зв'язку з широким і часто неправильним застосуванням антибіотиків, останнім часом особливо помітно зросла кількість штамів, резистентних до одного або до кількох антибіотиків. Найбільш частою причиною набутої резистентності є широке застосування антибіотиків, а наслідком цього стає набуття штамми резистентності [85, 86]. Феномен стійкості – це дуже специфічне явище, тому дані по окремих країнах, можуть значно відрізнятися в залежності від застосування антибіотиків. З 1950 року спостерігається збільшення частоти стійкості бактерій до більшості класів антибіотиків широкого спектру дії, які застосовуються для лікування.

У 1967 році перший стійкий до пеніциліну стрептокок був виявлений в Австралії, а через 7 років у США був зафіксований інший випадок пеніцилін-резистентного стрептокока пневмонії у людини з пневмококовим менінгітом. У

1980 році було підраховано, що при пневмонії 3–5 % стрептококів були пеніциліностійкими і до 1998 року їх стійкість збільшилася до 34 %. Тетрациклінова стійкість *E. coli* з 1950 по 1990 роки змінилася від 2 % до 80 %. Канаміцин – антибіотик, який використовується з 1950 року, став клінічно марним в результаті утворення канаміциностійких бактерій.

У 60 % випадків *S. aureus* виявляє стійкість до метициліну. За даними Глебова К. В., Майбороди О. В. та ін. спостерігається стійкість сальмонел до антибактеріальних препаратів (азитроміцина, тілозин), пеніцилінів (амоксоцилін) і тетрацикліну (окситетрацикліну). Очевидно, що безконтрольне застосування антибіотиків у птахівництві зменшує спектр вибору препаратів з кожним роком [5]. Це означає, що лікування за допомогою препаратів цієї групи, не дає результатів. Але більшість країн Європейського Союзу володіють налагодженими національними та міжнародними системами відстеження стійкості мікроорганізмів до антибіотиків. [90–94]. Утворення більш стійких ентеробактерій ясно вказує на мутацію генів до антибіотиків. Ця стійкість є результатом того, що бактерії, які еволюціонували перетворилися в антибіотико резистентні штами кількості, яких з кожним роком збільшується. Іншим шляхом бактерій є утворення резистентності рибосоми захисних протеїнів (РЗП), які використовуються мікроорганізмами при захисті від дії антибіотиків. Згідно літературних даних ці протеїни захищають рибосоми шляхом зміни їх форми або структури. Виходить, що бактерії не виробляють нові гени, вони отримують раніше закладений ген стійкості шляхом латерального-генного переходу [87–88]. Однак, антибіотики та інші антибактеріальні препарати (АБП) одночасно зі знищенням хвороботворних бактерій ліквідують і ендосімбіонтну мікрофлору, необхідну для нормальної життєдіяльності живого організму.

При цьому створений в процесі еволюції і природного відбору нормобіоценоз, що займає в макроорганізмі певні екологічні ніші (біотопи), опинився під загрозою знищення [95-96]. Небезпека втрати ендосімбіонтних бактерій під впливом широкого, часто безконтрольного та необґрунтованого застосування АБП з широким спектром антибактеріальної активності полягає в

поступовому зникненні біологічно доцільних симбіозів макроорганізму з бактеріями. Це неминуче тягне за собою і зниження синтезу природних імуностимуляторів, обумовлює неповноцінність імунної системи і, в кінцевому результаті, розвиток імунодефіцитних станів. Слід також враховувати існування еволюційно-екологічного антагонізму між бактеріями, вірусами і макроорганізмом завдяки якому утворюється «буферна ланка», що складається з ендосимбіонтних бактерій, і перешкоджає безпосередньому контакту макроорганізму з вірусами. Бактерії мають здатність стримувати активність вірусів завдяки утворенню нуклеолітичних ферментів (ДНКазі і РНКазі), що розчиняють вірусну нуклеїнову кислоту незалежно від виду вірусу.

При знищенні ендосимбіонтних бактерій АБП ця «буферна ланка» зникає, що обумовлює можливість безпосереднього контакту організму птиці і вірусу та поширення вірусних інфекцій [97]. Однією з найбільш актуальних проблем сучасної антибактеріальної терапії стала щорічно зростаюча стійкість хвороботворних бактерій до застосовуваних антибактеріальних препаратів. Це призвело до поступового зменшення ефективних антибактеріальних препаратів і глобального розповсюдження антибіотикорезистентності [98]. Наслідком поширення хвороботворних бактерій резистентних до АБП стало неухильне зростання захворювань бактеріальної природи, які ще недавно успішно лікувалися. Так, різко зросла летальність при сепсисі (до 70%), при туберкульозі і пневмоніях, оскільки їх збудники набули резистентності до застосовуваних антибактеріальних препаратів [99].

Безконтрольне і не обґрунтоване застосування антибіотиків призвело до того, що з'явилися нові форми бактерій, вірусів, мікоплазм, хламідій, L - форм бактерій [100]. Фактично відбулася радикальна заміна традиційної мікрофлори тварин та птиці, і навіть людини на агресивну з утворенням бактерій-мутантів [101]. Невипадково останнім часом все частіше стали з'являтися публікації із заголовками «Антибіотики, як загроза» [102].

Серед головних причин поширення резистентності хвороботворних бактерій до антибактеріальних препаратів є неправильний вибір і застосування

(наприклад, призначення антибіотика з широким спектром дії там, де слід було б призначити препарат з вузьким спектром дії), а також емпіричної антибактеріальної терапії з використанням неадекватних доз або не обґрунтованого скорочення чи подовження курсу лікування антибіотиками; фактична відсутність, останнім часом, розробок принципово нових груп (класів) антибактеріальних препаратів [103–108]; поширення полірезистентності хвороботворних бактерій внаслідок виділення ними β -лактамаз [109–111]. На ряд додаткових причин вказують також: застосування антибактеріальних препаратів з профілактичною метою, що призводить до селекції резистентних штамів мікроорганізмів [112]; самолікування різних захворювань без консультації лікаря ветеринарної медицини (33,2 % випадків); відсутність у багатьох лікарів спеціальних знань про раціональне застосування антибактеріальних препаратів; застосування їх при вірусних хворобах, при яких вони неефективні; легкість виникнення у бактерій генних мутацій: пристосованість одноклітинних мікроорганізмів фактично безмежна [113–115]; поширеність серед птиці вроджених і (особливо) набутих (вторинних) імунодефіцитних станів, що сприяють розвитку антибіотикорезистентності у бактерій [116].

Головним критерієм зростання резистентності бактерій до препаратів служать не стільки клінічні дані, скільки мінімальна переважна концентрація (МПК) і режим дозування антибактеріальних препаратів: його доза і тривалість курсу лікування [117]. Ерадикація мікроорганізму стає ефективною тільки тоді, коли доза препарату перевищує МПК в 2–3 рази. У цих умовах ймовірність кілінгу (знищення) бактерій значно збільшується [118].

При цьому не зазначається, що разом із бактеріальною клітиною гине і клітина макроорганізму. Зниження або втрата бактеріями здатності зв'язування з конкретним препаратом відбувається при збереженні функціональної активності бактеріальної клітини; інактивації антибактеріального препарату, активного виведення його з мікробної клітини (ефлюкс), порушення проникності зовнішніх структур мікробної клітини [120].

1.4 Антимікробні властивості та хіміотерапевтична активність наноаквахелатів та наноматалів.

Нанотехнологія – це область прикладної та фундаментальної науки, яка пов’язана із сукупністю теоретичного обґрунтування теоретичних методів дослідження, аналізу, синтезу, методів виробництва, застосування продуктів із заданою атомною структурою шляхом контрольованого маніпулювання окремими атомами та молекулами [121].

Нанотехнологія «Нанонауки» – [технологія](#) колоїдних систем, яка складається з [колоїдної хімії](#), колоїдної фізики, молекулярної біології та [мікроелектроніки](#) [121].

На сьогодні використання металів з обробкою нанотехнологій набуло широкого застосування в усіх сферах науки. Використання різних термінів таких як: «наноматеріали», «ультрадисперсні матеріали», «ультрадисперсні системи», «наноструктурні матеріали» та «нанофазні матеріали» [122, 123].

Властивості наночастинок і наноматеріалів зазначеною мірою залежать від технології їх отримання. Наночастинки металів отримують фізичними (термічне випаровування і конденсація, механосинтез, електричний вибух, ерозійно-вибухові, лазерна електро-імпульсна, плазменна, електродугова, ультразвукова амбіляція) та хімічними (відновлення з розчинів та в мікроемульсіях) методами [208, 207].

До наноматеріалів відносять матеріали, що містять структурні елементи, розміри яких в одному з вимірів не перевищують 100 нм, тобто наночастинки, які володіють якісними властивостями в порівнянні з матеріалами того ж якісного складу в масивному стані [124, 125, 126, 128, 127].

Слід зазначити, що наночастки – найбільш широко використовуваний вид наноматеріалів, розмір структурних елементів, яких ні в одному з вимірів не перевищує 100 нм і володіє якісно, і кількісно новими властивостями в порівнянні з матеріалом такого ж складу в макростані. У наночастинок є

кластер атомів, об'єднаних в кристалічну структуру [129, 130]. До наночастинок відносять: фулерени, металеві наночастинки, ліпосоми, міцели, дендримери, біогенні частинки та ін. [131, 132]. Наночастки поділяють на органічні (наприклад, фулерени і дендримери) і неорганічні (металеві та кварцові наночастинки).

Хелатні сполуки, або хелати (від англ. *chelate* – клішня), належать до комплексних сполук, які утворюються внаслідок з'єднання катіона (іона металу) з двома більше атомами молекули комплексону (ліганду), що найчастіше застосовується у практиці гуманної та ветеринарної медицини у зв'язку з їхньою нетоксичністю та біосумісністю з живою клітиною [133–134]. Тобто хелат виглядає як краб, який своїми клішнями міцно захоплює іон металу, і чим більше клішнів, тим міцнішим є захоплення. Тому донедавна хелати ще називали клішнеподібними сполуками [135]. Комплексні (координаційні) сполуки надзвичайно поширені в живій і неживій природі, та застосовуються в промисловості, сільському господарстві, науці і, звичайно, медицині. Так, хлорофіл – це комплексна сполука магнію з порфірінами, у гемоглобіні міститься комплекс заліза з порфіріновими циклами (гем). Значна кількість лікарських засобів містить комплекси металів у якості фармакологічно активних речовин, наприклад, інсулін (комплекс цинку), вітамін В12 (комплекс кобальту), платинол (комплекс платини) тощо [137]. Засновником координаційної теорії комплексних сполук є швейцарський хімік Альфред Вернер, який за роботи в цій сфері в 1913 р. отримав Нобелівську премію з хімії [137]. Хелати значно відрізняються від нехелатних сполук, як за хімічними і фізичними властивостями, так і за впливом на живі організми. Наприклад, вони мають підвищену стійкість до нагрівання, а також в них атом металу надійно екранований та не вступає в реакції окиснення [138]. Встановлено, що хелати практично ідентичні природній структурі і можуть проникати крізь клітинні мембрани, що визначає їх високу біодоступність. Слід зазначити, що іон металу в хелатній сполуці не потребує додаткової обробки і готовий до засвоєння та використання клітинами організму. Крім того, вони можуть виступати в ролі

біокатализаторів та імітувати функції деяких ферментів. На основі хелатів розроблені регулятори мінерального обміну, бактерицидні і антивірусні препарати, протиалергічні засоби тощо. На сьогодні цей напрямок в хімії та фармакології розвивається досить швидкими темпами [137]. Саме особливі властивості хелатних сполук визначили їх місце в медичній практиці. Наприклад, хелатні сполуки амінокислот з іонами металів завдяки своїй високій біодоступності використовують як джерело незамінних елементів, наприклад, металів – кальцій, магній, цинк та ін. При цьому дослідження показали їх переваги не лише перед звичайними солями металів, але й, в деяких випадках, навіть порівняно з іншими методами лікування. Так, використання хелатів цинку в експерименті на щурах довело їх співставну ефективність з метформіном та гліклазидом в зниженні вмісту глюкози в плазмі крові натще [139], а хелат кобальту ефективний в якості цукрознижувального агенту. При цьому хелатна форма мала набагато меншу токсичність порівняно із солями кобальту [140].

Стегній М. Ю. та Магац Д. Ю. довели, що використання нанокарбоксилатів феруму та аргентуму в розведенні 1:10 знижує мітотичну активність на перещеплюваних культурах FLK-BLV, FLK-SBBL вірусу лейкозу ВРХ [136]. Також використання у щурів з цукровим діабетом цинку хелату на відміну від цинку сульфату покращувало антиоксидантний захист та стан травного тракту [141], зокрема підшлункової залози і секрецію інсуліну [142]. Використання хелатів міді в експерименті дозволило подолати стійкість ракових клітин до хіміотерапії завдяки «перепрограмуванню» макрофагів, що, в свою чергу, сприяло покращанню роботи Т-клітин та підвищенню протипухлинної активності Т-хелперів і врешті-решт зменшенню росту пухлини [143].

Показана також ефективність хелатних сполук кальцію в попередженні розвитку остеопорозу у жінок в постменопаузальний період [144].

Велика кількість робіт присвячена вивченню можливості використання хелатів заліза в лікуванні залізодефіцитних анемії, наприклад, у пацієнтів з онкологічними захворюваннями, у жінок в пременопаузальний період і навіть у

дітей та вагітних жінок [145, 146, 147, 148, 149]. В усіх випадках хелатні сполуки виявились ефективнішими за звичайні солі заліза (заліза сульфат), але крім цього, для досягнення позитивного ефекту знадобилась у 2–3 рази нижча доза (в перерахунку на атомарне залізо) [146]. Також прийом хелатів супроводжувався значно меншою кількістю побічних явищ (в першу чергу з боку травного тракту) порівняно із таким у разі застосування заліза сульфату [145, 146, 149].

В аналізі літератури, проведеному H.D. Ashmead (2001), було зроблено висновок, що поряд із підвищеною біодоступністю хелатів заліза в слизовій оболонці існує механізм, який регулює кількість поглинутого заліза залежно від його концентрації в плазмі крові. Тобто, чим вище значення гемоглобіну, тим менше заліза всмоктується. Автор робить висновок, що хелатні сполуки є не лише ефективними, але й безпечнішими [150].

Особливої уваги заслуговують роботи з використання хелатних сполук магнію. Так, ще у 1951 р. А. Роровісі та ін. повідомили, що інфузія навіть невеликої кількості магнію (10–15 мг) у вигляді хелатної сполуки пацієнтам з гіпертонічною хворобою сприяла зниженню артеріального тиску (АТ), яке тривало від 2 до 6 тижнів. У той же час внутрішньовенне введення магнію сульфату потребувало набагато більшої кількості магнію для досягнення такого самого гіпотензивного ефекту, а крім того, зниження АТ було нетривалим [151]. Керуючись результатами цієї роботи, в 1961 р. H.G. Kelly та ін. порівняли вплив хелатної і нехелатної сполуки магнію не лише на АТ, але й на ниркову гемодинаміку. Автори показали, що використання хелату дозволяло досягти гіпотензивного ефекту у пацієнтів з гіпертонічною хворобою при введенні магнію у дозі не вище 400 мг, ніж при використанні магнію сульфату (до 1,5 г). Більше того, незважаючи на зниження системного АТ навіть у нормотензивних пацієнтів введення хелату практично не зменшувало нирковий плазмотік і швидкість клубочкової фільтрації. Також, на відміну від сульфату, при введенні хелату не підвищувалась екскреція хлоридів із сечею [152].

Значною проблемою в клінічній практиці залишається біодоступність пероральних форм лікарських препаратів. Ситуація ще більше погіршується за відсутності у пацієнта частини травного тракту внаслідок резекції. Так, відомо, що всмоктування магнію відбувається в клубовій кишці і у разі її резекції може значно зменшитись його надходження в організм. Однак хелати магнію здатні всмоктуватись в проксимальних відділах тонкої кишки і, таким чином, поповнювати його запаси в організмі. Так, в подвійному сліпому рандомізованому перехресному дослідженні показано, що у пацієнтів після резекції клубової кишки поглинання магнію значно знижувалось. Проте його засвоюваність із хелатної сполуки була значно більшою, ніж з магнію оксиду (23,5% проти 11,8%; $p < 0,05$), причому ефективність хелату зростала при збільшенні порушень абсорбції. Також при використанні магнію хелату на 3 год раніше досягався максимум в крові і відмічалась краща переносимість препарату. Автори припускають, що такий ефект хелатної сполуки можливий завдяки використанню спеціальних транспортних систем ентероцитів, які дозволяють максимально легко потрапляти хелатам в кров без попередньої обробки в травному тракті [153]. Використання магнію хелату у жінок у II триместрі вагітності дозволило не лише ефективно знизити частоту судом нижніх кінцівок (60,5% проти 86,0% в групі плацебо; $p = 0,007$) та їх інтенсивність (48,8 % проти 69,8 % в групі плацебо; $p = 0,048$) [154]. Але й не мало відмінностей у частоті побічних ефектів (нудота, діарея) порівняно з плацебо. Таким чином, хелатні сполуки займають чільне місце в сучасній медичній практиці. Їх висока біодоступність є вирішальним чинником у виборі лікарського засобу у пацієнтів з порушенням абсорбції (резекція чи патологія кишечника, літній вік тощо). Ефективність хелатів доведена цілою низкою експериментальних та клінічних досліджень, а також вони є набагато безпечнішими порівняно зі звичайними солями металів. Отже використання хелатних сполук дозволить покращити якість лікування пацієнтів та зменшити кількість побічних явищ. Використання наноаквахелатних сполук, колоїдних розчинів, нанодисперсних порошків, аквананохелатів тощо також не оминувало

ветеринарну сферу. Застосування кормових добавок «Биоплекс Цинк» та «Биоплекс Медь», на основі органічних хелатних сполук Цинку, Купруму та протеїнів, знайшли практичне застосування у птахівництві. За використання цинку та купруму покращується засвоєння, обміну поживних речовин корму, підвищення вмісту гемоглобіну, концентрації загального білку в сироватці крові, підвищення продуктивності та збереженості поголів'я курчат-бройлерів і позитивно впливає на якість м'яса [212].

За даними В.О. Бусол та ін. [213] збагачення основного раціону курчат-бройлерів нанокарбоксилатної форми Германію та Феруму спричиняє достовірне підвищення в сироватці крові загального білку та альбумінів і зниження активності АсАТ за відсутності змін у гематологічних показниках курчат.

Згідно даних Н. А. Кочеткової [214, 215], збагачення раціону курчат-бройлерів хелатним комплексом Феруму, Мангану, Цинку та Кобальту з лимонною кислотою, позитивно впливає на збереженість поголів'я, якість продукції, прирости живої маси й вихід готової продукції. У м'язах курчат покращується ліпідний склад та підвищується концентрація жиророзчинних вітамінів А і Е, мікроелементів Феруму, Мангану, Цинку та Кобальту.

Іншими науковцями встановлено, що у разі використання в раціоні курчат-бройлерів хелатного нутрієвтика «Хелатон» і цитрату кальцію в організмі птиці підвищується обмін речовин, а, отже, збільшується вихід їстівних частин тушки та покращується якість м'яса [216].

Зарубіжні науковці, протягом останнього десятиріччя, активно досліджують вплив наносрібла, як нутрієвтиків різних способів виготовлення. Дослідники наголошують на його позитивний вплив на організм в надзвичайно малих концентраціях. Автори дослідили їх вплив на клінічний стан, різні системи організму, технологічні показники, якість і безпечність продуктів забою курчат-бройлерів. Доведено, що наночастки срібла різних форм сприяють підвищенню приростів, покращенню клінічного стану, в першу чергу, за рахунок антимікробної дії [217–222].

Сененко Є. О. зі співавт. [223–225] провели ряд досліджень щодо впливу цитрату наносрібла на продуктивність курчат-бройлерів, безпечність і якість продуктів їх забою. Авторами доведено, що цитрат наносрібла в дозі 2500 мкг/дм³ води позитивно впливає на прирости живої маси, приводить до достовірного підвищення вмісту вітамінів А, В6, і мінеральних сполук в м'ясі курчат-бройлерів.

Застосування 1 %-го колоїдного розчину наночастинок срібла, під час вирощування курчат-бройлерів, позитивно впливає на збереженість поголів'я, конверсію корму, вихід їстівних частин тушки птиці. Також виявлена бактерицидна дія колоїдного розчину наночастинок срібла на умовно-патогенні мікроорганізми товстого відділу кишечника курчат-бройлерів [226–228].

Збагачення раціону курчат-бройлерів наномікроелементним нутріцевтиком «Мікростимулін», в склад якого входять Купрум, Кобальт, Магній, Цинк, Аргентум, Германій у нанорозмірах, не спричиняє негативного впливу на клінічний стан і макроструктуру продуктів забою. А також, за даними Г.А. Фотіної [211], мікростимулін можна застосовувати з профілактичною метою за асоційованого перебігу ешерихіозу та мікоплазмозу. Крім того, застосування препарату підвищує живу масу бройлерів у 36-денному віці на 9,3 %, а збереженість – на 1,4 %.

За даними Л.В. Бусол [229–231] та О.М. Якубчак [232], застосування нанокompозиту порошку феромагнетика, термохімічного способу виготовлення в дозі 1 мг/кг комбікорму для курчат-бройлерів позитивно впливає на приріст живої маси, обмінні процеси в організмі птиці та покращення ветеринарно-санітарних показників продуктів забою: органолептичних, мікроскопічних, біохімічних, бактеріологічних, а також харчової та біологічної цінності м'яса.

Отже, застосування нанотехнологій у ветеринарній та гуманній медицині є великою перспективою у подоланні бактеріальних збудників хвороб птиці та підвищенням продуктивності і загальної маси організму бройлерів без використання стимуляторів росту.

Бактерицидні властивості нанометалів. Бактерицидна дія срібла залежить не тільки від унікальних властивостей проникнення в клітину наночастинок метала, але від розмірів застосовуваної дози. Нещодавнє дослідження Shahid Ullahkhan Tawfik A Saleh про вплив AgNP на *E.coli* та *S. aureus* в розмірі 13,4 нм показує дію зменшення розміру не тільки кількості бактеріальних клітин, а й самих часток (6,6 нм) при застосуванні в дозі 33 мкг/мл відповідно.[161] За розміру часток 16 нм на дію *E. coli* спостерігали характерну здатність пригнічувати обмінні процеси структурних одиниць бактеріальних клітин, що перешкоджає їм розмножуватися, внаслідок чого, клітина гине і доза концентрації препарату при цьому становить 60 мкг/мл [162]

Встановлено, що 1 нм наночастинки відповідає величині 10 атомів водню, розмір бактерії – кільком сотням нанометрів, а розміри багатьох вірусів – 10 нм. Спіраль молекули ДНК, як і білкова молекула, переважно становить 1 нм [208, 209, 210].

Завдяки антимікробним та протизапальним властивостям AgNP (наночастинки срібла, наносрібло) застосовується в медицині. Початкові дослідження застосування в лікуванні ран мали припущення в тому, що прискорення загоєння ран у присутності наночастинок зумовлене зменшенням активності локальної матриці металопротеїнази та збільшенням апоптозу нейтрофілів всередині рани. Останні дані свідчать про те, що наносрібло володіє сильним протизапальним ефектом і прискорює загоєння ран [163–166].

Срібло, в якості антибактеріального засобу, використовувалося протягом всієї історії, починаючи від золотої ери Греції. Гіппократ та Креда успішно застосовували срібло для лікування виразок та гонококкових інфекцій у новонароджених. Срібний сульфадіазин є золотим стандартом для місцевого лікування пацієнтів з опіками [194]. Відродження інтересу до срібла та наносрібла було мотивовано виникненням нестримних бактерій, стійких до антибіотиків, і посиленням поширеності стаціонарних бактеріальних інфекцій. Використання срібла суттєво обмежується токсичністю його іонів для людини;

однак нанотехнології сприяли виробництву більш дрібних частинок срібла із все більш великими співвідношеннями між поверхнею та об'ємом, більшою ефективністю проти бактерій і, найголовніше, меншою токсичністю для людей [168, 169].

Нанокристалічні пов'язки зі сріблом були комерційно доступні протягом десяти років (наприклад, Acticoat TM) і використовувалися для лікування різних ран, включаючи опіки, токсичні епідермальні некрози, синдром Стівенса-Джонсона, хронічні виразки [174, 169, 170, 171, 172, 173]. Типові пов'язки складались з двох шарів поліетиленової сітки, що утворювала сендвіч навколо шару поліефірної марлі. Типові нанокристалічні покриття товщиною 900 нм з розміром кристаліту 10–15 нм (через розмір мали високу активність завдяки відносному збільшенню поверхні контакту) [195, 196]

Shameli et al. повідомляли про розмірний бактерицидний потенціал різноманітних AgNP, застосовуваних проти бактерій *S. aureus* і *S. typhimurium*, за допомогою дифузійного методу було встановлено, що AgNP є ефективним та викликає значне пригнічення обох штамів. Вони резюмували, що бактерицидний потенціал AgNP може бути налаштований шляхом регулювання розміру наночастинок, оскільки малі частки мають порівняно більшу площу поверхні контакту, ніж більші частинки. Фактори, що впливають на активність AgNP (розмір, форма, концентрація, ультрафіолетове випромінювання та комбінація з різними антибіотиками) слід враховувати під час процесів підготовки та лікарських застосувань AgNP [177].

Аналогічно, дослідження Рахмана, Гада та ін. вчених, показали біоцидний потенціал AgNP, який було визначено на 27223 зразках з використанням у формі плівки із срібним біонокомпозитом, розміром менше 20 нм, на культури *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* та *M. luteus*. Ці срібні композити демонстрували задовільні антибактеріальні властивості [178]. В експерименті з розміром наночастинок (20, 18 та 15 нм) срібла результати показали, що вони всі активні проти різних штамів бактерій [156, 158].

В іншому дослідженні срібло розміром від 5 до 30 нм застосовували у вигляді штучно синтезованої біокомпозиції розчину срібла у порівнянні з неочищеним водним розчином екстракту алоє, який тестували проти різних бактеріальних патогенів, таких як ентерококи spp., *B. cereus*, *Shigella spp.*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* та *E. coli*. Було виявлено, що біосинтезовані AgNP мають здатність посилювати антимікробну активність у порівнянні з неочищеним водним екстрактом алоє [179].

Наночастинки передбачають сферичну геометрію і часто агрегують у дрібні частки з досить однорідним розміром 12,50–41,90 нм. Ці AgNPs показали антибактеріальну властивість проти різних штамів бактерій. Згодом вони були більш ефективними щодо *E. coli* та *K. pneumoniae*, ніж проти *E. faecalis* і *S. mutans*. Ця диференціальна активність, можливо, може бути пов'язана з різницею структури стінки бактеріальної клітини [180]. Також є дані щодо поєднання наносрібла з антибіотиками. Результати цього показали, що ефективність антибіотиків була поліпшена в присутності AgNPs проти тестових штамів. Ефективність AgNP була більш виражена з ампіциліном проти грамнегативних бактерій *S. flexneri* та, *P. aeruginosa* та ванкоміцину проти грампозитивних бактерій *S. pneumoniae* і *S. aureus*. Ці результати дозволяють припустити, що AgNP можна використовувати як ад'ювант для лікування різних інфекційних захворювань, спричинених бактеріями [155].

AgNPs, синтезований за зеленим способом (екстракти рослин алоє), та його антибактеріальні властивості вивчали методом дифузії. Концентрацію AgNP змінювали від 25, 50, 75 до 100 мкг/мл. Найвища ефективність AgNP була виявлена проти *S. aureus* (23 мм) та *E. coli* (28 мм). Помірна активність була отримана проти сальмонельозного тифу (18 мм), за яким слідували *M. luteus* (15 мм) та *P. aeruginosa* (13 мм) [157]. Розміри часток 26 нм, як повідомляють, є ефективними проти *E. faecalis* CCM 4224, *S. aureus* CCM 3953, *E. coli* CCM 3954 і *P. aeruginosa* CCM 3955. Модифікована антибактеріальна активність наночастинок срібла значно покращилася, як підтверджують значення мінімальної інгібуючої концентрації в межах від 6,75 до 0,84 мкг/мл [181]. У

іншому дослідженні звертали увагу на вплив розмірів наночасток, температури інкубування та pH на ріст та розвиток бактерій. В результаті цього пригнічення тест-культур *E. coli* та *S. aureus* не залежали від pH та температури. Наступні дослідження щодо впливу біологічно синтезованого срібла на грампозитивні (резистентні і нерезистентні до метициліну штами *S. aureus*) та грамнегативні мікроорганізми (*E. coli*, *E. coli* O157: H7 і *K. pneumoniae*) тестували за методом дифузії в агар, використовуючи при цьому агар Мюллера–Хінтона. Більш дрібні AgNP проявляли значно вищу антибактеріальну активність [182].

Досить цікаві дослідження були проведені із застосуванням кремкових формул AgNP і AgNO₃ та визначення їх антибактеріальної активності на збудниках кількох бактеріальних хвороб людини (*S. aureus*, *P. vulgaris*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та *C. albicans*), а також збуднику *A. tumefaciens* у рослин. Антимікробними дослідженнями було визначено, найбільший більш інгібуючий ефект порівняно з AgNO₃ (в 200 разів) має AgNPs. AgNP діють на клітинну мембрану *E. coli*, пошкоджуючи її, що підтверджено дослідженням SEM [183]. Екстракти AgNP мали здатність посилювати антибактеріальну активність по відношенню до всіх досліджених штамів порівняно з екстрактами. AgNP були більш бактерицидними у рідині, ніж у твердому середовищі, ймовірно, через кращий контакт з бактеріальними клітинами в рідкому стані. Максимальна зона гальмування становила 19 мм для *P. aeruginosa* (ATCC278223) та 18 мм для штучних наночастинок на *S. flexneri* (ATCC12022) для наночастинок листя (екстракт вербени, алое, шпинату). Мінімальна зона гальмування складала 7 мм для обох наночастинок екстрагованих та штучно синтезованих на культуру *S. typhi* (ATCC19430) і *S. typhimurium* (ATCC14028) відповідно. Екстракт листя *Lantana camara* (Лантана камара) та листя шпинату використовуються для біосинтезу AgNP. Ці наночастинки володіли, як каталітичними та антибактеріальними властивостями. Біосинтезоване наносрібло має чудовий потенціал проти досліджених штамів, включаючи *E. coli*, *Pseudomonas spp.*, *Bacillus spp.* та *Staphylococcus spp.* Ці наночастинки мали сильний бактерицидний потенціал та добру каталітичну властивість, що зробило його

основним компонентом для виготовлення метиленової синьки [159–160] У 2008 році Kim і співавтори показали потенціал AgNP щодо 44 штамів із шести видів грибів: *C. tropicalis*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* та *T. mentagrophytes*. Біологічно синтезоване наносрібло виявилось активним проти різних штамів *T.mentagrophytes* і *Candida spp* [168].

Цікавими були дослідження щодо впливу наносрібла на збудники грибкових хвороб рослин та тварин. Зокрема, Velluti et. al. встановили, що наносрібні комплекси [Ag₂ (SMX) 2] активні відносно 10 штамів грибів, а саме *C. tropicalis* (C 131), *C. albicans* (ATCC 10231), *C. neoformans* (ATCC 32264), *S. cerevisiae* (ATCC 9763), *A. fumigatus* (ATCC 26934), *A. flavus* (ATCC 9170), *A. niger* (ATCC 9029), дерматофіти, включаючи трихофітон C 113), *T. mentagrophytes* (ATCC 9972) і *M. gypseum* (C 115) [184].

Фунгіцидний потенціал AgNPs проти *S. cerevisiae* і *C. albicans* також вивчали Nasrollahi та ін. [190]. Їх результати були продуктивними, що підтвердило відмінний потенціал AgNP у порівнянні зі стандартними протигрибковими засобами (а саме, флуконазолом та амфотерицином В). Gajbhiye et. al. повідомляли про ефективність біогенних AgNPs проти *P. herbarum*, *P. glomerata*, *F. semitectum*, *Trichoderma spp.* та *C. albicans*. А також про синергетичний ефект AgNP у зв'язку з флуконазолом [185].

У 2009 році Джо та ін. показали протигрибковий потенціал іонів та наночастинок срібла щодо двох рослинних патогенних грибів: *M.grisea* та *B. sorokiniana*. Вивчено фунгіцидний потенціал AgNPs у поєднанні з різними гетероциклічними сполуками, такими як: фталазин, тіазолідин, гідразид, піразоло, тетразоло та піридазин, щодо *C. albicans* та *A. flavus*, і виявили, що AgNP має значну фунгіцидну активність проти протестованих організмів [186].

У 2012 році Arjun та Bholay також продемонстрували значну ефективність AgNPs проти *T. rubrum*, *C. albicans*, і *A. fumigatus*[192]. Нещодавно для вивчення протигрибкової активності AgNP були відібрані шість грибкових видів: *P. brevicompactum*, *A. fumigatus*, *M. alpina*, *C. cladosporoides*, *C. globosum* та *S. chartarum*. Темпи зростання всіх досліджених грибкових видів, крім видів

Mortierella, зазнали впливу додавання AgNP, що спричинило обмеження розповсюдження видів *Chaetomium* і *Stachybotrys* на продуктах гіпсу. Кожен грибок демонстрував чітко відповідну реакцію при застосованні AgNP в залежності від концентрації та швидкості викидів іонів Ag у навколишнє середовище [187]. У 2010 році Дейдев та Нарасімха показали протигрибкову та антибактеріальну дію наносрібла до *A. niger* *Staphylococcus spp.*, *E. coli*, *Bacillus spp.* Ними було зазначено, що наносрібло має відмінні інгібуючі властивості проти *A. niger* що підтверджує максимальну активність у порівнянні з *Bacillus spp.* (0,8 см), *Staphylococcus spp.* (0,9 см) і *E. coli* (0,8 см) [189]. Синтез AgNP використовуючи інший екстракт лікарських рослин *S. buggaia*, *B. ovalifoliolata* та *S. hyderabadensis*, вивчали Savitramma та ін. [191].

Для оцінки їх протигрибкової активності проти *A. niger*, *Curvularia spp.*, *A. flavus*, *Fusarium spp.* та *Rhizopus spp.* Результати підтвердили, що всі біогенні AgNPs показали значну протигрибкову активність проти різних грибкових штамів. AgNP, синтезовані з *S. hyderabadensis*, виявляли вищу активність порівняно з AgNPs, синтезованими з використанням двох інших рослин.

Дослідженнями бактеріальних хвороб у людини, а саме важкого кератиту Xu et al було визначено позитивна дія наносрібла і натамицину проти 216 штамів грибів у хворих. Вони включали 82 ізоляти *Aspergillus*, 112 – *Fusarium* та 10 – *Alternaria*. Результати показали, що AgNPs мали вищу активність у порівнянні з нанамицином [193]. Дар і ін. вивчали біоцидний потенціал AgNP, що були синтезовані з *Cryphonectria spp.* проти *S. typhi*, *E. coli*, *S. aureus* і *C. albicans*, і зробили висновок, що AgNP можуть бути використані як потенційні протигрибкові засоби [188]

1.5 Висновок з огляду літератури

Провівши аналіз літературних джерел можемо сказати, що бактеріальні хвороби досить поширені в усьому світі. Але головною проблемою на сьогодні є пристосованість бактерій до умов навколишнього середовища, зокрема

швидке набуття резистентності та здатність до асоційованого перебігу. Серед цих хвороб провідне місце в етіологічній структурі займають мікроорганізми кишкової групи, які представлені ешерихіями та сальмонелами в асоціаціях з іншими видами умовно-патогенних бактерій. Наслідком цього є розвиток бактеріальних інфекцій, які різко знижують резистентність птиці порівняно з моноінфекціями та негативно впливають на імунобіологічну реактивність організму і залишаються основною причиною загибелі птиці. Окремою проблемою залишається і контамінація бактеріальними збудниками різних об'єктів, зокрема кормів, обладнання, продуктів харчування та сировини, що в подальшому сприяє безперервному поширенню захворювань.

За останні 10 років лікарі різних напрямків (гастроентерологи, мікробіологи, імунологи) звертають увагу на поширення і вплив на організм патогенної кишкової палички, а також автохтонної облігатної мікрофлори, необхідної для нормальної життєдіяльності організму, так і до здатності викликати інфекційно-запальні захворювання кишечника та екстраентеральні гнійно-запальні процеси. Загальноприйнятим методом профілактики бактеріальних хвороб на даному етапі є застосування антимікробних [препаратів](#), які пригнічують життєдіяльність збудника інфекційної хвороби в результаті пригнічення ДНК-гінази та b-лактамаз що призводить до бактерицидного ефекту. Однак, прогресивне зростання антибіотикорезистентності мікроорганізмів до антибіотиків все ще залишається актуальною темою через постійний пошук нових дієвих препаратів, та їх удосконалення залишається одним із головних напрямів сучасної ветеринарної медицини.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Роботу проводили за період з 2015–2018 рр. в умовах лабораторії інноваційних технологій та безпеки і якості продуктів тваринництва кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету. Окремі фрагменти були виконанні на базі науково-контрольної лабораторії НВФ (науково виробнича фірма) «Бровафарма»; лабораторії молекулярної епізоотології та діагностики сектору вивчення мікоплазмозів та сальмонельозів відділу з вивчення хвороб птиці Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» міста Харкова; а також в умовах птахогосподарств з різними технологічними напрямками Сумської області.

Для проведення досліджень використовували:

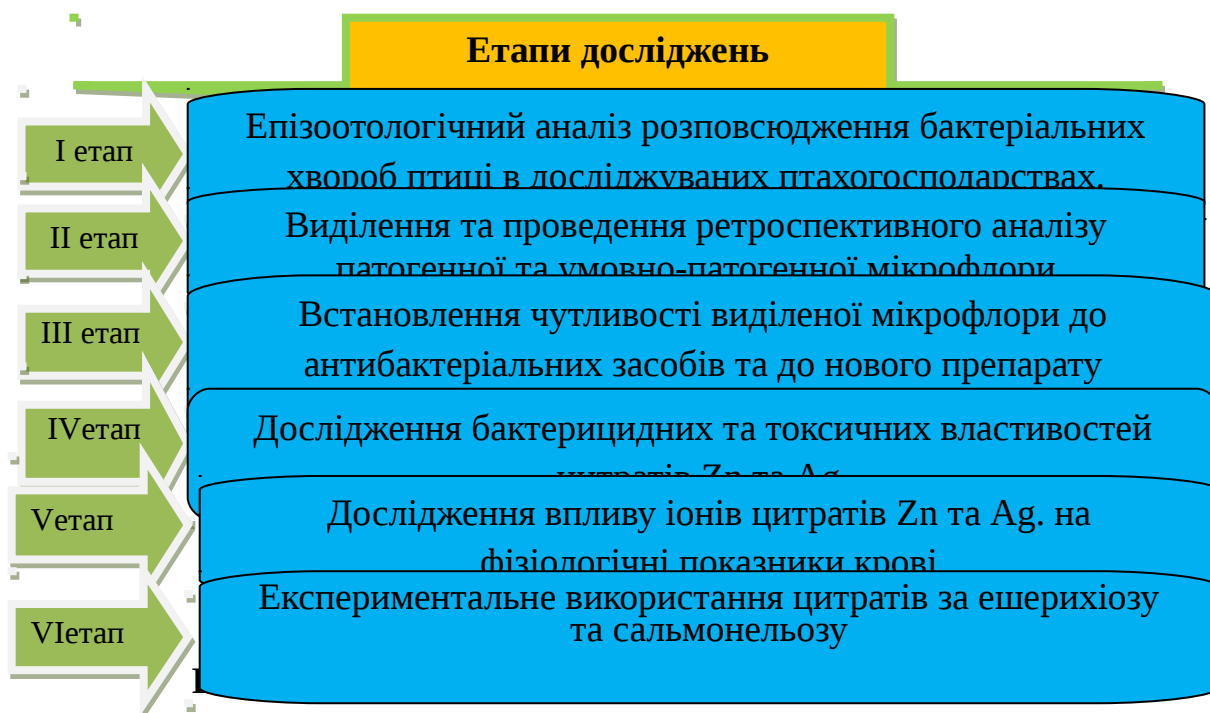
- патологічний матеріал від загиблої різновікової птиці.
- зразки корму, води та змиви зі стін, підлоги, кліток та шаф брудера.
- культури виділених патогенних мікроорганізмів під час досліджень у птахогосподарствах

Для виділення та ідентифікації мікроорганізмів традиційними методами використовували наступні поживні середовища: м'ясо-пептонний бульйон (МПБ); 2 %-й м'ясо-пептонний агар (МПА); вісмут сульфідний агар або магнієве середовище; бульйонний агар Хоттінгера; середовище Кітта-Тароцці; агар Сабуро; середовище Чапика; середовище Кода.

Для мікробіологічного моніторингу використовували тест-системи фірми R-biopharm, а саме:

- *Compact Dry EC*
- *Compact Dry SL*
- *RIDA®STAMP S. aureus*
- *RIDA®STAMP Staph*
- *RIDA®STAMP Pseudomonas*

Для вирішення поставлених завдань та глибшого розкриття теми роботи нами розроблено загальну схему постановки експериментів (рис.2.1).



Тварини Всі роботи виконувались відповідно до вимог «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з Положенням «Про захист тварин від жорстокого поводження»;

Положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985); «Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» від 16.03.2012 р.[197].

Етап №1 Епізоотологічний аналіз розповсюдження бактеріальних хвороб птиці в досліджуваних птахогосподарствах

Для встановлення епізоотичної ситуації розповсюдження бактеріальних хвороб птиці враховували матеріали власних досліджень і дані ветеринарної звітності лабораторій Сумської, Чернігівської та Харківської областей північно-східного регіону України. При цьому враховували географічне розташування птахівничих господарств, технологічний напрямок, видову належність ізольованих культур, їх кількість, вік птиці, від якої була ізольована мікрофлора

на основі даних епізоотологічного обстеження паталогогосподарств, щодо наявності захворювань бактеріальної етіології (ешерихіозу та сальмонельозу) було сформовано дослідні групи різновікової птиці за вище перерахованими показниками (1–10, 10–60, 100–160 діб) та складено таблиці, графіки для обробки даних. В лабораторних дослідах було використано 440–курських ембріонів, 270 шт. інкубаційних яєць, 440 голів одностовових курчат, 440 голів 160– добових курей, 240 гол. щурів вагою 100 г та 10 голів мурчаків.

В умовах господарств ТОВ «Сумитехнокорм» та ТОВ «Інкубатор» було використано понад 12000 голів ремонтного молодняку (72 доб) та 13000 голів курчат-бройлерів та 320 проб змивів з підлоги – 55, стін – 55, кліток – 55, вивідних шаф брудера – 70 та 85 – інкубаційних яєць. Також досліджували повітря пташників неменше ніж в 3–ох точках $\times 100 \text{ см}^3$ проби корму та води.

Етап №2 Виділення та проведення ретроспективного аналізу патогенної та умовно-патогенної мікрофлори пташників

Для вивчення мікрофлори повітряного середовища приміщень інкубаторію, інкубаційних та вивідних шафах проводили відбір проб змивів. Відбір проб повітря проводили методом седиментації, в трьох точках приміщення на чашки Петрі з МПА і середовищем Ендо (по три чашки кожного середовища в кожній з точок) [198]. В інкубаційних та вивідних залах чашки Петрі із поживними середовищами (МПА, агар Ендо, 5 % КА, агар Сабуро) встановлювали у вивідні та інкубаційні шафи на 3–х рівнях (верх, середина, низ) з експозицією 10 хвилин. Збір даних досліджень повторювали у момент досягнення 10–15 % виводу, на 19 добу інкубації та наприкінці виводу. При відключенні механізмів у момент експонування чашок, вентиляцію вивідних шаф відключали, двері шаф щільно зачиняли. Критеріями оцінки мікробіологічного стану повітря замкнених приміщень – було загальне мікробне число (ЗМЧ), тобто кількість бактерій, що вирости при посіві на поверхню в перерахунку на 1 м^2 поживного агару. Висіви інкубували 48 годин: 24 години за температури 37°C і 24 години за 20°C . Чашки Петрі з агаром Сабуро витримували у термостаті 48 годин за

температури 22 °С. Підрахунок вели в тих чашках, де було не більше 300 Колоній.

Отримані результати перемножували та визначали кількість мікроорганізмів в 1 грамі проби [199]. Загальну бактеріальну забрудненість визначали показником КУО (колоніє утворюючих одиниць), які характеризують кількість колоній мезофільних аеробних и факультативно – анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ), на рідких поживних середовищах при посіві 1 см³ та при культивуванні протягом 24 – 48 год за температури 36 – 37 °С [198]. Кількість клітин в 1 см³ визначали за формулою:

$$M = a \times 10^n / V, \text{ де}$$

M – кількість клітин в 1 см³;

a – середня кількість колоній конкретного розведення;

V – об'єм суспензії, взятої для посіву (см³);

10ⁿ – коефіцієнт розведення.

Для мікробіологічного моніторингу використовували тест-системи фірми *R-biopharm*, а саме *Compact Dry* та *RIDA®STAMP*, які прості та легкі у використанні, що являють собою сухе хроматогенне середовище з нетканим матеріалом на дні чашки для швидкої дифузії досліджуваного матеріалу. Завдяки наявності хроматогенного субстрату колонії фарбуються у відповідний колір, що дає можливість точно ідентифікувати видову та родову приналежність.

Для виявлення наявності представників родини *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, використовували тест-системи *CompactDry EC*, *Compact Dry SL*, *RIDA®STAMP S. aureus*, *RIDA®STAMP Staph*, *RIDA®STAMP Pseudomonas*

Засіяні чашки з досліджуваним матеріалом поміщали у термостат за температури інкубування 35 ± 2°С на 24–48 год. Результати зчитували візуально; ріст колоній спостерігали в усіх чашках досліджуваних тест-систем, які мали характерний колір видової приналежності. При виявленні *E. coli* колонії

мали блакитний колір, а *coliforms* – червоний, *Salmonella* – від фіолетового до жовтого завдяки своїм властивостям розчиняти лізинкарбоксілазу.

Серотипування сальмонел та ешерихій проводили методом латексної аглютинації (використовували кольоровий латекс, що аглютинує різні серогрупи) за допомогою тест-системи SPECTATE®.

Виділення *Escherichia coli* та *Salmonella spp.* Застосовували загально прийняті методи виявлення та визначення кількості бактерій виду *Escherichia coli* (ГОСТ 30726–2001.IDT) [200] та *Salmonella spp.* (ДСТУ ISO 6579:2006) [201]. Вони базувалися на висіві дослідного матеріалу на прості, селективні та диференційно-діагностичні поживні середовища.

Ідентифікацію ізолюваних культур бактерій сальмонельозної групи проводили методом послідовного збагачення. Матеріал відбирали у колбу з магнієвим середовищем у співвідношенні 1:5 після чого ставили, інкубували у термостаті за температури 37 ($\pm 0,5$) °C. Через 18–24 години проводили висіви у бактеріологічні чашки з вісмут-сульфідним агаром. Після 16-ти годинного утримання у термостаті проводили повторні висіви на вісмут-сульфідний агар. Контроль за чашками з посівом вели через 16, 24 та 48 годин. Морфологію відібраних культур вивчали в мазках, які фарбували за Грамом, на рухливість – у висячій краплі.

Культури ешерихій ізолювали за схемою: змиви, з яєць, стін, підлоги та обладнання пташника, поміщали у колбу з 50 мл стерильного фізіологічного розчину, встановлювали на бутель-апарат на 30 хвилин. З отриманої суміші готували розведення від 1:100 до 1:10000000. Потім кожне розведення вносили у пробірки з середовищем Кода, які поміщали у термостат і через 24 години продивлялись. За титр кишкової палички приймали найбільше розведення, в якому відмічали ріст культури. Після чого проводили висіви на щільні диференційно-діагностичні поживні середовища (Ендо, Левіна). Характерні колонії пересівали на МПА і витримували у термостаті за температури 37°C протягом 24 годин. Після цього частину культур використовували для виготовлення мазків-відбитків, пересівів на

диференційно-діагностичні середовища, інфікування лабораторних тварин та серотипування бактерій.

З нових методів виділення сальмонел та ешерихій використовували тест-системи *Compact Dry*, *Rida®Stamp RIDACREEN®Salmonella AFNOR RBP 31/01–06/08*, при цьому процес дослідження відбувався в такій послідовності :

- проби кісткового та головного мозку, серця, печінки, жовчного міхура, м'язів та інших органів висівали на середовище *Compact Dry* та *Rida®Stamp*. Перед висівом поверхню внутрішніх органів, м'язів припікали розпеченим шпателем, стегнову кістку розрізали стерильними ножицями, а поверхню розрізу фламбували. Окремо робили змиви з поверхні стін, кліток, шаф брудера та інкубаційних яєць за допомогою 9%-го стерильного фізіологічного розчину з подальшим використанням середовища *Compact Dry*. Сальмонела у присутності іонів заліза утворюється чорний осад сульфідів заліза, внаслідок чого всі колонії зафарбовуються у чорний колір повністю, або лише їх центр. Тому, через утворення кислоти агар може змінювати колір від пурпурового до жовто-бежевого. *Escherichia coli* завдяки поєднанню хромогенних субстратів X-GLUC та MAGENTA-GAL в агарі, характеризується ростом синіх або синьо-червоних колоній, тоді як всі інші коліформні бактерії утворюють червоно-фіолетові або червоні колонії.

Хромогенне середовище Compact Dry – середовища для оптимізованого виявлення і кількісного визначення бактерій роду *Salmonella* складаються з хромогенного субстрату з додаванням до їх складу антибіотика (новобіцину). Присутність сальмонели у зразку визначається комбінацією різних тест-принципів:

а) зміна кольору самого середовища з блакитно-фіолетового на жовтий за рахунок підлучнення середовища в результаті ферментативної (декарбоксилазної) активності;

б) формування зелених колоній за рахунок ферментативного розкладання хромогенного субстрату, присутнього в середовищі (чорні колонії формують сальмонели, які продукують сірководень);

в) наявність характерної рухливості сальмонели (колонії розташовуються подалі від точки інокуляції).

Під час визначення та підрахунку кількості сальмонел проводили попереднє неселективне збагачення 25 г зразків у 225 см³ ПЗВ протягом 18 год за температури 37 °С, після чого 0,1 мл отриманої суспензії переносили в 10 см³ селективного магнієвого середовища і витримували ще 18 годин за температури 37 °С. Після цього 1 см³ суспензії з магнієвого середовища вносили в центр чашки з агаром КЛД (ксилозолізидіоксихолатний агар) для того щоб одержати чіткі відокремлені колонії. Інкубацію середовищ здійснювали протягом 22(±2) год за температури 42 (±1) °С.

RIDACREEN®Salmonella AFNOR RBP 31/01–06/08– це надійний і зручний тест, який використовується для виявлення рухомих і нерухомих штамів сальмонели (таких як *S. pullorum-gallinarum*) після збагачення в бульйоні на одну ніч. Процедура складається з однієї спрощеної фази збагачення для підживлення культури. Антитіла в добре визначених і очищених лунках вибірково захоплюють сальмонели, які присутні в зразку. Додавання відповідного бульйону в лунки сприяє росту бактерій після інкубації за температури 34±2 °С протягом 4 год., потім до бульйону додають кон'юговані антитіла специфічні для *Salmonella*. Присутність сальмонели вказує на зміну кольору від жовтого до синього. Результати можуть бути прочитані візуально або за допомогою мікропланшетного зчитувача після додавання розчину Stopreagent, який зупиняє реакцію і перетворює колір з синього на жовтий. Вимірювання проводили фотометрично за допомогою ІФА рідера довжиною еталонної хвилі 450/620 нм. Зразок вважали позитивним, якщо значення абсорбції перевищувало порогове значення, яке розраховується для позитивних зразків за такими показниками: негативний контроль <0.150 OD; позитивний контроль ≥ 1000 OD; негативний контроль <0,185 OD; сумнівний контроль ≥ 0,185 - <0,200 OD; позитивний контроль ≥ 0.200 OD.

Виявлення бактерій роду *Proteus*. Готували ряд десятикратних розведень у пептонно-сольовому розчині. Кожну дослідну пробу в кількості 1,0 см³

висівали у пробірки з рідким селективним середовищем, потім інкубували за температури 37 °C протягом 48 год. При помутнінні селективного середовища проводили пересів на диференційно-діагностичне щільне середовище (лактозний агар з дезоксихолатом і цитратом) для виділення колоній. Витримували в термостаті протягом 48 год за температури 37 °C.

Хромогенне середовище *CompactDry*. Застосовували середовища для виявлення і кількісного визначення в досліджуваному зразку ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*), які містять модифікований жовчний агар із кристалічним фіолетовим та нейтральним червоним. На даному середовищі пригнічується ріст грам-позитивних бактерій. Ентеробактерії формують червоні або пурпурові (бордові) колонії. Для визначення та підрахунку кількості бактерій роду *Proteus* інкубацію середовищ проводили протягом 24 ± 3 год за температури 36 ± 1 °C.

Визначення збудників анаеробних інфекцій. Робили змиви з підлоги, стін, кліток та ін. обладнання забійного цеху поміщали у пробірки із середовищем Кітт-Тароцці, потім – висівали на молочне середовище та на чашки з агаром Цейслера. З метою знешкодження вегетативних форм по одній пробірці з рідким середовищем прогрівали 20 хвилин за температури 80 °C, після чого посіви витримували у термостаті за температури 37 °C. Чашки ставили в мікроанаеростат, з якого повітря висмоктували за допомогою вакуум-насосу. Результати висівів оцінювали через 24 години, а потім впродовж 10-ти діб. При виявленні росту культури на середовищі Кітт-Тароцці, проводили її мікроскопію. Культури, які вирости на середовищі Кітт-Тароцці пересівали на 2–3 чашки з кров'яним агаром, які витримували в анаеробних умовах за 37 °C і продивлялись через кожні 24 години. При наявності росту культури відбирали для подальшої їх ідентифікації за морфологічними та біохімічними властивостями.

З метою визначення кокової мікрофлори, проводили розведення відібраного матеріалу від 1:10 до 1:1000000. Після осідання частинок з верхнього шару рідини відбирали проби і висівали на чашки Петрі з 5%-им кров'яним МПА. Облік колоній проводили після інкубації у термостаті

протягом 48 годин за 37 °С. З метою ідентифікації збудників стрептококозу, отримані колонії висівали на молочне середовище з 0,002%–м розчином метиленового блакитного.

Ізоляцію грибків здійснювали на середовищах Сабуро, Чапека та МПА (рН-5,5 – 6,5). Родову ідентифікацію бактерій родини *Enterobacteriaceae* проводили, використовуючи визначник Берги [203]. Оцінку патогенності виділених культур визначали за гемолітичною активністю (стафілококи, синьогнійна паличка), лецитовітелазною активністю, за здатністю коагулювати плазму (стафілококи) та за допомогою біопроби на білих мишах і курчатах 30-добового віку. З метою визначення гемолітичних властивостей виділених культур використовували 5%-ний кров'яний агар. Культури засівали, інкубували за температури +37 °С і продивлялись через кожні 24 години. Зону гемолізу навколо колоній мікроорганізмів визначали в міліметрах від краю до краю.

Визначення патогенних властивостей виділених культур ентеробактерій вивчали на добових курчатах та віком 160 діб, а також курячих ембріонах. Курчат інфікували в дозі (10^8 мк/см³) мікробних клітин в об'ємі 1 мл очеревино. Для інфікування курячих ембріонів використовували добову бульйонну культуру ізольованих збудників у концентрації 500 тис. мікробних клітин в об'ємі 1 мл за стандартом мутності. Облік результатів проводили протягом 5-и діб. Загиблих курчат розтинали, вивчали патологоанатомічну картину і проводили висіви з внутрішніх органів та кісткового мозку на живильні середовища з метою повторної ізоляції культур. Птицю, яка залишилася живою, евтаназували і піддавали бактеріологічним дослідженням.

Серотипування сальмонел та ешерихій проводили методом латексної аглютинації (використовували кольоровий латекс, що аглютинує різні серогрупи) за допомогою тест-системи SPECTATE® та за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Для проведення ПЛР досліджень зразки відбирали у стерильні пластикові пробірки об'ємом 50 мл та поміщали їх до

індивідуальних зір-пакетів. Відібрані зразки піддавали первинному збагаченню у забуференій пептонній воді, яку в стерильних умовах шафи для біологічної безпеки додавали до пластикових пробірок із відібраними зразками.

Потім пробірки поміщали у термостат за температури $+37^{\circ}\text{C}$ на 24 години. Наступного дня проводили первинну ідентифікацію зразків за допомогою ПЛР. Для цього проби в стерильних умовах ламінарного боксу відбирали автоматичним дозатором у кількості 150 мкл в пластикові центрифужні пробірки об'ємом 1,5 мл. В такому вигляді проби доставлялися до боксу пробо-підготовки для молекулярно-генетичних досліджень ПЛР. Ізоляцію сумарної нуклеїнової кислоти проводили за допомогою комерційного набору фірми MACHEREY-NAGEL (Німеччина), що передбачало, згідно інструкції виробника, лізис за допомогою розчину гуанідинутіоціонату з додаванням протеїнази К, відмивання спиртами та ізолюванням генетичного матеріалу на мембрані мікроколонок із змінними нижніми тубами. Первинну ідентифікацію генетичного матеріалу сальмонел проводили за допомогою постановки полімеразної ланцюгової реакції із використанням комерційного тест-набору для ампліфікації виробництва фірми Thermo Fisher Scientific (США) та праймерними системами Salm_3/Salm_4, які є загальнородовими, тому повинні виявляти генетичний матеріал будь-якого представника роду *Salmonella*, які фланкують ділянку гену *invA* довжиною 385 п.н.; Styr_F/R для виявлення *S. typhimurium* фланкує ділянку гену флагеліну *fliC*, довжиною 433 п. н; GMP_1F/1R. *S. gallinarum-pullorum* - 97 п.н. Облік результатів ПЛР проводили за допомогою електрофорезу продуктів ампліфікації в 1,5 % агарозному гелі з використанням маркеру молекулярної маси з кроком 100 п.н. Із зразків, які за результатами ПЛР типування виявилися позитивними за наявністю генетичного матеріалу сальмонел, проводили висів для селективного збагачення на магнієве середовище з подальшим пересіванням на диференційно-діагностичні щільні середовища – агар Ендо та ВСА з подальшим відсівом на м'ясо-пептонний закошений агар із додаванням глюкози, лактози, сахарози, мальтози та маніту.

Етап №3 Встановлення чутливості виділеної мікрофлори до антибактеріальних засобів та нового препарату «Сарофлоск»

Чутливість до антибактеріальних препаратів визначали методом дифузії в агар з використанням дисків (ДДМ, які містять антибіотики) згідно з методичними вказівками «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». При визначенні чутливості ДДМ використовували стандартний інокулюм, що відповідає 0,5 за стандартом МакФарланда, тобто містить приблизно $1,5 \times 10^8$ КУО/см³. Стандартний інокулюм наносили піпеткою на поверхню чашки Петрі з поживним середовищем в об'ємі 1–2 см³, рівномірно розподіляли по поверхні похитуванням, надлишок інокулюма видаляли піпеткою. Відкриті чашки Петрі підсушували за кімнатної температури (18–20°C) протягом 10–15 хв.

На поверхню МПА наносили диски з АБП. Аплікацію дисків проводили за допомогою стерильного пінцета або автоматичного диспенсора. Відстань від диска до краю чашки і між дисками була 15–20 мм, тобто на одну чашку діаметром 100 мм поміщали не більше 6 дисків з АБП. Для рівномірного контактування з поверхнею агара, диски обережно притискали пінцетом [202]. Під час досліджень були використані АБП групи фторхінолонів (офлоксацин, гатіфлоксацин, енрофлоксацин, моксіфлоксацин, пефлоксацин, левофлоксацин), пеніцилінів (карбеницилін, ампеніцилін, амікоцин, гентаміцин, хлорамфеніколь), цефалоспоринів (цефтріаксон, цефотоксим, цефтазідім, цефепім, імепенем, меропенем). Чутливість виділених культур до препарату «Сарофлоск» визначали за рівнем його мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК), яку визначали методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі – м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ). Для інокуляції використовували стандартну мікробну суспензію, еквівалентну 0,5 за стандартом МакФарланда, розведену в рідкому поживному середовищі до концентрації 10^6 КУО/см³. По 0,5 см³ інокуляту вносили в кожну пробірку, яка містила 0,5 см³ відповідного розведення препарату «Сарофлоск» в одну пробірку поживного середовища без антибіотику (контроль активності росту

дослідженої культури). Необхідна кінцева концентрація мікроорганізму в кожній пробірці – $2,5 \times 10^5$ КУО/см³. За мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) досліджуваного препарату та його суміші у різному співвідношенні щодо до досліджуваних штамів бактерій брали концентрацію, яка викликала повну інгібіцію (прозорий бульйон) видимого росту, що визначало ступінь їх чутливості до антибіотиків у певному співвідношенні та розведенні.

Для визначення ступеня бактерицидної дії антибіотика та його суміші у різному співвідношенні із останніх прозорих пробірок проводили посів на агарове середовище. За мінімальну бактерицидну концентрацію (МБК) приймали найменшу концентрацію антибіотика в пробірці, посів із якої після інкубації не давав росту на агарі [263].

Етап №4 Дослідження бактерицидних та токсичних властивостей цитратів Zn та Ag

Цитрати – це сорбенти нового покоління, які вироблені ТОВ «ДОКТОР ОСКО» м. Суми. Склад даних препаратів містить цеоліт натуральний активований, цитрат срібла та цитрат цинку. Основою виступає цеоліт (клинотиліоліт) – природний мінерал, який використовується в медицині як селективний ентеросорбент. Властивості препарату: цеоліт корегує мінеральну недостатність і виконує транспортну функцію мікроелементів в організм та адсорбує токсичні речовини із організму підтримуючи при цьому природний баланс. Для збільшення присутності в цеолітах будь-якого макро- або мікроелемента, цеоліт піддається модифікації за спеціальною (запатентованою) технологією температурної дифузії. Дана технологія модифікації полягає в доповненні мінерального складу цеоліту іонами будь-яких макро- і мікроелементів (у формі цитратів), «поміщаючи» їх в структуру його каркаса.

Розчини Цитратів: Ag – дисперсний розчин в склад якого входить Ag 250 ± 25 г/дм³, лимонна кислота 0,01-0,05% та вода очищена; Zn – дисперсний розчин в склад якого входить Zn 250 ± 25 г/дм³ та лимонна кислота 0,01-0,05% та вода очищена

Визначення бактерицидних властивостей цитратів Ag та Zn вивчали за допомогою методу серійних розведень з використанням мікробної суспензії тест-культур *Escherichia coli* (сер.О2), *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, виробництва ТОВ ДП «Грінмаш» (м. Київ).

Досліджувані тест-культури вносили в дозі $0,2 \text{ см}^3$ у пробірки з розчинами іонів цитратів ($0,5 \text{ см}^3$). Для цього нами було сформовано 9 пробірок які містили дослідні зразки розчинів, а саме: 1) Ag; 2) шумерське срібло; 3) Zn; 4) Se; 5) Se+ Zn; 6) Ag + Au + Bi; 7) Ag + Zn; 8) Ag+Au; 9) контроль МПБ.

В кожену пробірку вносили пастерівською піпеткою по 0,5 мл. цитратів до яких було додано 0,2 мл досліджуваних тест-культур з наступним їх інкубуванням у термостаті протягом 24 год.

Після цього з кожної пробірки було зроблено пересів на МПБ, який поміщали у термостат в продовж 24 год. (помутніння МПБ спостерігали в пробірках 3 (срібло+ золото + вісмут) та 4 (срібло+золото) з наступним мазків по Грамму було знайдено палички *E. coli*.

Для визначення загального бактеріального обсіменіння, перед проведенням передінкубаційної обробки, досліджували бактеріальну контамінацію шкарлупи яєць, шляхом взяття змивів від кожної партії з наступним висівом на МПА та середовище Ендо (рис.2.2).



Рис. 2.2 Відбір змивів з поверхні шкарлупи досліджуваних яєць на

бактеріальну забрудненість.

Ріст патогенної мікрофлори відмічали в більшості відібраних зразків. Культура стафілокока була виділена в 67 % випадків, бактерії групи кишкових паличок – 75 %.

З метою встановлення бактерицидної дії цитратів, в якості дезінфекційної обробки курячих інкубаційних яєць, нами було проведено порівняльний аналіз цитратів Ag, шумерського срібла та Zn, з дезінфекційним засобом широкого спектру дії «Бі-дез», який використовується в птахівництві для дезінфекції. Для встановлення бактерицидної дії цитратів, для дезінфекційної обробки курячих інкубаційних яєць, було сформували 3 групи: 2 дослідні та 1 контрольна (досліджено по 20 яєць з кожної групи).

Обробку дезінфекційними засобами здійснювали аерозольним методом.

Дослідні групи:

№1 – поверхню шкаралупи яйця обробляли розчином цитратів срібла; №2 – розчином цитратів цинку. Контрольній групі застосовували 0,25 % робочий розчин препарату «Бі-дез», з експозицією 40 хв. Змиви з поверхні шкаралупи яєць для визначення загальної бактеріальної контамінації шкаралупи робили до обробки та після 24, 48, 72 годин,.

Визначення токсичності цитратів вивчали за допомогою гострої токсичності, шкірно-резорптивної дії та сенсibiliзуючої дії на слизові оболонки. Для визначення гострої токсичності цитратів Ag та Zn використовували лабораторних щурів, яким вводили препарати внутрішньошлунково в дозі 100, 150, 200, 250, 300 мг/кг. Летальну дозу (DL₅₀) розраховували за методикою Г. Першиним та Г. Кербером [232].

Шкірно-резорбтивну пробу здійснювали шляхом ушкодження поверхні шкіри піддослідних тварин. Дослідним щурам шкіру в контрольному і дослідному місці пошкоджували шляхом нанесення неглибоких подряпин у вигляді сітки.

Суміш цитратів Ag та Zn загальною концентрацією металів 15 г/см³ два рази на день наносили на досліджувану ділянку шкіри протягом 14 днів.

Контрольну ділянку шкіри аналогічно обробляли стерильним фізіологічним розчином натрію хлориду. При цьому звертали увагу на місцево подразнюючу дію, фізіологічний стан шкіри, наявність набряку шкіри та еритеми.

Дослідження сенсibiliзуючої дії на слизові оболонки очей проводили на мурчаках, яким цитрати закапували в кон'юнктивальний мішок лівого ока в кількості 2-х крапель (50 мкл), праве око було контрольним. За реакцією слизової оболонки повік та рогівки очей спостерігали 7 днів.

Для достовірності антитоксичної дії цитратів досліджували плазму крові на наявність Ig E, які – відповідають за утворення алергічної реакції на прояв токсичного впливу застосовуваних препаратів (рис.2.3).



Рис.2.3 Реакція виявлення Ig E за допомогою ІФА

Етап №5. Дослідження впливу цитратів Ag та Zn на фізіологічні показники крові

При проведенні морфологічних досліджень крові визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів, моноцитів, лімфоцитів еозинофілів та гемоглобіну на КФК-3. Підрахунок еритроцитів та лейкоцитів – в камері Горяєва, швидкість осідання еритроцитів методом Панченкова, гематокрит – методом центрифугування.

Еритроцити і тромбоцити птахів на відмінну від еритроцитів і тромбоцитів тварин містять ядро, яке розчин оцтової кислоти (рідина Тюрка) не руйнує, що перешкоджає підрахунку лейкоцитів. Підрахунок еритроцитів і

лейкоцитів здійснюють одночасно в камері Горяєва за загальноприйнятою методикою [262]. Для фарбування використовували фарбу по Фріеду і Лукачева в модифікації І. А. Болотникова (0,9 г NaCl, 3,35 г CaCl₂, 90 мл дистильованої води, 6 мл фарби Гимза, 3 мл 1 % спиртового розчину метілвіолетом, 1 мл формаліну). Кров розводили цією фарбою в меланжері для еритроцитів. Лейкоцити зафарбовувалися у фіолетовий колір, а еритроцити не забарвлювались. Краплею розведеної крові заповнювали лічильну камеру Горяєва і після осідання еритроцитів підраховували їх кількість. Сітка Горяєва розділена на 100 великих (по 4 разом) і 400 малих квадратів (по 16 квадратів разом). Площа малого квадрата – 1/400 мм², обсяг – 1/4000 мм³, великі квадрати по площі відповідають 16 малим. Малі квадрати служать для підрахунку еритроцитів, а великі – для підрахунку лейкоцитів.

Число еритроцитів, підрахованих в кожному маленькому квадраті, складали і отримували їх загальну кількість в 1 мм³ крові за загально прийнятою формулою: (аналогічно підраховують лейкоцити та тромбоцити)

$$X = a * 4000 * v / b, \text{ де}$$

x – число еритроцитів в 1 мм³ крові;

a – кількість еритроцитів, підрахованих в 100 квадратах;

b – число полічених квадратів;

v – ступінь розведення крові

Біохімічні дослідження крові включали визначення: загального білка – біуретовим методом; глюкози – глюкозооксидазним методом; калію і натрію – на іоноселективному аналізаторі Easy Lyte фірми MEDICA (США); резервної лужності крові – на аналізаторі Easy Blood Gas тієї ж фірми.

Бактерицидну активність сироватки крові визначали за методом Мішеля Теффера в модифікації О.В. Смирнової і Т.А. Кузьміної (1966 р.) [262].

Метод базується на вимірюванні оптичної щільності м'ясо-пептонного бульйону при зростанні в ньому *E.coli* з додаванням і без додавання досліджуваної сироватки. Дослідження проводили з добовою тест культурою *E.coli* O1, яку змивали фізіологічним розчином до отримання 2 млрд. мікробних клітин,

густина яка відповідає оптичній щільності 0,30. Потім 0,01 см³, 2 млрд. мікробної суспензії вносять 4,5 см³ м'ясо-пептонного бульйону і залишали у термостаті на 24 години. В пробірки вносили 4,5 мл стерильного МПБ до 1 см³ дослідної сироватки крові. Потім пастерівською піпеткою додавали по 1 крп. 2 млрд. мікробних клітин культури *E.coli*. Контролем служила пробірка з бульйоном і культурою без сироватки. Вміст пробірок ретельно змішували і стерильною піпеткою відбирали по 2 мл для вимірювання оптичної щільності. Суміш поміщали у термостат при $t = 39^{\circ}\text{C}$ на 3 год. При додаванні до 4,5 мл МПБ 1 крп. добової культури кишкової палички оптична щільність бульйону помітно підвищується за рахунок зростання внесеної культури через 3 год. після інкубації в термостаті при $t = 39^{\circ}\text{C}$.

Розрахунок бактерицидної активності сироватки крові. Визначали за відсотком наростання оптичної щільності в дослідній пробірці по відношенню до контролю. Для цього різницю між показниками другого і першого вимірювання множили на 100 і ділили на різницю між першим і другим виміром в контролі.

$$\text{Активність} = 100 - \frac{(\text{Д дос. через 3 год.} - \text{Д дос. відразу}) * 100}{(\text{Д конт. через 3 год.} - \text{Д конт. відразу})}, \text{ де}$$

Д– показник оптичної щільності.

У пробірку, додавали сироватку крові та мікробні клітини дослідної культури *E. coli*. В негативному досліді оптична щільність суміші не підвищується, якщо виражена бактерицидна дія сироватки крові. *Розрахунок активності лізоциму.* З числа оптичної щільності досліджуваної проби віднімали показник щільності мікробної суспензії. В результаті отримана величина відображає активність лізоциму сироватки крові, або % лізису.

$$A = \frac{(D_0 - D_1) * 100}{D_0} - \frac{(D_{Ko} - D_K) * 100}{D_{Ko}}, \text{ де}$$

A – лізоцимна активність у %

- D_0 – оптична щільність вмісту кювет, що досліджуються, до інкубації;
 D_1 – оптична щільність вмісту кювет, що досліджується після інкубації;
 $D_{ко}$ – оптична щільність вмісту контрольних кювет до інкубації;
 D_k – оптична щільність вмісту контрольних кювет після інкубації.

Визначення активності аспартатамінотрансферази і аланінамінотрансферази. Принцип методики визначення АсАТ і АлАТ полягає в тому, що в результаті трансформації, що відбувається під дією амінотрансфераз утворюються щавелевооцтова і піровиноградна кислоти. При додаванні 2,4 – дінитрофенілгідразина в лужному середовищі утворюються забарвлені гідро зони піровиноградної і щавелевооцтової кислоти. Показники ферментативної активності АсАТ і АлАТ визначали за схемою.(табл. 2.4)

Таблиця 2.4

Схема постановки реакції визначення АсАТ і АлАТ

№п/п	Реактиви в мл.	Проба	Стандарт	Контроль
1	Субстрат АсАТ (АлАТ)	0,25	0,25	0,25
Інкубували в термостаті протягом 3–5 хв. за $t = 37^\circ \text{C}$				
2	Сироватка крові без гемолізу	0,05	–	–
3	Стандартний розчин	–	–	0,05
Інкубували в термостаті протягом 60 хв. за $t = 37^\circ \text{C}$				
4	2,4–ДНФГ	0,25	0,25	0,25
5	Сироватка	–	0,05	–
Витримували при кімнатній температурі 20°C				
	0,4 н розчин NaOH	2,5	2,5	2,5

Після проведених маніпуляцій всю суміш ретельно змішували і залишали для зміни забарвлення на 10 хв. при кімнатній температурі. Спектрофотометрію виконували при довжині хвилі 530 нм в кюветі з товщиною шару 1 см проти чистої проби. Чисту пробу ставили так само, але сироватку додавали після інкубації. Розрахунок результатів аспартатамінотрансферази і аланін амінотрансферази. Визначали активність ферменту в сироватці крові за калібрувальною кривою. З каліброваного розчину готували ряд розведень, як зазначено нижче (табл.2.5).

Таблиця 2.5

Схема розрахунків активності ферментів за допомогою калібрування розчину.

№ п/п	Калібрувальний. р-р, мл	Вода, мл	Піруват		Активність фермента, нмоль/с*л	
			мкг	мкмоль	АсАТ	АлАТ
1	0,05	0,55	4,4	0,55	139	278
2	0,1	0,5	8,8	0,1	278	556
3	0,15	0,45	13,2	0,15	417	834
4	0,2	0,4	17,6	0,2	556	1112
5	0,25	0,35	0,22	0,25	695	1390

Калібрувальні проби робили так само, як дослідні, але замість сироватки додавали розведені калібрувальні розчини. Вимірювали у порівнянні з чистими контрольними пробами, в які замість калібрувального розчину додавали воду. Калібрувальна крива лінійка до величини розсіяння світлового променя 0,3.

Етап №6. Експериментальне використання цитратів за ешерихіозу та сальмонельозу

В умовах віварію факультету ветеринарної медицини Сумського НАУ проводили експериментальне інфікування птиці культурами *E.coli*, *S. pullorum-gallinarum* ізольованих з патологічного матеріалу досліджуваних птахогосподарств ТОВ «Сумитехнокорм», ТОВ «Інкубатор» північно-східного регіону України. Для досліду було сформовано 5 груп яким задавали препарати цитрати Ag, Zn та антибактеріальні препарати табл. 2.6

Таблиця 2.6

Схема задавання препаратів за ешерихіозу птиці

п/№ Групи	Кількість голів	Препарат	Доза
1 дослідна	7	Zn3 (C ₆ H ₅ O ₇)	15 г
2 дослідна	7	Ag ₃ C ₆ H ₅ O ₇	15 г
3 дослідна	7	фторфеніколь	150 г
4 контроль	7	Амоксицилін клавуланат	150 г

5 контроль	7	–	–
------------	---	---	---

Подібну схему лікування провели з хворими на сальмонельоз курчатами місячного віку породи леггорн. Для лікування сальмонельозу нами запропоновано нову схему застосування цитратів в поєднанні з органічними кислотами (яблучної, лимонної, пропіонової) та ZnSe+ ефірною олією хвої. Схема задавання препаратів наведена у таблиці 2.7

Таблиця 2.7

Схема задавання препаратів за сальмонельозу птиці

п/№ Групи	Кількість голів	Препарат	Доза
1 дослідна	10	Ag+суміш к-ти (яблучної, лимонної, пропіонової)	3:1:200/дм ³ води.
2 дослідна	10	Zn+суміш к-ти (яблучної, лимонної, пропіонової)	3:1:200/дм ³ води.
3 дослідна	10	ZnSe+ еф. олія хвої	5 :1:300 см ³ води.
4. дослідна	10	Мікростимулін	1 см ³ /дм ³ води.
5. дослідна	10	–	–

Методи статистичної обробки даних.

Статистична обробка отриманих результатів досліджень опрацьована на персональному комп'ютері з використанням пакета програм Microsot Exelfor Windows 2007.Отримані дані оброблені статистично за допомогою методу Фішера-Стьюдента з урахуванням середньоарифметичних величин і їх статистичних помилок, а також визначенням вірогідної різниці показників, які порівнювалися. Для кожного досліджуваного показника визначали середнє арифметичне (M) і стандартну похибку середнього арифметичного (m). Вірогідними вважали відмінності з рівнем значимості більше 95 % ($p < 0,05$).

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Епізоотологічний моніторинг бактеріальних хвороб в Україні.

Епізоотологічний моніторинг циркуляції коліформної та сальмонельозної мікрофлори у птахогосподарств Чернігівської та Сумської обл. України здійснювали за період 2015 по 2018 рр.

Мікробіологічному дослідженні підлягали: технологічне обладнання пташників в залах інкубаторію, ембріони-задохлики, посліду виведеного молодняку, їх трупи, приміщення, де утримувалася птиця різних вікових груп та м'ясо-яєчна продукція.

В результаті досліджень нами було ізольовано найбільший відсоток мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae* роду *Escherichia* – 34,0 %, і *Salmonella* – 16,0 %, (всього 50%). Решта виділених 50 % культур (*Pseudomonas. aerogenosae* – 3%, *Proteus spp* – 12%, *Klebsiella spp* – 6,5%, *Citrobacter spp* 9%, *Enterobacter ssp* – 15%, *Yersinia spp* – 12,5%, *Campilobacter spp* – 5%, *Clostridium spp.* – 2%) були патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами (рис.3.1).

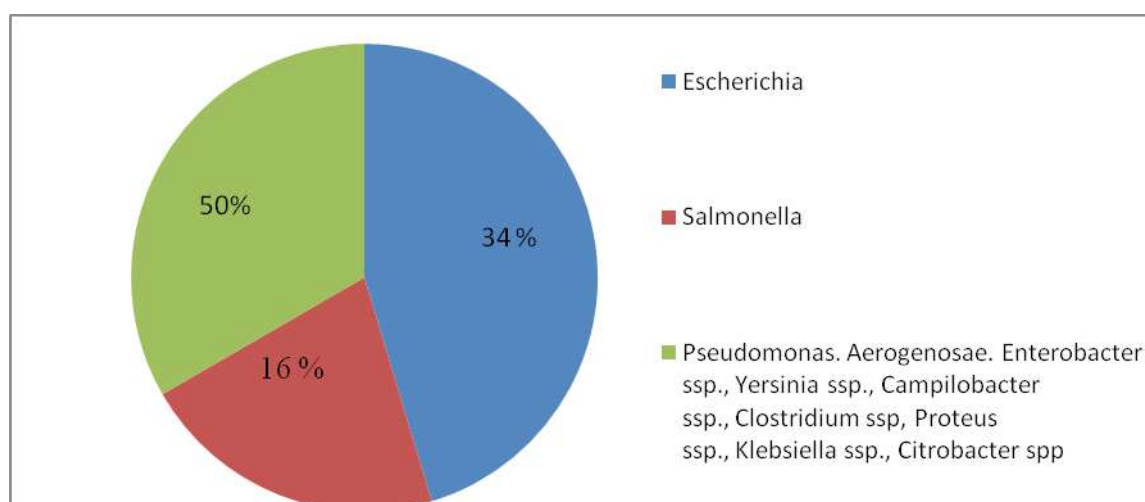


Рис.3.1. Порівняння частоти виділення різних груп умовно-патогенних бактерій в господарствах північно-східного регіону України.

При серотипізації ізолюваних збудників колібактеріозу та сальмонельозу було виділено по 11 сероварів кожного.

З поверхні інкубаційних яєць було виділено *E. coli* серотипів: O35 – 5,7 %, O157 – 3,9 %, O55 – 2,3 %, O78 – 1,5 %, O7 – 1,0 %.

З відходів інкубації: O35 – 9,8 %, O55 – 5,0 %, O78 – 7,3 %, O157 – 2,5 %, O1 – 2,9 %, O4 – 1,0 %, O9 – 1,0 %.

З м'яса птиці та субпродуктів: O35 – 8,8 %, O78 – 5,5 %, O55 – 4,0 %, O41 – 2 %, O157 – 2,0 %, O8 – 1,5 %, O2 – 1,0 %.

Разом з кишковою паличкою нами були ізолювані види сальмонел: *S. enteritidis*, *S. pullorum-gallinarum*, *S. typhimurium*, *S. anatum*, *S. london*, *S. infantis*, *S. bredeney*, *S. tsioque*, *S. jawa*, *S. montevideo*, *S. kentyki*.

Згідно серотипування ізолюваних культур віднесено до: *S. enteritidis* – 2,5% *S. pullorum-gallinarum* – 2,4 %, *S. typhimurium* – 2,2 %, *S. infantis* – 1,5 %, *S. anatum* – 1,2 %; всіх інших (*S. tsioque*, *S. bredeney*, *S. newport*, *S. london*, *S. jawa*, *S. kentyki*) по 1 % (рис.3.2).

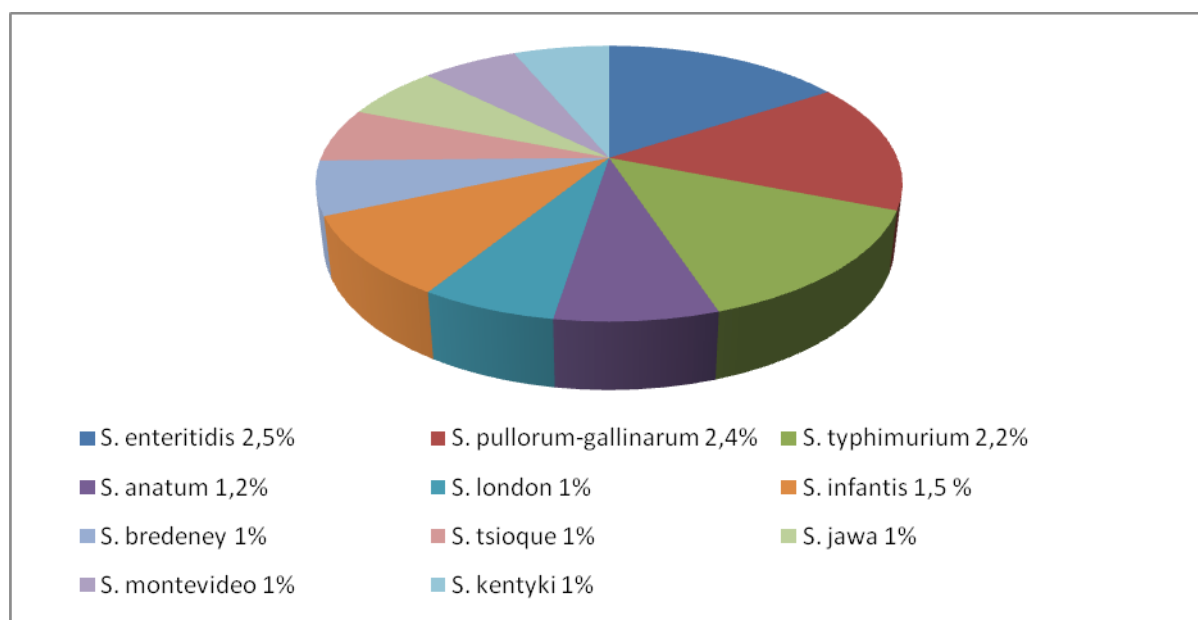


Рис.3.2. Серовари сальмонел, які були виділені з м'яса та яєць птиці в птахогосподарствах північно-східного регіону України.

Культури, що належали до сероварів *S. enteritidis*, *S. pullorum-gallinarum*, *S. typhimurium*, *S. anatum*, виділялися нами протягом усього періоду досліджень (2015 –2018 рр).

Для встановлення епідеміологічного зв'язку між циркуляцією збудників сальмонельозу серед птиці і захворюваннями людей, нами були проведені дослідження на базі ДУ Сумського обласного лабораторного центру МОЗ України та СОІКЛ ім. З. Й. Красовицького. Встановлено, що між антигенною структурою сальмонел, ізолюваних від птиці та хворих людей є взаємозв'язок (табл.3.1).

Таблиця 3.1

Питома вага виділених видів сальмонел від хворих людей,

птиці – сальмонелоносіїв та продуктів птахівництва %

Серовари сальмонел	виділено від людей, що захворіли при споживанні м'яса та яєць птиці	виділено від птиці	виділено з продуктів птахівництва
<i>S.typhimurium</i>	22, 7	16,0	10,1
<i>S. enteritidis</i>	35,1	48,9	48,9
<i>S. anatum</i>	12,8	6,5	6,5
<i>S. tsioque</i>	21,7	-	1,6
<i>S. infantis</i>	1,8	2,1	2,1
<i>S. london</i>	1,0	-	3,9
<i>S. bredeney</i>	2,1	1,9	1,9
<i>S. virchow</i>	3,7	-	0,5
<i>S. jawa</i>	1,0	0,7	0,8
<i>S. montevideo</i>	1,2	0,3	0,6
<i>S. S. kentyki</i>	1,0	-	1,5
<i>S. pullorum-gallinarum</i>	-	24,1	24,1

Як видно з таблиці 3.1, рідкісні серовари, що раніше не виділялися від птиці (*S. kentyki*, *S. virchow*, *S. london*, *S. tsioque*,) були присутні, як в продукції птахівництва (1,5%–3,9%), так і ізолювані від людей (1%–21,7%), що є значною соціальною загрозою.

На сьогоднішній день велику соціальну загрозу зокрема несуть серовари *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. newport*, *S. anatum*. Що стосується *S. pullorum-*

gallinarum то хворобу, викликану нею у птиці реєструють як пулороз-тиф. Збудник паразитує у курей різного віку, може персистувати в організмі довгий час, що приводе до безсимптомного бактеріоносійства, виділяється з інкубаційних і харчових яєць та молодняку курей. Така птиця-сальмонелоносій є потенційним джерелом захворювання [250].

При дослідженнях більшу частину збудників було виділено від птиці та її продуктів в асоціації з іншими мікроорганізмами: *Klebsiella pneumoniae* + *Staphylococcus aureus*; *E.coli* + *Staphylococcus aureus*; *Citrobacter* + *Staphylococcus aureus*; *Proteus mirabilis* + *Staphylococcus aureus*; *Klebsiella pneumoniae* + *E.coli* O157; *Staphylococcus aureus* + *S. enteritidis*; *E.coli* + *S. pullorum-gallinarum*; *Klebsiella pneumoniae* + *E.coli* O157 + *Staphylococcus aureus*; *Campylobacter jejuni* + *E.coli* O157 + *Staphylococcus aureus*.

Дані наведені в таблиці 3.2

Таблиця 3.2

Питома вага мікроорганізмів, виділених у продуктах птахівництва.

Назва мікроорганізмів	2016 рік		2017 рік	
	абс. число	%	абс. число	%
1	2	3	4	5
<i>St. aureus</i>	260	11,86	192	8,31
<i>E. coli</i> O157	125	5,71	145	6,28
<i>E. coli</i> O1	231	9,71	213	9,21
<i>K. pneumoniae</i>	429	19,56	475	20,53
<i>E. agglomerans</i>	133	6,07	117	5,06
<i>P. mirabilis</i>	145	6,62	117	5,06
<i>Y. enterocolitica</i>	96	4,38	116	5,01
<i>C. diversus</i>	81	3,69	101	4,36
<i>C. jejuni</i>	123	5,61	198	8,57
<i>P. aeruginosa</i>	49	2,23	95	4,12
<i>K. pneumoniae</i> + <i>S. aureus</i>	118	5,38	127	4,49
<i>E. coli</i> O157 + <i>S. aureus</i>	111	5,06	98	4,25
<i>C. diversus</i> + <i>S. aureus</i>	110	5,02	108	4,68

Продовження таблиці 3,2

1	2	3	4	5
<i>P. mirabilis</i> + <i>St. aureus</i>	94	4,28	85	3,68

<i>K.pneumoniae</i> + <i>E.coli</i> O157	46	2,09	51	2,20
<i>E.coli</i> + <i>S pullorum-gallinarum</i>	30	1,50	35	1,65
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. coli</i> O157+ <i>St. aureus</i>	39	1,77	67	1,60
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>S. enteritidis</i>	25	1,00	39	1,70
<i>C.jejuni</i> + <i>E.coli</i> O157+ <i>St. aureus</i>	21	0,96	39	1,69
Всього	2193	100	2314	100

Аналізуючи дані, наведені у таблиці 3.2, за 2 роки (2016 та 2017) з продуктів птахівництва нами було виділено підвищений відсоток кампілобактеру ($8,7\pm0,3\%$), протею ($6,6\pm0,4\%$), цитробактеру ($4,6\pm0,2\%$), ієрсиній ($4,4\pm0,5\%$), синьогнійної палички ($4,2\pm0,3\%$), що може свідчити про порушення зберігання продуктів, їх обсіменіння патогенно мікрофлорою, викликаючи спалахи захворювання різної етіології.

Таким чином, згідно отриманих результатів, нами встановлено, що збудники сальмонельозу та ешерихіозу складають 50,0 % від загальної кількості мікроорганізмів, які були ізолювані нами під час досліджень. Найбільша кількість ізолятів відносилася до сероварів *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. pullorum-gallinarum* – саме вони становлять складну та гостру проблему галузі птахівництва, і суспільству взагалі, але крім цього велику загрозу становлять і більш рідкісні серовари сальмонел (*S. virchow*, *S. infantis*, *S. arizona*, *S. montevideo* *S. london*) та кишкової палички (O35, O78, O157), що являються причиною бактеріальних токсикоінфекцій, і потребують їх систематичного контролю у харчовій промисловості.

3.2 Вивчення біологічних властивостей ешерихій та сальмонел.

Біологічні властивості ешерихій і сальмонел вивчали за допомогою культурально-морфологічних, біохімічних властивостей з наступним вивченням їх чутливості до антибіотиків. При вивченні морфологічних властивостей ізолюваних сальмонел та ешерихій було встановлено, що вони були

представлені грамнегативними витягнутими паличками. Палички розташовувалися окремо або попарно (рис 3.3, 3.4).

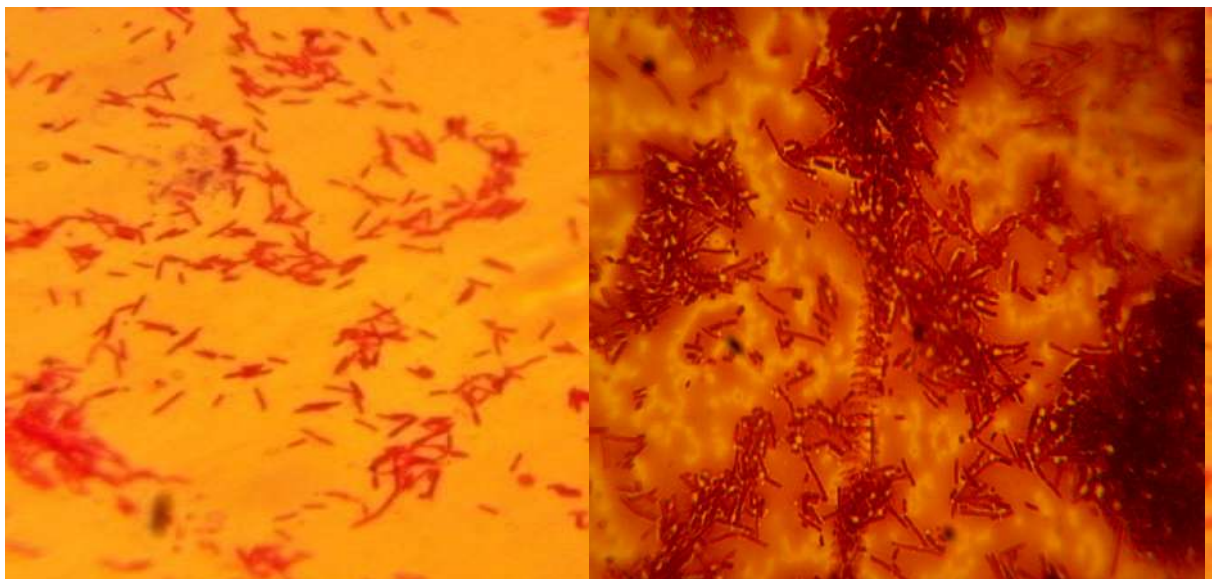


Рис. 3.3 Добова культура
Salmonella

Рис. 3.4 Добова культура
Escherichia

Більша частина культур була рухлива, окрім *S. pullorum-gallinarum*. На МПБ ріст культур характеризувався рівномірним скаламученням з білуватим осадом, який розбивався при струшуванні.

На МПА ешерихії утворювали круглі сірувато-білі колонії з гладкою, блискучою поверхнею. На середовищі Ендо утворювалися колонії яскраво-червоного кольору з металевим блиском.

При культивуванні сальмонел на середовищі МПА добре виражені округлі колонії розміром 1–2 мкм напівпрозорі, випуклі, сіро-білого кольору з блакитним відтінком. При висіві напіврідкий агар ріст спостерігався по всій довжині уколу, але більш яскравий ріст сальмонел спостерігався на поверхні середовища.

На агарі Ендо сальмонел формували рожеві прозорі колонії які, нагадували краплі роси, а на вісмут сульфідному агарі (BCA) – чорний колір з металевим блиском (рис. 3.5, 3.6).



Рис. 3.5 Ріст колоній сальмонели на Ендо



Рис. 3.6 Ріст колоній сальмонели на BSA

На середовищі *Rida®Stamp* компанії *R-biopharm Salmonella* утворювала колонії від фіолетового до жовтого кольору. *E. coli* – від прозорого до жовтого (рис.3.7. та 3.8).



Рис. 3.7 Ріст колоній *Salmonella* на середовищі *Rida®Stamp*

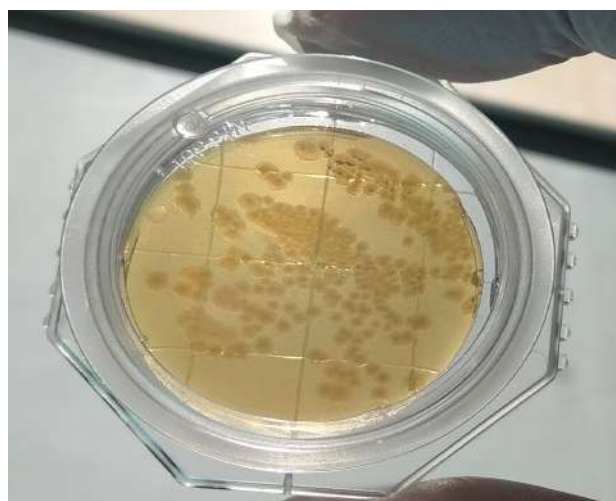


Рис. 3.8 Ріст *E. coli* на середовищі *Rida®Stamp*

На середовищі *Compact Dry*. колонії *E. coli* мали блакитний колір, а *coliforms* – червоний, *Salmonella* – від фіолетового до жовтого. (рис. 3.9, 3.10).

Реакція Фогеса- Проскауера	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Реакція з метиловим червоним	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка: «+» позитивна реакція; «–» негативна реакція

Таблиця 3.4

Біохімічні властивості ізолюваних культур *Salmonella*

Вуглеводи	Ізолювані культури										
	<i>S. gallinarum</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. bredeney</i>	<i>S. java</i>	<i>S. infantis</i>	<i>S. montevideo</i>	<i>S. tsioque</i>	<i>S. london</i>	<i>S. anatum</i>	<i>S. S. kentyki</i>
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Сахароза	+	–	–	+	+	–	+	+	+	+	+
Лактоза	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Маніт	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Інозит	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Арабіноза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
сірководень	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Уреаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Цитрат натрій	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Гідроліз сечовини	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка: «+» позитивна реакція; «–» негативна реакція

Ідентифікацію ешерихій від сальмонел та протей здійснювали використовуючи середовище Олькеницького, на яке бактеріологічною петлею робили посів на поверхню скося, і уколом у середину стовпчика середовища.

Посіви культивували в термостаті за температури 37°C протягом 24 годин (рис.3.11).



Рис. 3.11 Ріст *S. pullorum-gallinarum* на середовищі Олькеницького

Як видно з рисунку 3.8 зміна скося в червоний (сечовина +), стовпчика в жовтий колір і почорніння всередині стовпчика (сірководень +) вказувало на зростання сальмонел.

Для серотипування ешерихій та сальмонел використовували метод латексної аглютинації, який базується на використанні кольорового латексу, що аглютинуює різні серогрупи за допомогою тест-системи SPECTATE[®], але цей метод використовується тільки для тих сироварів, які ізолювали в незначній кількості.

Для виявлення та ідентифікації родової приналежності сальмонел і ешерихій із зразків пилу, корму, змивів з технологічного обладнання підлоги стін пташників проводили за допомогою постановки полімеразної ланцюговою реакції із використанням комерційного тест-набору для ампліфікації виробництва фірми Thermo Fisher Scientific (США) та праймерними системами Salm_3/Salm_4, які фланкують ділянку гену *invA* довжиною 385 п.н. Облік результатів ПЛР проводили за допомогою електрофорезу продуктів ампліфікації в 1,5 % агарозному гелі з використанням маркера молекулярної маси з кроком 100 п.н.

В результаті проведених досліджень на етапі первинного збагачення відібраного матеріалу було виявлено загалом 5 зразків, які містили у своєму складі генетичний матеріал *Salmonella spp.* (рис. 3.12).



Рис. 3.12 Електрофореграма досліджуваних зразків на *Salmonella spp.*:

М – маркер молекулярної маси; трек №1 – контроль негативний; трек №2 – контроль позитивний; треки 4 – 8 – позитивні дослідні зразки; треки 3, 9, 10 – негативні дослідні зразки.

Крім цього, у патологічному матеріалі (проби кісткового та головного мозку, серця, печінки, жовчного міхура, м'язів та інших органів) та змивів з яєць, було встановлено наявність ампліфікаційного матеріалу *Escherichia coli* (рис. 3.13)

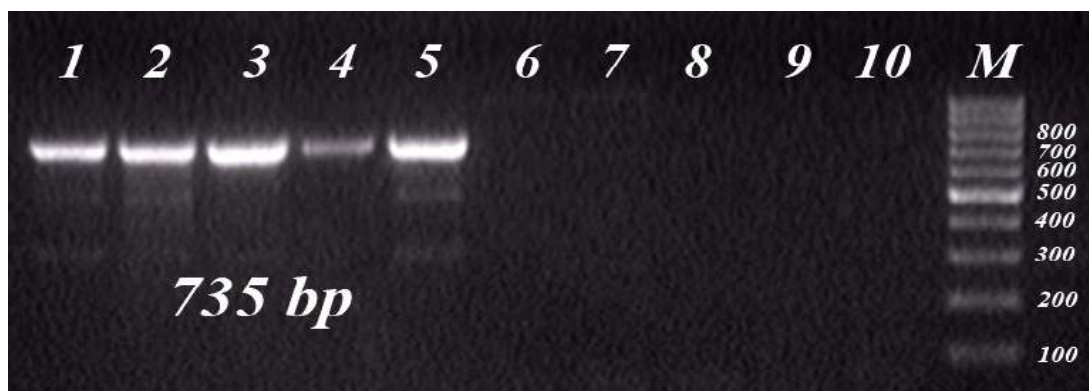


Рис.3.13 Електрофореграма досліджуваних зразків на *Escherichia coli*:

М – маркер молекулярної маси; трек №1, 2, 3,4 – позитивні дослідні зразки; трек №5 – контроль позитивний; №6 – контроль негативний; треки 7, 8, 9 10 – негативні дослідні зразки.

З даної електрофореграми видно, що з 10 зразків, які досліджували, було виявлено 4 трека, які містили генетичний матеріал ешерихій.

За допомогою праймерних тест-систем [206]. Styp_F/R та GMP_1F/1R, які фланкують ділянку гену 433 п. н та 97 п.н. у дослідному матеріалі було індиковано два серотипи *S. gallinarum-pullorum* та *S. typhimurium* (рис. 3.14 та 3.15)

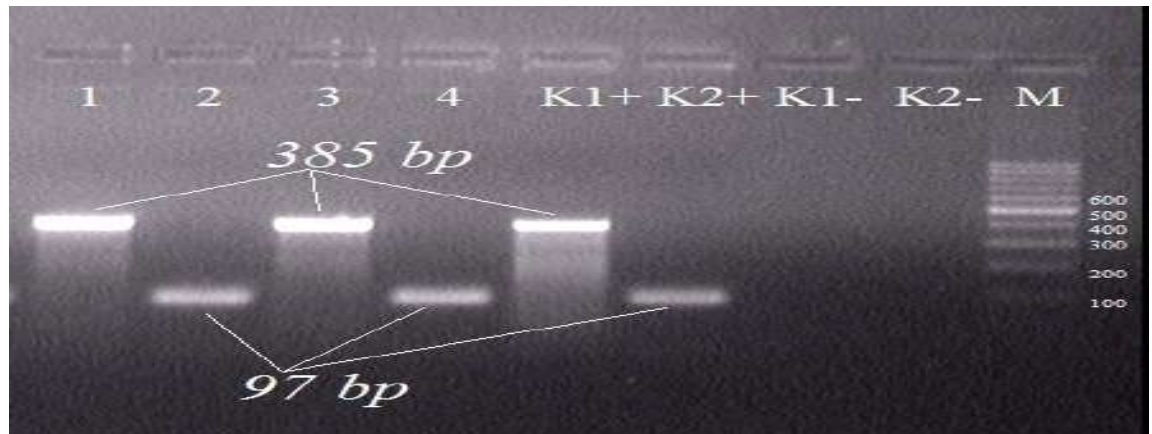


Рис.3.14 Електрофореграма досліджуваних зразків на *S. gallinarum-pullorum*; М –маркер молекулярної маси; K1- та K2- – негативний контроль; K1+ та K2+ – позитивний контроль; 385bp – *Salmonella* spp. 97 bp – *S. gallinarum-pullorum*.

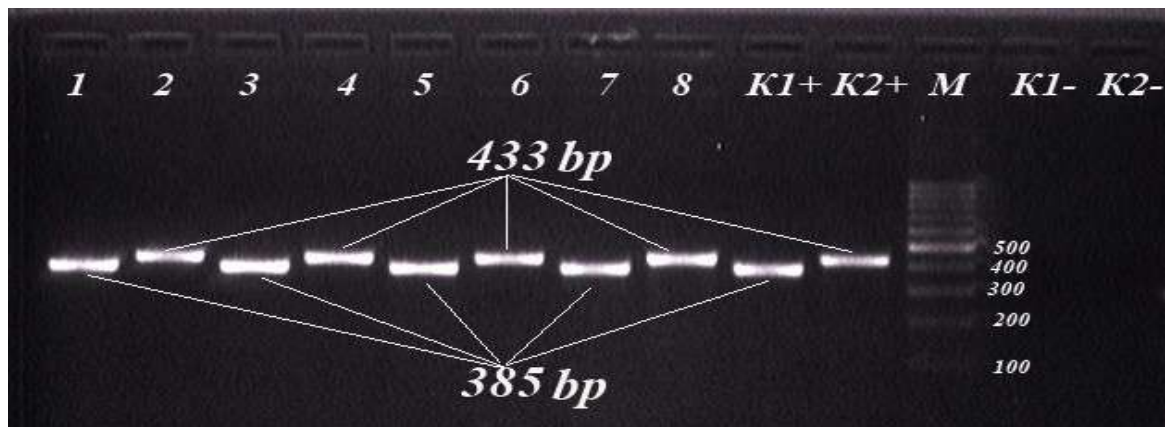


Рис.3.15 Електрофореграма досліджуваних зразків на *S. typhimurium*; М –маркер молекулярної маси; K1- та K2- – негативний контроль; K1+ та K2+ – позитивний контроль; 433 bp – *S. typhimurium* 385bp *Salmonella* spp.

3.2.1 Визначення патогенних властивостей виділених ешерихій та сальмонел. При вивченні патогенних властивостей ізольованих ешерихій і

сальмонел було відмічено, що культури, які відносилися до різних сероваріантів, мали різну ступінь патогенності. Нами було вивчено по 11 культур з кожного сероваріанту, якими інфікували курячі ембріони в алантоїсну порожнину і на хоріоалантоїсну оболонку та добових курчат і курей віком 160 діб інтраназально. Дані наведені в таблиці 3.5

Таблиця 3.5

Вивчення патогенності ешерихій, ізольованих з патологічного матеріалу

Серовари ешерихій	Доза інфікування ЛД ₅₀	К-ть голів	Курячі ембріони		Добові курчата		Кури (160 дн)	
			к-ть загиблих	%	к-ть загиблих	%	к-ть загиблих	%
O1	10 ⁸ мк/см ³	20	20	100	15	75	7	35
O2					17	85	3	15
O4					10	50	10	50
O7					5	25	3	15
O8					10	50	15	75
O9					10	50	5	25
O35					15	75	12	60
O41					8	40	2	10
O55					8	40	5	25
O78					15	75	15	75
O157					17	85	17	85

При зараженні курячих ембріонів культурами *E. coli* сероварів O1, O2, O4, O7, O8, O35, O41, O55, O157, O78 відмічали 100 % летальність. У загиблих ембріонів спостерігали набряклість та крововиливи в алантоїсній оболонці, кровонаповнення судин жовткового міхура, крововиливи в ділянці голови, гіперемію селезінки, глиняно-жовтий колір печінки.

Після інфікування у добових курчат, клінічна картина характеризувалася пригніченням птиці, відмовою від корму та води, ускладненим диханням. Курчата гинули протягом 24 годин. При цьому було відмічено, що відсоток їх загибелі залежав від інфікованого сероваріанту кишкової палички. Так, найбільше (75-85 %) курчата гинули при зараженні їх серотипами O2, O35, O78,

O157. При інфікуванні серотипами O41, O55, O4, O8, O9 гибель птиці складала лише 40 – 50 %. Незначний відсоток (25 %) загибелі реєстрували від сироварів O1, O7. При патологоанатомічному розтині спостерігали крововиливи на слизових та серозних оболонках кишечника, гіперемію та набряк легень (рис. 3.16).



Рис. 3.16 Гіперемія та набряк легень у курчат, інфікованих *E. coli*

Загибель курей віком 160 діб спостерігали на 10 день після зараження. Найбільший відсоток загибелі (75–85 %) відбувався при інфікуванні *E. coli* серотипами O8, O78, O157. Найменший (15–25 %) – від серотипів O1, O9, O55. При розтині трупів було виявлено відкладання плівок фібрину на перекарді, епікарді, печінці та повітряношних мішках. (рис.3.17).



Рис.3.17 Відкладання плівок фібрину на повітроносних мішках у курей

При вивченні патогенних властивостей різних серотипів сальмонел нами було інфіковано курячі ембріони у дозі 10^8 мк/см³ за аналогічною схемою (табл.3.5). За ембріонами спостерігали 7 діб, їх загибель відмічали через 48 -72 год, з коливанням від 50 % до 100 %. Дані наведені в таблиці 3.6.

Таблиця 3.6

Вивчення патогенності сальмонел, ізольованих із патологічного матеріалу

Серовари ешерихій	Доза інфікуван ня ЛД ₅₀	К-ть голів	Курячі ембріони		1-добові курчата		160-добові кури	
			к-ть загибли х	%	к-ть загибли х	%	к-ть загибли х	%
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>S. pullorum</i> <i>-gallinarum</i>	10^8 мк/см ³	20	20	100	3	15	3	15
<i>S. enteritidis</i>					17	85	7	35
<i>S. typhimurium</i>					10	100	10	50

Продовження таблиці 3.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>S. jawa</i>					10	50	10	50
<i>S. infantis</i>					10	50	5	25
<i>S. montevideo</i>					15	75	5	25
<i>S. virchow</i>					10	50	2	10
<i>S. london</i>					10	50	5	25
<i>S. arizona</i>					15	75	7	15
<i>S. kentucky</i>					17	85	10	50

У курей віком 160 діб, яких інфікували інтраназально *S. typhimurium* дозою 10^8 мк/см³ спостерігали підгострий перебіг хвороби (50 %), що характеризувався розладом координації рухів, скуйовдженням оперення, млявістю та слабкістю кінцівок. На розтині птиці виявлена, печінка глиняного кольору, всі інші органи без видимих змін (рис. 3.18).



Рис. 3.18 Зміна кольору печінки на вохряно-жовтий

При інфікуванні курей *S. pullorum* –*gallinarum* спостерігали їх загибель (15%) на п'яту добу після зараження. Дослідні кури були пригнічені, але охоче споживали корм та воду. У інфікуваних курей хазяїн-неадаптованими сальмонелами (*S. infantis*, *S. jawa*, *S. arizona*, *S. london*, *S. kentucky*) клінічні ознаки захворювання розвивалися не характерно для сальмонельозу (пригнічення, млявості, проносу та виснаження) смертність (від 10 до 50%) спостерігали протягом 80 діб, а саме від 72 до 160.

Виражені патологоанатомічні зміни залежали від віку птиці та перебігу захворювання. Під час розтину курей спостерігали вогнища некрозу в печінці, селезінці, застійні явища в легенях, гіпермійована слизова оболонка кишечника з множинними крововиливами.

3.2.2 Визначити чутливість виділених культур *Escherichia* та *Salmonella* до антибактеріальних засобів. Чутливість виділених культур *Escherichia* і *Salmonella* до антибактеріальних препаратів визначали диско дифузійним методом в агар із стандартними розчинами антибіотиків визначеної концентрації.

При визначенні чутливості ізолюваних культур сальмонел до антибактеріальних препаратів, було встановлено, часткову резистентність до цефалоспоринов третього покоління (цефтріаксон, цефатоксим, цефтазідім) та четвертого покоління (цефепім) із зоною затримки росту від $10,0 \pm 0,1$ мм до $13,0 \pm 0,2$ мм, (окрім флорфеніколю та цефтіофуру до яких культури сальмонел проявляли чутливість (від $25,0 \pm 1,0$ до $31,0 \pm 1,1$ мм); групи пеніцилінів (амоксоциліну, ампіциліну, та карбеніциліну) – $12,0 \pm 0,1$ мм, $13,0 \pm 0,2$ мм; фторхінолонів енрофлоксацину, – $12,0 \pm 0,2$ мм; лінкозамідів (клиндамицину та лінкоміцину) – $10,0 \pm 0,2$ мм; тетрациклінів (егоцину 20) – $11,0 \pm 0,2$ мм. та аміноглікозидів (амікацин та неоміцин) – $10,0 \pm 0,1$ та $14 \pm 2,2$ мм (табл.3.7).

Таблиця 3.7

Порівняльні результати чутливості ізолюваних сальмонел до антимікробних препаратів

Антибіотики	<i>S. pullorum-gallinaru</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. bredeney</i>	<i>S. java</i>	<i>S. infantis</i>	<i>S. montevideo</i>	<i>S. tsioque</i>	<i>S. london</i>	<i>S. anatum</i>	<i>S. kentucky</i>
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Офлоксацин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Гатіфлоксацин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч

Продовження таблиці 3.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Енрофлоксацин	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Моксіфлоксацин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Пефлоксацин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Левовфлоксацин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Амоксицилін	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Карбеніцилін	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Ампіцилін	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Цефтріаксон	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Цефотоксим	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Цефтазідім	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Цефепім	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Флорфеніколь	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Цефтіофур	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
ТімТіл-250	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Бровасептол (конц)	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Амоксицилінклавунат	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Імепенем	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Меропенем	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Егоцин 20	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Окситетрациклін	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Хлортетрациклін	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Віброміцин	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Дексан	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Кліндаміцин	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Лінкоміцин	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Гентаміцин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Неоміцин	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Стрептоміцин	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Тобраміцин	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Амікацин	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р

Примітка: ч – чутливі, с – слабочутливі, р – резистентні.

Аналогічні дослідження були проведені, щодо чутливості 11 сероварів ешерихій до антибактеріальних препаратів, як комбінованої дії («ТімТіл 250», «Бровасептол концентрат» Амоксицилін клавунат), так і кожного препарату окремо (табл.3.8).

Таблиця 3.8

Порівняльні результати чутливості ізолюваних ешерихій до антимікробних препаратів

Антибіотики	Серотипи <i>E. coli</i>										
	O 1	O 2	O 4	O 7	O 8	O3 5	O4 1	O5 5	O157	O7 8	O 9
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Офлоксацин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Гатіфлоксацин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Енрофлоксацин	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Моксіфлоксацин	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Пефлоксацин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Левовфлоксацин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Амоксицилін	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Карбеніцилін	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Ампіцилін	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Цефтриаксон	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Цефотоксим	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Цефтазідім	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Цефепім	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Цефтіофур	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Флорфеніколь	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
ТімТіл-250	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Бровасептол (конц)	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Амоксицилінклавунат	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Імепенем	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Меропенем	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Егоцину 20	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Окситетрациклін	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Хлор тетрациклін	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Вібраміцин	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Доксан	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Кліндаміцин	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Лінкоміцин	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Гентаміцин	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р	р
Неоміцин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Стрептоміцин	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч
Тобраміцин	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с
Амікацин	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с	с

Примітка: ч – чутливі, с – слабочутливі, р – резистентні.

Як видно з таблиці 3.8, при проведенні антибіотикограми нами встановлено 100 % чутливість культур ешерихій до «ТімТіл-250» «Бровасептол концентрат» та Амоксицилін клавунат, з зоною затримки росту $30,0 \pm 0,1$ – $32,0 \pm 0,2$ мм, відповідно; груп карбопенемів (імепенем та меропенем) – $24,0 \pm 0,2$ та $26,0 \pm 0,1$ мм; фторхінолонів (офлоксацин, гатіфлоксацин, пефлоксацин та

левофлоксацин) – від $22,0 \pm 0,3$ до $32,0 \pm 0,1$ мм відповідно. Повністю резистентними до пеніцилінів (карбеніцилін, ампіцилін та амоксицилін) та частково до цефалоспоринів (цефтріаксон, цефатоксим, цефтазідім, цефепім) – затримки росту лише від $10,0 \pm 0,1$ до $12,0 \pm 0,1$ мм. Виключенням були флорфеніколь та цефтіофур до яких були культури ешерихій чутливими – від $25,2 \pm 0,3$ та $29,8 \pm 1,7$ мм.

Слабочутливими культури ешерихій були до препаратів з груп тетрациклінів (егоцину 20, окситетрацикліну, хлортетрацикліну, віброміцину та докзалу) зона затримки становила від $10,0 \pm 0,3$ мм до $12,0 \pm 1,1$ мм, та аміноглікозидів (тобраміцину та амікацину) – зони від $11,2 \pm 0,5$ до $12,0 \pm 1,3$ мм.

Аналізуючи отримані результати, не було виявлено препарату, до якого б були чутливі всі епізоотично-значимі культури бактерій. А це свідчить про те, що безконтрольне використання лікарських препаратів з бактеріостатичною дією може призвести до накопичення їх в організмі птиці, а залишкова кількість антибіотиків – викликати мутацію генів і повну резистентність збудників інфекційних хвороб. Згідно правил МЕБ з метою профілактики і лікування бактеріальних хвороб птиці необхідно використовувати лише ті препарати, до яких чутливі не менше 90 % ізольованих культур.

Відсутність комерційних дисків, просочених сарофлоксацином гідрохлоридом («Сарофлос») послужили підставою для проведення досліджень щодо визначення їх чутливості методами двократних та десятикратних серійних розведень, і визначення мінімальної та максимальної інгібуючої концентрації препаратів. Дослідження проводили у порівнянні із комерційним препаратом «Енрофлоксацин 10%», який останнім часом широко використовується у птахівництві з лікувально-профілактичною метою при бактеріальних інфекціях в тому числі при ешерихіозі та сальмонельозі.

Для визначення більш широкої бактерицидної їх дії крім збудників колібактеріозу та сальмонельозу були використані стрептококи, стафілококи, клебсієли, клостридії, кампілобактерії, протеї, синьогнійна паличка, ерсинії та аспергіли.

Результати визначення мінімальної інгібуючої концентрації препарату «Сарофлос» 10 % наведені у табл.3.9.

Таблиця 3.9

**Визначення мінімальної інгібуючої концентрації препарату
«Сарофлос» 10 % методом десятикратних серійних розведень**

№ пробірки ряду	препарату Ступінь розведення	Ріст колоній													
		<i>S. aureus</i>	<i>S. fecalis</i>	<i>S. gallinaru-S. pullorum-</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli O2</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>A. fumigatus</i>	Контроль
1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
2	1:10	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
3	1:10 ²	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
4	1:10 ³	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
5	1:10 ⁴	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
6	1:10 ⁵	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
7	1:10 ⁶	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–	+
8	1:10 ⁷	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	1:10 ⁸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	1:10 ⁹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка: «+» – видимий ріст бактерій; «–» – відсутність видимого росту бактерій

Як видно з таблиці 3.9, за допомогою десятикратних серійних розведень встановлено, що 10 % сарофлосацин гідрохлорид діяв бактерицидно на весь спектр досліджуваних мікроорганізмів у розведеннях 1:10¹ – 1:10⁵, бактеріостатично – у розведенні 1:10⁶ з наступною резистентністю культур у розведеннях 1:10⁸ та 1:10⁹.

З метою більш точного визначення мінімальної інгібуючої концентрації 10% – го сарофлоксацину гідрохлориду нами були проведені його двократні серійні розведення за аналогічною методикою [263]. Результати наведені у табл. 3.10.

Таблиця 3.10

Визначення мінімальної інгібуючої концентрації препарату «Сарофлекс»-10 % методом двократних серійних розведень

№ пробірки ряду																Контроль
	препаратурозведення	концентрація,мг/см ³	Ріст колоній													
			<i>S. aureus</i>	<i>S. fecalis</i>	<i>S. gallinaru</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i> O2	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>A. fumigatus</i>	
1	–	1000	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
2	1:2	500	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
3	1:4	250	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
4	1:8	125	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
5	1:16	62,5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
6	1:32	31,25	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
7	1:64	15,625	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
8	1:128	7,812	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
9	1:256	3,905	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
10	1:512	1,952	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
11	1:1024	0,976	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
12	1:2048	0,488	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
13	1:4096	0,244	–	–	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	1:8192	0.122	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка: «+» – видимий ріст бактерій; «–» – відсутність видимого росту бактерій.

З результатів, наведених у таблиці 3.10 видно, що мінімальна інгібуюча концентрація 10%-го сарофлоксацину гідрохлориду для більшості досліджуваних мікроорганізмів становила 0,488 мг/см³. Винятком були

культури сероварів *S. aureus*, *S. fecalis*, *S. pullorum-gallinaru*, *S. enteritidis*, для яких мінімальна концентрація препарату становила 0,244 мг/см³ [251, 252].

Стосовно енрофлоксацину – результати визначення мінімальної інгібуючої концентрації препарату методом десятикратних серійних розведень, наведені у таблиці 3.11

Таблиця 3.11

**Визначення мінімальної інгібуючої концентрації препарату
«Енрофлоксацин» – 10 % метод десятикратних серійних розведень**

№ пробірки ряду	препарату розведення	Ріст колоній													
		<i>S. aureus</i>	<i>S. fecalis</i>	<i>S. pullorum-gallinaru</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i> O2	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>A. fumigatus</i>	Контроль
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2	1:10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3	1:10 ²	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4	1:10 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
5	1:10 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6	1:10 ⁵	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
7	1:10 ⁶	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+
8	1:10 ⁷	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	1:10 ⁸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	1:10 ⁹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка: «+» – видимий ріст бактерій; «-» – відсутність видимого росту бактерій

Згідно результатів наведених у таблиці 3.11 енрофлоксацин діє бактерицидно у розведеннях 1:10¹ - 1:10⁵ на всі культури, бактеріостатично - у розведенні 1:10⁶ тільки на *S. pullorum*, *E. coli* (сер.O2), *Y. enterocolitica* та *A. fumigatus*, решта культур була резистентною до препарату у данному

розведенні. Результати мінімальної інгібуючої концентрації енрофлораксацину 10 %, дані наведені в таблиці 3.12

Таблиця 3.12

**Визначення мінімальної інгібуючої концентрації препарату
«Енрофлораксин» – 10 % методом двократних серійних розведень**

№ пробірки ряду	Ріст колоній															
	препарат розведення	концентрація, мг/см ³	<i>S. aureus</i>	<i>S. fecalis</i>	<i>S. pullorum-gallinaru</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i> O2	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>A. fumigatus</i>	Контроль
1	-	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2	1:2	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3	1:4	250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4	1:8	125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
5	1:16	62,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6	1:32	31,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
7	1:64	15,625	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
8	1:128	7,812	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
9	1:256	3,905	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
10	1:512	1,952	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
11	1:1024	0,976	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
12	1:2048	0,488	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
13	1:4096	0,244	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	1:8192	0,122	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка: «+» – видимий ріст бактерій; «-» – відсутність видимого росту бактерій

З даної таблиці 3.12, видно, що мінімальна інгібуюча концентрація енрофлораксацину для більшості досліджуваних культур (*S. aureus*, *S. fecalis*, *S. pullorum-gallinaru*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *E. coli* (cep.O2), *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *C. perfringens*, *Y. enterocolitica*, *C. jejuni*, *A. fumigatus*) становила 0,976 мг/см³. Винятком були культури *S. pullorum-gallinarum*, *Y. enterocolitica* та *A. fumigatus*, для яких мінімальна концентрація препарату становила 0,488 мг/см³.

Таким чином, на підставі отриманих нами результатів досліджень, щодо чутливості сальмонел та ешерихій до 32 антибактеріальних препаратів було встановлено, що ешерихії були чутливі до 13 антибіотиків (офлоксацин, гатіфлоксацин, левофлоксацин, пефлоксацин, левофлоксацин цефтіофур, флорфеніколь, «ТімТіл-250», «Бровасептол концентрат» амоксоцилін/клавуланова к-та, імепенем та меропенем, неоміцин та стрептоміцин), слабочутливі – до 7 (егоцин 20, тобраміцин, амікацин, окситетрациклін, хлортетрациклін, віаміцин, доксан), резистентними до 12 – груп цефалоспоринів (цефтріаксон, цефіпім, цефотоксим, цефтазідін), пеніцилінів (амоксоциліну, карбеніцилін та ампіцилін), лінкозамідів (кліндаміцин та лінкоміцин) та частково до фторхінолонів (енрофлоксацину, моксіфлоксацину) та аміноглікозидів (гентаміцин).

Сальмонела – проявила чутливість 50\50, то б то до 13 препаратів (офлоксацин, гатіфлоксацин, пефлоксацин, моксіфлоксацин, левофлоксацин, гентаміцин, цефтіофур, флорфеніколь, «ТімТіл-250», «Бровасептол концентрат», амоксоцилін/клавуланова к-та імепенем та меропенем) була чутлива; до 6-ти препаратів (тобраміцин, амікацин, окситетрациклін, хлортетрациклін, віаміцин, доксан) – слабочутлива, і до 13 (енрофлоксацин, амоксоцилін, карбеніцилін, ампіцилін, цефтріаксон, цефатоксим, цефтазідін, цефепім, лінкоміцин, кліндаміцин, егоцину 20, неоміцин, амікацин) – резистентна. Отриманні результати свідчить про мінливі властивості культур, які необхідно враховувати при використанні антибіотиків у птахівничих господарствах.

При визначенні мінімальної та максимальної інгібуючої концентрації препаратів «Сарофлос» та «Енрофлоксацин», встановлено широкий спектр бактерицидної дії 10 % сарофлоксацину гідрохлорид до 13 збудників бактеріальних захворювань птиці, які вивчали, у концентрації 0,488 мг/см³, що у 2 рази менше на відмінну від дії «Енрофлоксацину» (0,976 мг/см³).

Якщо враховувати, що «Енрофлоксацин» є імпортом препаратом (фірма «KRKA», Словенія) і коштує 200 грн за 100 мл, то «Сарофлос» новий

вітчизняний препарат («Бравофарма», Україна), з'явився на ветеринарному ринку України нещодавно, вартістю 150 грн за 100 г, то б то на 50 грн дешевший. Бактерицидна активність препарату «Сарофлоркс» здійснюється завдяки діючій речовині сарофлорксацин гідрохлорид, який відноситься до групи антибіотиків останнього покоління фторхінолонів і, на наш погляд, його використання є більш перспективним для лікування бактеріальних хвороб птиці, особливо при асоційованих інфекціях. Враховуючи, що «Енрофлорксацин» використовується у птахівничих господарствах вже понад 10 років і не завжди дає позитивний ефект. Іншими словами, «Сарофлоркс-10%», що рекомендується нами як лікарський засіб, може бути конкурентноспроможним імпортозаміщуючим препаратом. Результати досліджень висвітлено у наукових публікаціях [249, 250, 251, 252, 253].

3.3 Фізико–хімічні властивості іонів цитратів

При проведенні скануючої електронної мікроскопії встановлено, що досліджуваний зразок наночастинок Ag та Zn представляє собою сірий порошок з монокристалічних частинок неправильної форми, розмір, яких коливається від 160 до 350 нм. Нами встановлено, що найчастіше серед іонів Ag та Zn зустрічали часточки трьох розмірів, а саме: 160 нм – 45 %, 210 нм – 35 %, 350 нм – 20 % (рис.3.19, 3.20).

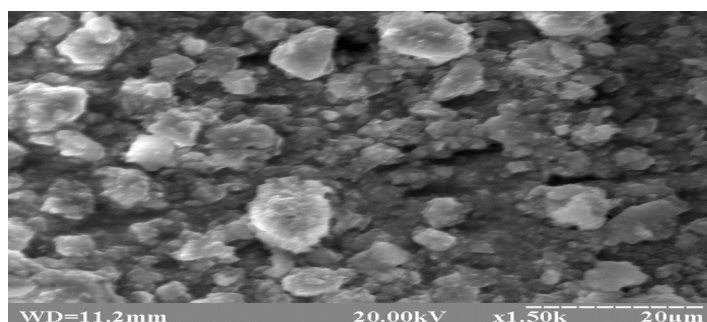


Рис. 3.19 Загальний вигляд часточок іонів цитратів Ag. Скануюча електронна мікроскопія (збільшення×2000)

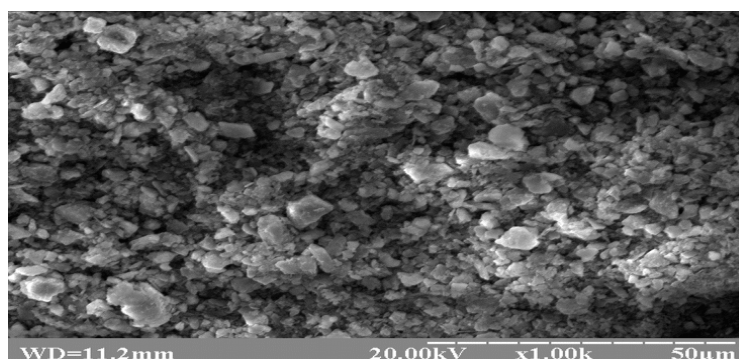


Рис. 3.20 Загальний вигляд часточок іонів цитратів Zn. Скануюча електронна мікроскопія (збільшення×2000)

Іони цитрату Ag та Zn добре розчинні в органічних кислотах, мають рН 6,5– 7,5 за рахунок окисновідновних процесів. Монокристалічний порошок має прекрасні гідрофільні властивості за рахунок яких величина набухання за розведення 1:2 та 1:4 становить 0,435 мг/г. Слід зазначити, що для дезінфекції дисперсними розчинами Ag і Zn на поверхні дослідних зразків (яєчна шкаралупа, предметні скельця з культурою клітин сальмонела) утворюють

плівку, яка забезпечує пролонговану бактерицидну дію на 72 год (рис. 3.21, 3.22).

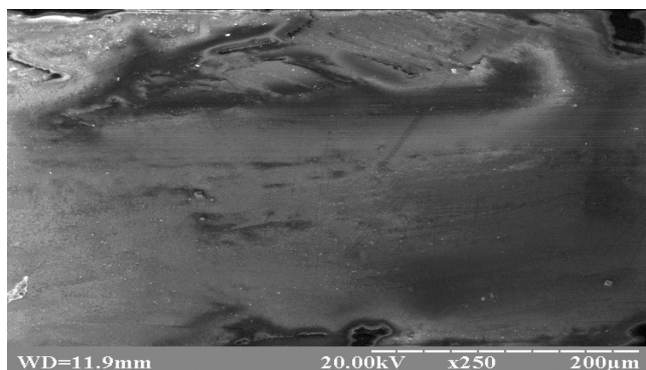


Рис.3.21 Утворення плівки іони цитрату Ag. Скануюча електронна мікроскопія (збільшення×2000)

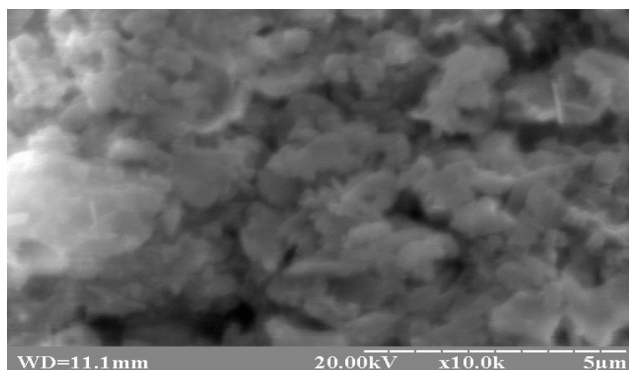


Рис.3.22 Утворення аморфної маси наночастинок за впливу води. Скануюча електронна мікроскопія (збільшення×2000)

3.3.1 Визначення бактерицидних властивостей цитратів $\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ та $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$

Бактерицидність досліджуваних препаратів вважали за відсутності наявної каламутності в пробірках. В досліджуваних зразках нами було встановлено каламутність розчинів в пробірках № 3, 4, 5, 6, 7, 8 окрім, пробірок № 1, 2, 3, які містили цитрати срібла, «Шумерське срібло» та цинк. Результати визначення бактерицидних властивостей розчинів Ag та Zn наведені на рис.3.23.

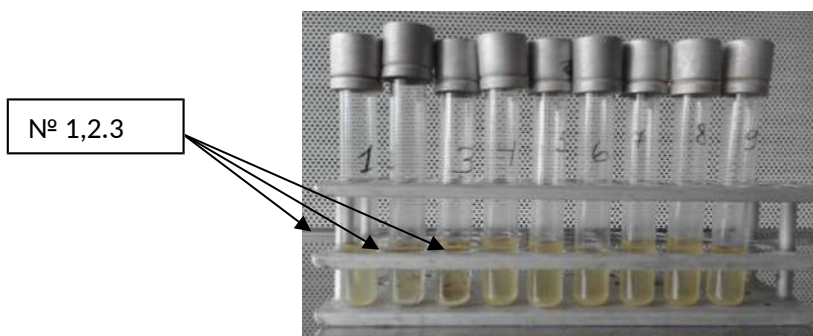


Рис.3.23. Ріст *Escherichia coli* O2 в розчинах з цитратами

Як видно на рисунку 3.23, розчин №1 із сріблом (Ag) був ефективним по відношенню до культур *Escherichia coli* (сер. O2), *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*. Розчин № 2 «Шумерське срібло» аналогічно проявляв абсолютну антимікробну дію. Розчин № 3 із вмістом Zn був ефективним тільки до *E. coli* та *S. epidermidis*, що свідчить про те що, в наступних дослідках ці препарати, які не проявили бактерицидної дії, в якостях лікувальних та профілактичних засобів не будуть ефективними. При дослідженні змивів з поверхні шкаралупи інкубаційних яєць, було виділено бактерії групи кишкових

паличок у 34%; культуру стафілокока у 25% та культуру синьогнійної палички у 3% випадків. До обробки показник бактеріальної забрудненості поверхні шкаралупи становив $400,18 \pm 31,1$ КУО (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Показник бактеріальної забрудненості поверхні шкаралупи яєць, (n=270)

Термін обробки	Дезінфікуючий засіб					
	0,25 % Бі-дез		Ag		Zn	
	КУО/см ²	%, знеінфікуванн я	КУО/см ²	%, знеінфікуванн я	КУО/см ²	%, знеінфікуванн я
до обробки	$400,18 \pm 31,10$		$400,18 \pm 31,10$		$400,18 \pm 31,10$	
через 24 год	$324,40 \pm 12,83$	18,9	$328,06 \pm 23,30$	18,0	$317,99 \pm 17,02$	20,5
через 48 год	$309,43 \pm 10,95$	22,6	$282,61 \pm 18,93$	29,3	$275,28 \pm 11,63$	31,2
через 72 год	$314,68 \pm 10,04$	21,4	$254,42 \pm 17,05$	36,4	$253,51 \pm 9,88$	36,7

Примітка. * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$ – відносно контролю

Як видно з наведеної таблиці 3.13, у дослідній групі після обробки цитратом Ag через 24 год показник дезінфікування бактеріальної забрудненості поверхні шкаралупи інкубаційних яєць знизився на $72 \pm 7,8$ КУО/см², через 48 год – $117,57 \pm 12,17$ КУО/см², через 72 год – $145,76 \pm 14,05$ КУО/см². Кількість виділених мікроорганізмів при аерозольній обробці цитратом Zn становила через 24 год – $83,18 \pm 14,0$ *** КУО/см², 48 год – $124,9 \pm 11,6$ ** КУО/см², 72 год – $146,67 \pm 21$ ** КУО/см². При застосуванні 0,25 % розчину «Бі-дез» показники бактеріальної забрудненості поверхні шкаралупи інкубаційних яєць становили $75,78 \pm 18$ ** КУО/см², $90,75 \pm 20$ ** КУО/см², $85,5 \pm 21$ ** КУО/см² відповідно. Аналізуючи отримані результати щодо дії цитратів Zn та Ag з дезінфікуючим засобом, можна свідчити про їх бактерицидні властивості, після застосування Ag та Zn показники бактеріальної забрудненості змінювалися в продовж досліджуваного періоду, що говорить про пролонговану дію Ag та Zn. При застосуванні цитратів Ag та Zn не спостерігалось звикання патогенної мікрофлори до них. При застосуванні дезінфікуючого засобу «Бі-дез» показники були меншими, що свідчило про резистентність патогенних

мікроорганізмів до препарату, які постійно застосовується для дезінфекції яєць. В подальшому спостерігали вплив цитратів на вивід кондиційних курчат табл. 3.14

Таблиця 3.14

Результати впливу цитратів на вивід кондиційного молодняка курчат					
№	К-ть яєць	Дезінфектант	Виводимість, %	Вага на виводі	загиблих %
1	20	Срібло	100 %	57,3 – 56,5	–
2	20	Шумерське срібло	100 %	59,3 – 60,2	–
3	20	Срібло+золото+вісмут	75 %	55,5 – 57,6	25
4	20	Серебро+ золото	75 %	57,5 – 60,1	25
5	20	Цинк	90 %	65,1 – 65,2	–
6	20	Бі-дез	100 %	58,5 – 60,6	–
7	20	Ветокс –1000	50 %	58,2 – 59,2	50
8	20	Срібло+цинк	75,5 %	57,3 – 60,2	25,5
9	20	Контроль	50 %	55,5 – 56,5	50

Згідно результатів наведених таблиці 3.14. в 1, 2, 6 дослідних групах, в яких застосовували дезінфектанти цитратів срібла, «Шумерське срібло», цинку та «Бі-дез», збереженість – 100 %. При використанні цитратів цинку (5 група), виводимість курчат була нижчою від дослідних груп на 10 %, але у порівнянні з контролем, була вищою на 40 %. В дослідних партіях виводимість яєць була на 25-50 % вищою, ніж в контрольній, що ймовірно відбувалось за рахунок відсутності мікробного тиску та зменшення кількості категорії «завмерлих». Застосування водних розчинів досліджуваних дезінфекційних засобів для обробки інкубаційних яєць, а саме цитрат срібла, «Шумерське срібло», «Бі-дез», цитрат цинку пригнічують ріст мікроорганізмів у процесі інкубації, то б то вони діють бактеріостатично. Розвиток ембріонів при цьому, відбувався в межах фізіологічних показників. Дослідження показників шкаралупи яєць, ембріонів, жовткового міхура, залишкового білку, алантоїсу на 7 і 12-ту добу суттєвої різниці в дослідних групах не встановлено.

3.3.2 Визначення токсичності цитратів $\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ та $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$ на дослідних щурах.

Для визначення гострої токсичності цитратів Ag та Zn використовували щурів яким вводили препарати внутрішньошлунково в дозі 100, 150, 200, 250, 300 мг/кг. середньо смертельну дозу (DL_{50}) розраховували за методикою Г. Першиним та Г. Кербером [248].

Результати наведені в таблиці 3.15, 3.16 показують, що вплив цитратів Ag проявлявся майже рівнозначно, як на самцях, так і на самках. Виходячи з результатів проведених спостережень, DL_{50} цитратів срібла для щурів-самок склала $208,0 \pm 35,0$ мг/кг маси тіла, самців – $216,0 \pm 67,0$ мг/кг

Таблиця 3.15

Визначення токсичності цитрату Ag за внутрішньо шлункового введення щурам за методикою Г. Першина, n=6

Показники	Доза препарату, мг/кг				
	100	150	200	250	300
самці					
Загальна кількість тварин, гол.	6	6	6	6	6
Результати: загинуло/вижило	0/6	1/5	2/4	4/2	6/0
Відсоток тварин, які загинули	0	16,6	33,3	66,6	100
a + b	250+350+450+550				
m – n	16,6 – 16,7 – 33,3 – 33,4				
(a + b) • (m – n)	4150–5845–14985–18370				
DL50 = $\frac{4150+5845+14985+18370}{200}$ = $\frac{43350}{200}$ = 216,75					
				DL50 =216,75	
самки					
Загальна кількість тварин, гол.	2	3	4	5	6
	6	6	6	6	6
Результати: загинуло/вижило	0/6	1/4	2/4	5/1	6/0
Відсоток тварин, які загинули	0	16,6	33,3	83,3	100
a + b	250+350+450+550				
m – n	16,6 – 16,7 – 50 – 16,7				
	4150 – 5845– 22500 – 9185				
DL50 = $\frac{4150+5845+22500+9185}{200}$ = $\frac{41680}{200}$ = 208,4					
				DL50 = 208,4	

При внутрішньо шлунковому введенні цитрату срібла DL₅₀ для щурів-самок склала 208,4 мг/кг маси тіла, а самців – 216,75мг/кг. Визначення середньо смертельних доз цитрату срібла за методом Кербером (таблиця 3.16).

Таблиця 3.16

**Визначення токсичності цитрату Ag при внутрішньо шлунковому введенні щурам
(за методикою Г. Кербера), n=6**

Показники	Доза препарату, мг/кг				
	100	150	200	250	300
самці					
Загальна кількість тварин, гол.	6	6	6	6	6
Результати: загинуло/вижило	0/6	1/5	2/4	4/2	6/0
Відсоток тварин, які загинули	0	16,6	33,3	66,6	100
a + b	250+350+450+550				
m – n	16,6 – 16,7 – 33,3 – 33,4				
(a + b) • (m – n)	4150–5845–14985–18370				
DL50 = $\frac{4150+5845+14985+18370}{200} = \frac{43350}{200} = 216,75$					
				DL50 =216,75	
самки					
Загальна кількість тварин, гол.	6	6	6	6	6
Результати: загинуло/вижило	0/6	1/4	2/4	5/1	6/0
Відсоток тварин, які загинули	0	16,6	33,3	83,3	100
a + b	250+350+450+550				
m – n	16,6 – 16,7 – 50 – 16,7				
	4150 – 5845– 22500 – 9185				
DL50 = $\frac{4150+5845+22500+9185}{200} = \frac{41680}{200} = 208,4$					
				DL50 = 208,4	

Аналогічний розрахунок токсичності було проведено із цитратом цинку (табл.3.17, 3.18)

Таблиця 3.17

Визначення токсичності цитрату цинку за внутрішньо шлункового введення щурам за методом, Г. Першина n=6

Показники	Доза препарату, мг/кг				
	100	150	200	250	300
самці					
Загальна кількість тварин, гол.	6	6	6	6	6
Результати: загинуло/вижило	0/6	1/5	2/4	4/2	6/0
Відсоток тварин, які загинули	0	16,6	33,3	66,6	100
a + b	250+350+450+550				
m – n	16,6 – 16,7 – 33,3– 33,4				
(a + b) • (m – n)	4150–5845–14985–18370				
DL50 = $\frac{4150+5845+14985+18370}{200}$ = $\frac{43350}{200}$ = 216,75					
				DL50 =216,75	
самки					
Загальна кількість тварин, гол.	6	6	6	6	6
Результати: загинуло/вижило	0/6	2/4	3/4	5/1	6/0
Відсоток тварин, які загинули	0	33,3	50,0	83,3	100
a + b	250+350+450+550				
m – n	33,3 – 16,7 – 33,3 – 16,7				
	8325 – 5845– 14985 – 9185				
DL50 = $\frac{8325+5845+14985+9185}{200}$ = $\frac{38340}{200}$ = 191,7					
				DL50 = 191,7	

Таблиця 3.18

Визначення токсичності цитрату цинку за внутрішньо шлункового введення щурам за методом, Г. Кербера, n=6

Показники	Доза препарату, мг/кг
-----------	-----------------------

	100	150	200	250	300
Самці					
Кількість тварин, гол	6	6	6	6	6
з них: вижило, гол	6	5	4	2	0
загинуло	0	2	3	4	6
Z	0+1/2	1,0	2,5	3,5	5,0
D	Різ в доз	50	50	50	50
DZ		50	125	175	250
DL ₅₀ =	DL ₁₀₀ –	$\frac{\Sigma (z \cdot d)}{m} = 300 - \frac{50+125+175+250}{6} = 200,0$			
				DL ₅₀ =200,0	
Самки					
Кількість тварин, гол	6	6	6	6	6
з них: вижило, гол	6	4	4	1	0
загинуло	0	2	2	6	6
Z		1,0	2,0	4,0	5,5
D		50	50	50	50
DZ		50	100	200	275
DL ₅₀ =	DL ₁₀₀ –	$\frac{\Sigma (z \cdot d)}{m} = 300 - \frac{50+100+200+275}{6} = 195,84$			
				DL ₅₀ =195,84	

Наведені результати у таблиці 3.17 та 3.18, свідчать, що при внутрішньо-шлунковому введенні цитратів цинку DL_{50} для самців становила 216,75 мг/кг, для самок - 191,7 мг/кг. Для достовірності визначення середньосмертельних доз для лабораторних щурів робили перерахунок за методикою Г. Кербера. Показник токсичності цитрату цинку для самців становив 200,0 мг/кг, для самок – 195,84 мг/кг (114). За період (14 днів) вивчення токсичності цитратів цинку та срібла у піддослідних щурів не спостерігали характерних клінічних ознак отруєння, а навпаки - тварини почували себе добре, споживали корм та воду, зовнішній покрив шерсті був гладкий, блискучий, слизові оболонки мали блідо-рожевий природний колір, рефлекторна збудливість на зовнішні подразники (шум, світло) – збережена, зміни кольору сечі та фекалій не відмічали.

Але для вивчення токсичного впливу цитратів Ag та Zn необхідно достовірно знати загальну реакцію в цілому на дію препарату, оскільки цитрати можуть застосовуватися як зовнішньо, так і внутрішньо. Для цього використовували шкірно-резорбтивну та кон'юнктивальну пробу. Результати наведені у табл. 3.19 та 3.20

Таблиця 3.19

Оцінка набряку шкіри при фізіологічній дії цитратів

Інтенсивність утворення набряку (розмір шкірної складки, мм)			Оцінка набряків балах
Показники	дослідна	контрольна	
Слабкий набряк до 0,3 мм	–	+	1
Помірний набряк 0,4–0,6	–	–	–
Виражений набряк 0,7-1,0	–	–	–
Різно виражений >1,0	–	–	–

Аналізуючи таблицю 3.19, місцево подразнюючої дії досліджуваних препаратів на поверхні шкіри дослідних тварин з утворенням набряку, почервоніння та характерних плям запалення не спостерігали, на відміну від контрольної групи, де поверхню шкіри боків та спини обробляли розчином

натрію хлориду при цьому спостерігали утворення незначного набряку розміром 0,3 мм та незначну еритему, що пов'язано з подразнюючою дією натрію хлора.

Таблиця 3.20

Візуальна оцінка утворення еритеми при фізіологічній дії цитратів

Утворення еритеми (візуально)	Оцінка еритеми за колориметричною лінійкою в балах	
	дослідна	контрольна
Не значна еритема (утворення рожевого фону)	–	1
Помірно виражена (утворення червоного фону)	–	–
Виражена еритема (червоний фон)	–	–
Яскраво виражена еритема (яскраво червоний фон)	–	–

Аналіз токсичності досліджуваних препаратів вивчали за такими показниками: - станом резорбції – за змінами маси тіла;

- стан нервової системи – за сумарно-пороговим показником (СПП) спонтанної рухової активності (СДА);

- реакцію вертикального компонента – за орієнтовною реакцією по вертикальному компоненту (ВДА) і нірковому рефлексу.

При вивченні шкірно-резорбтивної дії іонів цитратів на щурах нами не було відмічено змін поведінки показників у тварин у порівнянні з тваринами контрольної групи. (табл. 3.21).

Як видно з таблиці 3.21, отримані дані свідчать про відсутність токсичного впливу цитратів Ag та Zn на подразнену шкіру піддослідних щурів. Характерні ознаки вираженої дратівливості на цитрати (СПП) у тварин не спостерігали. Розмір шкірної складки становив у дослідній групі – $1,95 \pm 0,04$ мм, у контрольній – $1,90 \pm 0,02$ мм. Загоєння штучно нанесених ран у дослідних групах проходило в 2 рази швидше, ніж у контролі.

Таблиця 3.21

Результати резорбтивно подразнюючої дії іонів цитратів Ag та Zn на поверхню шкіри щурів. ($M \pm m$), (n = 10)

Показники	Дослідна	Контрольна
Маса тіла ,г	200,0 $\pm$ 5,50	198,00 $\pm$ 4,40
СПП умов. од	6,30 $\pm$ 0,53	5,20 $\pm$ 0,27
СДА/15 хв.	410 $\pm$ 10,00	399,10 $\pm$ 9,50
ВДА/1 хв	9,95 $\pm$ 53,00	9,80 $\pm$ 18,00
Нірковий рефлекс за 3 хв	6,90 $\pm$ 0,55	6,80 $\pm$ 0,43

Субхронічну токсичність препаратів визначали за рівнем дратівної дії при використанні аплікаційних пов'язок, просочених іонами цитратів, які наносили на одну добу на поверхню спини та боків за методикою Драйзе [232]. У контрольній групі щурів на ділянки шкіри кожні 2 год наносили розчин натрію хлориду (0,9% розчин).

Дослідження сенсibiliзуючої дії на слизові оболонки очей проводили на мурчаках, яким цитрати закапували в кон'юнктивальний мішок лівого ока в кількості 2-ох крапель (50 мкл), а праве око було контрольним.

За реакцією слизової оболонки повік, рогівки досліджуваного ока спостерігали 7 діб. У мурчаків дослідної групи спостерігали незначне почервоніння рогівки ока, набряк кон'юнктиви з утворенням слизових виділень, через 10–12 годин, але запальної реакції з утворенням кон'юнктивіту не відмічали. Отже, можна сказати, що цитрати срібла та цинку проявляють незначну подразнюючу дію на слизову оболонку очей піддослідних тварин.

Для достовірності антитоксичної дії іонів цитратів досліджували плазму крові на наявність Ig E, які відповідають за утворення алергічної реакції на прояв токсичного впливу застосовуваних препаратів.

Таким чином на підставі отриманих нами результатів досліджень, щодо зразків монокристалічного порошку Ag та Zn було встановлено різний розмір наночасток який коливався від 160 до 350 нм. Цитрати (Ag та Zn) володіють адсорбційними властивостями за рахунок поглинання молекул води, які свідчать про зміну кристалічної форми в аморфну з поступовим перетворенням поверхневих плівок.

Досліджуючи бактерицидні властивості дисперсних розчинів Ag та Zn на окремі культури *Escherichia coli* O2, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus epidermidis*, було виявлено 100% бактерицидну дію Ag по відношенню до всіх досліджуваних культур.

Ризчин з вмістом Zn був ефективним тільки до *Escherichia coli* (сер. O2) та *Staphylococcus epidermidis* інші 2 культури *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* не були чутливими до Zn.

Згідно з ГОСТ_{ом} 12.1.007–76, цитрати Ag та Zn відносяться до 4 класу малотоксичних речовин, які при зовнішньому так і при внутрішньому введенні в організм дослідних тварин не мають виражених клінічних ознак інтоксикації місцево-подразнюючої та шкірно-резорбтивної дії на поверхню шкіри досліджуваних тварин.

3.4 Вивчення терапевтичної ефективності цитратів Zn та Ag при експериментальному ешерихіозі та сальмонельозі

Терапевтичну дію цитрату Zn та Ag вивчали на фоні експериментального ешерихіозу та сальмонельозу. З цією метою нами були проведені дослідження щодо інфікування курчат культурами *E.coli* та *S. pullorum-gallinarum*, ізольованими з патологічного матеріалу птиці різного віку у птахогосподарствах північно-східного регіону. Результати досліджень наведені в таблиці 3.21.

Таблиця 3.21

Результати терапевтичної дії іонів цитрату Ag та Zn за експериментального ешерихіозу.

Групи	К-сть голів	Схема лікування	Одужало	
			голів	%
№ 1, 2 дослідна	7	Задавання цитрату Zn в дозі 15 г/ 250 см ³ води. Внутрішньочеревне інфікування <i>E.coli</i> в дозі 0,2 см ³ .	7	100
	7	Задавання цитрату Ag в дозі 15 г препарату на 250 см ³ води. Внутрішньочеревне інфікування <i>E.coli</i> в дозі 0,2 см ³ .	7	100
№1, 2,3 контрольна	7	Задавання фторфеніколю в дозі 150 мг на 1 дм ³ води. Внутрішньочеревне інфікування <i>E.coli</i> в дозі 0,2 см ³ .	6	90
	7	Задавання амоксицилін клавуланат в дозі 0,15 мг/1 дм ³ води. внутрішньочеревне інфікування <i>E.coli</i> в дозі 0,2 см ³ .	6	90
	7	Курчатам не задавали препарати. Внутрішньочеревне інфікування <i>E.coli</i> в дозі 0,2 см ³ .	2	30

При використанні схеми лікування, що наведена в таблиці 3.21, за період спостережень 14 днів у курчат дослідної групи відмічали відсутність апетиту, загальну слабкість, сонливість, зниження рухливості, появу діареї та зменшення ваги на 5,99 грамів (238,3±2,40). Після задавання цитрату Zn та Ag у птиці відмічали покращення апетиту, збільшення маси тіла та потребу у воді з даними

препаратами. Симптоми захворювання зникали вже на 5-у добу після лікування. У контрольних групах № 1, 2, де використовували антимікробні препарати (фторфеніколь, амоксицилін клавуланат), кількість курчат, які одужали становила 90 %. Одужання проходило повільніше у зв'язку з тим, що постійно персистуючий збудник *E. coli* з кожним роком, стає все більш резистентним до антибіотиків, і як правило, спричиняє захворювання в асоціації з іншими хворобами.

В групі, де не використовували препарати, одужання становило 30 %. При інтраназальному інфікуванні збудником колибактеріозу, спостерігали аналогічні результати, що наведені у таблиці 3.22.

Таблиця 3.22

Ефективність лікування курчат за еширихіозу при інтраназальному зараженні культурою *E.coli*

Групи	К-ть голів	Схема лікування	Одужало	
			голів	%
№1, 2 дослідна	7	Задавання цитрату Zn в дозі 15 грам препарату на 250 см ³ води. Інтраназальне інфікування <i>E.coli</i> в дозі 0,2 см ³ .	7	100
	7	Задавання цитрата Ag в дозі 15 грам препарату на 250 см ³ води. Інтраназальне інфікування <i>e.coli</i> в дозі 0,2 см ³ .	7	100
№1,2,3 контрольна	7	фторфеніколь в дозі 150мг на літр води. Інтраназальне інфікування <i>E.coli</i> в дозі 0,2 см ³ .	5	80
	7	Амоксицилін клавулат в дозі 150мг на літру води. Інтраназальне інфікування <i>E.coli</i> в дозі 0,2 см ³ .	5	80
	7	Курчатам не задавали препарати. Інтраназальне інфікування <i>E.coli</i> в дозі 0,2 см ³ .	3	40

З результатів, наведених у таблиці 3.22 видно що, при інтраназальному зараженні було доведено ефективність (100% одужання) цитрату Zn та Ag.

У курчат з контрольних груп, де були застосовані антимікробні препарати (фторфеніколь, амоксицилін клавуланат), відсоток одужавших становив 80%, і одужання проходило повільніше. В групі, де не використовували препарати,

одужання становило 40 %. Результати досліджень наведені в публікаціях [255, 256, 257]. Подібна схема лікування проти сальмонельозу була проведена нами із хворими курчатами породи леггорн віком 30 діб. У зв'язку з тим, що сальмонельоз є більш небезпечним захворюванням, ніж ешерихіоз, нами розроблено і запропоновано нову схему застосування іонів цитратів в поєднанні з органічними кислотами (яблучної, лимонної, пропіонової), та ефірною олією хвої (табл.3.23).

Таблиця 3.23

**Ефективність застосування цитратів при експериментальному
зараженні курчат культурою *S. pullorum -gallinarum*(n =60)**

Групи	К-сть голів	Схема застосування	Збереженість поголів'я	
			голів	%
№1, 2, 3, 4, дослідна	10	Задавання цитрату срібла у поєднанні із суміші кислот (яблучної, лимонної, пропіонової) у дозі 3:1:200 дм ³ води	10	100 %
	10	Цитрат цинку у поєднанні з органічними кислотами (яблучної, лимонної, пропіонової) у дозі 3:1:200 дм ³	10	100 %
	10	Задавали ZnSe+ефірна олією хвої (5:1:300 см ³ води)	9	90 %
	10	Задавали кормову добавку мікростимулін в дозі 1 см ³ /дм ³	9	90 %
№5 контроль	10	Препаратів не задавали, але інфікували	5	50 %

Якщо при експериментальному ешерихіозі препарати були задані нами після прояву клінічних ознак захворювання, то при експериментальному сальмонельозі, навпаки, одночасно з інфікуванням курчат почали задавати препарати згідно схеми, наведених у таблиці 3.23. З даної схеми лікування видно, що при застосуванні іонів цитратів Zn та Ag в поєднанні із сумішшю органічних кислот організм курчат протистояв впливу *S. pullorum-gallinarum*, що говорить про відсутність клінічних ознак хвороби і їх загибелі.

Аналогічні результати спостерігали, і при інтраназальному введенні культури сальмонели 30 добовим курчатам (табл. 3.24).

Таблиця 3.24

**Ефективність дії іонів цитратів при інтраназальному зараженні курчат
S. pullorum –gallinarum (n =60)**

Групи	К-ть голів	Схема застосування	Збереженість поголів'я	
			голів	%
№1, 2, 3, 4, дослідна	10	Задавання цитрату Ag у поєднанні із сумішшю яблучної, лимонної, пропіонової органічних кислот у дозі 3:1:200 дм ³ води	10	100 %
	10	Задавання цитрату Zn разом з яблучною, лимонною, пропіоновою органічними кислотами у дозі 3:1:200 дм ³	10	100 %
	10	Задавали ZnSe+ефірна олією хвої (5:1:300 см ³ води)	9	90 %
	10	Задавали кормову добавку мікростимулін в дозі 1см ³ /дм ³ .	9	90 %
№5 контроль	10	Препаратів не задавали, але інфікували	5	50 %

При інтраназальному зараженні курчат було доведено ефективність іонів цитратів Zn та Ag в поєднанні з органічними кислотами. Як видно з схеми застосування препаратів, наведених у таблиці 3.24, в групах курчат, які отримували цитрати, реєстрували 100 % збереженість. У курчат дослідних груп №3, 4, які отримували кормову добавку мікростимулін, цитрати цинку+ селен в поєднанні з ефірною олією хвої, відсоток збереженості курчат становив 90 %. В групі, де не використовували препарати, одужання склало 40 %. Після експерименту всіх курчат евтаназували згідно положення «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985)[197].

При патологоанатомічному розтині у курчат, яким не задавали препарати, спостерігали застійне явище в легенях, збільшення печінки, її дряблість та зміну кольору, в кишечнику пінисту рідину та ектеричність слизової оболонки кишок. В усіх інших дослідних групах, характерних змін, спричинених хворобою, не спостерігали. Але, для достовірності дії препаратів, було зроблено висіви із патологічного матеріалу (з печінки, жовчного міхура, з рідини легень

та кишечника) на МПБ та МПА з метою виділення збудника хвороби - росту на середовищах не спостерігали.

Таким чином, наведені результати досліджень свідчать про високу ефективність цитрату Ag та Zn завдяки своїм бактерицидним і антиоксидантним властивостям, сприяють підвищенню рівня захисту організму від патогенного впливу *E.coli.* та *S. pullorum-gallinarum*. Саме цитрат цинку використовуються молодняком птиці як елементи реконструкції для росту, живлення та розмноження. Щодо дії срібла можемо сказати з упевненістю, що воно володіє бактерицидною дією до *S. pullorum-gallinarum*, що згідно отриманих попередньо проведених досліджень впродовж 30 днів, достовірно знижує поширеність сальмонел в кишечнику курчат. Також можна відмітити їх універсальні властивості щодо поєднання з різними лікарськими речовинами, підсилюючи їх ефект.

Саме поєднання іонів цитратів з органічними кислотами є основною ланкою в обміні вуглеводів, білків і жирів, що підтримують сталість кислотно-лужної рівноваги організму, перешкоджає утворенню сприятливих умов для розвитку патогенної мікрофлори, яка розвивається переважно в кислому середовищі. Включення яблучної та пропіонової кислот сприяє утворенню гомогенної мікрофлори, що супроводжується зі збільшенням кількості лактобактерій у клубовій кишці та поліпшує конверсію корму. Лимонна кислота є універсальним метаболітом, що прекрасно поєднується з вище переліченими кислотами, які окислюються до води та вуглекислоти, і це свідчить, що в організмі вони не накопичуються.

Всі інші препарати, які використовувалися для профілактики сальмонельозу, мають не погані показники, але в наступних наших дослідженнях використовуватися не будуть через певну незручність їх в застосуванні в умовах птахівництва (ZnSe +ефірна олією хвої то їх краще застосовувати в умовах птахоферм у вигляді аерозольної обробки, бо в суміші із водою їх попередньо треба розчинити у спиртові).

Отже, на підставі отриманих результатів ми пропонуємо для профілактики ешерихіозу використовувати Zn та Ag у дозі по 15 г/250 см³ води упродовж 5 днів. Стосовно профілактики сальмонельозу курей необхідно випоювати іони цитратів Zn та Ag із сумішшю органічних кислот упродовж 5 днів в дозі 3:1:200 см³води.

3.4.1 Вплив іонів цитратів $\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ та $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)$ на гематологічні показники крові курей

Дослідження крові курчат проводили в два етапи: перший етап передбачав вивчення впливу бактеріального збудника на гомеостаз в цілому; другий – дослідження ефективності дії препаратів на фізіологічні показники.

При вивченні механізму дії препаратів у формуванні імунологічної резистентності організму хворих курчат, вивчали показники клінічного та біохімічного аналізу.

Зокрема за клінічного аналізу звертали увагу на показники еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, лейкограму, бактерицидну активність сироватки крові та лімфоцитарну активність сироватки крові (БАСК та ЛАСК) (табл.3.25)

Таблиця 3.25

**Гематологічні показники крові курчат при ешерихіозі та сальмонельозі
($M \pm m$; $n = 15$)**

Показники	Контроль	№1 При ешерихіозі	№2 При сальмонельозі
Еритроцити, $10^{12}/л$	$1,70 \pm 0,03$	$4,05 \pm 0,65^{**}$	$3,75 \pm 0,59^{**}$
Лейкоцити, $10^9/л$	$30,36 \pm 1,24$	$61,30 \pm 6,80^*$	$62,24 \pm 1,40^*$
Базофіли, %	$3,00 \pm 0,05$	$5,60 \pm 0,78^*$	$5,45 \pm 0,42^*$
Еозинофіли, %	$5,50 \pm 0,26$	$6,42 \pm 1,58^{***}$	$6,40 \pm 0,23^{***}$
Лімфоцити, %	$55,70 \pm 1,95$	$67,03 \pm 1,57^{***}$	$66,58 \pm 1,28^{***}$
Моноцити, %	$4,20 \pm 0,54$	$6,96 \pm 0,19^{***}$	$6,57 \pm 0,58^{***}$
Тромбоцити, г/л	$26,73 \pm 1,19$	$20,40 \pm 1,11^{***}$	$22,38 \pm 1,02^{***}$
Гемоглобін, г/л	$91,82 \pm 2,05$	$80,05 \pm 1,02^{***}$	$79,08 \pm 0,02^{***}$
БАСК, %	$32,75 \pm 1,02$	$25,38 \pm 2,01^{**}$	$26,40 \pm 0,62^{**}$
ЛАСК, %	$7,60 \pm 0,37$	$5,25 \pm 0,42^{**}$	$5,49 \pm 0,05^{**}$

Примітка: різниця вірогідна при – $*P < 0,05$; $**P < 0,01$; $***P < 0,001$ відносно рівня показників дослідних курчат хворих на ешерихіоз та сальмонельоз.

Згідно даних таблиці 3.25, у дослідних групах хворих курчат на ешерихіоз та сальмонельоз спостерігали зміни гематологічних показників, які були вірогідно ($P < 0,01$) підвищенні у два рази, а саме: рівень еритроцитів, відносно контролю ($1,70 \times 10^{12}/л$) становив $4,05 \times 10^{12}/л$ (ешерихіозі) та $3,75 \times 10^{12}/л$ (сальмонельозі); лейкоцити при ешерихіозі були підвищені до $30,94 \times 10^9/л$ та при сальмонельозі до $31,88 \times 10^9/л$; базофіли становили 5,45 % при сальмонельозі, 5,60 % – при ешерихіозі. Різницю достовірності вираховували по формулі точності дослідів - m % [264].

$$m \% = \frac{(M_d - M_k)}{M_k} * 100 ,$$

$$\text{де: } m \% = \frac{5,60 - 3,00}{5,60} * 100 = 46,4 \% \text{ та } m \% = \frac{5,45 - 3,00}{5,45} * 100 = 44,9 \%$$

Згідно, з цією формулою видно, що підвищення достовірності у відсотковому складі між дослідом та контролем за ешерихіозу та сальмонельозу

становить підвищення до 46,4 % та до 44,9 % в порівнянні з контролем ($3,00 \pm 0,05$; $P < 0,05$).

Згідно формули аналогічно були підвищені і моноцити на 65,7% при ешерихіозі та 56,4% – сальмонельозу, відносно контролю ($4,20 \pm 0,54$; $P < 0,001$).

Прирівнюючи параметри показників еозинофілів контрольної групи, їх рівень до захворювання становив 5.50 % і змінювався вбік підвищення на 16,7 % ($6,42 \pm 1,58$) та 16,3 % ($6,40 \pm 1,62$) відповідно ($P < 0,001$), що свідчить про сенсibiliзуючу активність клітин на збудників ешерихіозу та сальмонельозу.

Зниження рівня показників тромбоцитів, гемоглобіну, БАСК, ЛАСК, говорить про розвиток бактеріального захворювання із стрімким виснаженням організму та пригніченням захисних сил, які надалі не можуть протистояти збуднику.

Кількість тромбоцитів в контрольній групі становила $26,73 \text{ г/дм}^3$, в досліді 20,40 та $22,38 \text{ г/дм}^3$, що на $6,33 \text{ г/дм}^3$ нижча за ешерихіозу та на $4,35 \text{ г/дм}^3$ за сальмонельозу, що, на нашу думку, зумовлено виділенням токсинів даних збудників бактеріальних хвороб, які перешкоджають тромбоутворенню.

В порівнянні з контролем (32,75%; $P < 0,01$) була нижчою і БАСК– на 22,50 % при ешерихіозі та на 19,38 % при сальмонельозі. Також спостерігалось зниження лімфоцитарної активності на 30,9 % ($5,25 \pm 0,42\%$) та 27,7 % ($5,49 \pm 0,05\%$), відносно контролю (7,60%; $P < 0,01$).

Зміни фізіологічної норми досліджуваних показників крові курчат хворих, на ешерихіоз та сальмонельозу, спостерігали при проведенні біохімічного аналізу крові на рівень загального білка, глюкози ферментативних показників АсАТ і АлАТ, рівень сечовини та креатиніну (табл. 3.26).

Таблиця 3.26

Показники біохімічного аналізу крові курчат, хворих на сальмонельоз та ешерихіоз ($M \pm m$; $n = 15$)

Показники	Контроль	№ 1 При ешерихіозі	№ 2 При сальмонельозі
Загальний білок, г/л	29,07±0,30	25,81±0,55***	26,05±0,14***
Рівень глюкози, ммоль/л	3,58±0,01	2,20±0,16***	2,22±0,14***
Альбуміни, %	33,12±1,02	32,41±1,67	33,11±1,50
α-глобуліни %	16,89±0,43	17,25±0,47	17,19±0,28
β-глобуліни %	14,46±0,41	13,30±0,91	13,90±0,52
γ-глобулінів	35,80±0,75	35,10±0,65	34,8±1,30
Рівень білірубину, ммоль/л	1,70±0,01	1,79±0,05	1,67±0,04
АсАт, од/л	8,50±0,03	9,27±0,17***	9,10±0,19***
АлАт, од/л	8,90±0,04	9,40±0,08***	9,50±0,14***
Сечовина	2,52±0,24	2,50±0,21	2,51±0,22
Рівень сечової кислоти, ммоль/л	8,30±0,10	8,45±0,03	8,43,±0,30
Креатенін	56,37±1,70	54,63±1,25	55,12±1,24

*Примітка: різниця вірогідна при – *** $P < 0,001$ відносно рівня показників дослідних курчат хворих на ешерихіоз та сальмонельоз.*

З таблиці 3.26, видно, що перебіг ешерихіозу та сальмонельозу вплинув на біохімічні показники крові, які характеризувалися рівнем зниження загального білку при ешерихіозі до 25,81±0,55 та сальмонельозі до 26,05±0,14 г/л (11,2 % та 10,43%, $p < 0,001$), що на 4-3 г/л відповідно нижче відносно контролю (29,07±0,30 г/л). Рівень глюкози в дослідних групах достовірно становив 2,20±0,16 та 2,22±0,14 ммоль/л ($P < 0,001$) на відмінну від контролю (3,58±0,01), що можливо було спричинено наслідком голодування курчат за перебігу даних хвороб.

Стосовно ферментативних показників – спостерігали незначне підвищення АсАт та АлАт внаслідок ендогенної інтоксикації організму через накопичення сальмонел та ешерихій у печінці, жовчному міхурі, серці та селезінці.

Так, показник АсАт становив $9,27 \pm 0,17$ од/л (при ешерихіозі – 9,05%) та $9,10 \pm 0,19$ од/л (при сальмонельозі – 7,05%), на відмінну від контролю ($8,50 \pm 0,03$; $P < 0,001$).

Щодо АлАт – при ешерихіозі до $9,40 \pm 0,08$ од/л (5,6%), сальмонельозі до $9,29 \pm 0,02$ од/л (4,3%) відносно контролю ($8,90 \pm 0,04$; $P < 0,001$.) відповідно.

Отримані показники білірубіну, сечової кислоти, креатиніну та сечовини не були вірогідно достовірними.

Одержані результати досліджень крові хворих курчат на ешерихіоз та сальмонельоз свідчать про вірогідне ($P < 0,005$) підвищення у 1,5 і 2 рази (еритроцитів, лейкоцитів, еозинофілів, базофілів, моноцитів та ферментативних показників АсАт і АлАт), але в той же час зниження (тромбоцитів, гемоглобіну, БАСК, ЛАСК, загального білку та глюкози) у 1,3-1,5 рази. Що підтверджує розвиток запального процесу який був спричинений збудниками цих хвороб. Наступну серію гематологічних досліджень було проведено після лікування хворих курчат цитратами за схемами, які попередньо наведені в розділі 3.4. Для цього було створено 2 групи контролю із клінічно хворими на сальмонельоз та ешерихіоз курчатами (табл. 3.27)

Таблиця 3.27

Гематологічні показники крові курчат кросу Ломан LSL Lait до та після поєднання цитратів Zn та Ag з органічними кислотами при ешерихіозі та сальмонельозі, M±m; n =15

Показники	До лікування		Після лікування			
	№1 контроль ешерихіоз	№2 контроль сальмонельоз	№1 Хворі на ешерихіоз		№2 хворі на сальмонельоз	
			Zn	Ag	Zn+K	Ag+K
RBC 10 ¹² /л	4,05±0,65**	3,75±0,59**	1,73±0,05**	1,76±0,16**	1,45±0,07**	1,50±0,02**
WBC 10 ⁹ /л	61,30±6,80*	62,24±1,40*	30,36±0,15*	28,37±0,60*	38,41±0,44	34,04±0,01
Еозинофіли%	6,42±1,58**	6,40±1,62**	4,25±0,35	3,15±0,19	3,13±0,31	3,45±0,28
Моноцити %	6,96±0,19***	6,57±0,58***	4,00±1,08	3,98±0,70	4,75±0,26	3,50±0,58
Лімфоцити %	58,12±1,15	60,23±2,14	21,46±1,5***	14,18±1,99***	17,13±0,29	18,00±1,58
Базофіли %	5,60±0,35*	5,45±0,42*	3,00±0,10	2,96±0,24	0,40±0,70	0,60±0,5
БАСК %	25,38±2,01**	26,40 ±0,62**	61,73±1,73***	62,50±2,01***	59,70±1,11	60,82±1,07***
ЛАСК %	5,25±0,42***	5,49±0,05***	27,8±0,05	26,2±0,12	25,8±0,52	26,2±0,12
PLT г/л	20,40±1,11***	22,38±1,02***	27,73±0,19	25,93±1,24	27,33±1,15	29,07±0,64
Hg г/л	80,05±1,02***	79,08±0,02***	91,82±2,05	90,84±2,23	93,40±1,99	89,94±2,28

Примітка: різниця вірогідна при – *P < 0,05; **P < 0,01; ***P < 0,001 відносно рівня показників дослідних курчат, хворих на ешерихіоз та сальмонельоз.

Згідно результатів наведених у таблиці 3.27 можна сказати, що у дослідної групи курей (№1 хворі на ешерихіоз), яким задавали цитрати Zn та Ag спостерігали зниження: еритроцитів в 2,3 рази, лейкоцитів в 2 – 2,2 рази, еозинофілів в 1,5 – 2,2 рази, моноцитів в 1,7 – 1,5, лімфоцитів в 2,7 – 5,0 разів. базофілів в 1,8 рази відповідно до контролю ($5,60 \pm 0,78\%$; $P < 0,05$).

Проте, використання Zn та Ag сприяло вірогідному ($P < 0,001$). підвищенню БАСК в 2,5 рази та ЛАСК в 5,3 рази відносно контролю ($5,25 \pm 0,42$; $P < 0,001$).

На підставі отриманих результатів, можна вважати, що зниження показників еритроцитів та лейкоцитів зумовлено ефективною дією застосовуваних препаратів Ag та Zn, що вказує на відсутність негативної дії препаратів та зменшення запалення в організмі хворих курчат на ешерихіоз.

При сальмонельозі курчат нормалізацію кількості еритроцитів та лейкоцитів спостерігали під час поєднання іонів цитратів Ag та Zn з органічними кислотами. Так, кількість еритроцитів знизилася у 2,5 рази, лейкоцити у 1,6 (Zn+K) та 1,8 (Ag +K) рази, відповідно до контролю ($62,24 \pm 1,40$; $P < 0,05$).

Рівень моноцитів знизився у 1,3 (Zn+K) та 1,8 (Ag +K) рази, еозинофіли – в 2 та 1,8 (Zn+K та Ag +K) рази. Лімфоцити – у 3,5 та 3,3 разів були нижче за контроль ($60,23 \pm 2,14\%$; $P < 0,01$).

Гемоглобін в межах норми в усіх дослідних групах ($91,82 \pm 2,05$ та $90,84 \pm 2,23$ г/л $93,40 \pm 1,99$ г/л та $89,94 \pm 2,28$ г/л).

Стосовно БАСК – спостерігали її підвищення на 2,2 (Zn+K) та 2,3 (Ag+K) рази у порівнянні з контролем ($26,40 \pm 0,62$) %. ЛАСК підвищена в 4.6 та 4.7 рази.

Рівень біохімічних показників після лікування даними препаратами суттєво змінився в бік нормалізації фізіологічної норми метаболічних та ферментативних показників білка, білкових фракцій (α - β - γ глобулінів), глюкози, сечової кислоти, АсАТ та АлАТ. Дані наведені в таблиці 3.28

Таблиця 3.28

Результати біохімічних аналізів крові курчат після застосування препаратів з лікувальною метою, $M \pm m; n=15$

Показники	До лікування		Після лікування			
	№ 1 контроль ешерихіоз	№ 2 Контроль сальмонельоз	ешерихіоз		сальмонельоз	
			№1 Zn	№2 Ag	№3 Zn+K	№4 Ag+K
Загальний білок г/л	25,81±0,55***	26,05±0,14***	30,60±0,10***	30,61±0,20***	30,97±0,01***	30,94±0,01***
Альбуміни %	32,41±1,67	33,11±1,50	33,20±0,65	31,58±0,42	33,12±1,02	32,42±1,78
α-глобуліни %	17,39±0,87	17,25±0,47	16,86±0,45	16,52±0,43	16,44±0,68	16,02±0,49
β-глобуліни %	13,30±0,91	13,90±0,52	14,46±0,41	14,28±1,01	14,92±0,77	14,9±0,44
γ-глобулінів	35,10±0,65	34,80±1,30	35,80±0,75	33,02±1,24	35,06±1,43	36,00±1,60
Рівень глюкози ммоль/л	2,35±0,11	2,37±0,05	3,69±0,03***	3,69±0,03***	3,75±0,04***	3,75±0,04***
Рівень білірубіну мкмоль/л	3,30±0,05	3,40±0,04	1,90±0,05	1,90±0,05	2,00±0,03	2,0±0,03
АлАТ Од/л	9,40±0,08***	9,50±0,14***	8,58±0,28	9,04±0,72	8,48±0,54	9,40±0,41
АсАТ Од/л	9,27±0,17***	9,10±0,19***	8,35±0,36	9,39±1,27	9,95±1,90	8,75±2,24
Рівень сечової кислоти ммоль/л	8,30±0,10	8,45±0,03	8,40±0,05	8,43±0,88	8,42±1,05	8,45±2,05
Сечовина ммоль/л	2,50±0,21	2,51±0,22	2,52±0,24	2,55±0,65	2,52±0,45	2,49±0,32
Креатенін мг/л	54,63±1,25	55,12±1,24	56,37±1,70	54,49±1,02	57,02±1,19	56,41±1,28

Примітка: різниця вірогідна при – *** $P < 0,001$ відносно рівня показників дослідних курчат хворих на ешерихіоз та сальмонельоз.

Згідно таблиці 3.28, слід зазначити, що в сироватці крові контрольної та дослідної птиці після задавання препаратів упродовж експерименту вміст загального білку підвищився в цілому, при ешерихіозі на 69,3 та 69,4 відповідно, при сальмонельозі – на 67,1% та 67,5 % в порівнянні з контролем ($25,81 \pm 0,55$; $26,05 \pm 0,14$ г/л; $P < 0,001$) відповідно.

При вивчаємих хворобах рівень альбумінів, АсАТ, АлАТ, сечової кислоти, креатиніну, сечовини в сироватці крові показники були майже однакові вірогідної різниці не було встановлено.

При застосуванні ж нами іонів цитратів Ag та Zn (Zn+K та Ag+K) спостерігали вірогідне зниження (еритроцитів, лейкоцитів, лімфоцитів базофілів, еозинофілів, моноцитів) та підвищення (БАСК, ЛАСК, загального білку та глюкози в сироватці крові) гематологічних показників до нормалізації фізіологічних параметрів клінічної та біохімічної картини крові.

Таким чином, спостерігаєма динаміка характерних змін говорить про активізацію клітин імунної системи, які беруть участь у формуванні гуморальної ланки імунітету за впливу бактерій на макроорганізм [258]

3.5. Вивчення ефективності антибактеріального засобу широкого спектру дії «Сарофлоск» для лікування ешерихіозу та сальмонельозу.

Наступним етапом наших досліджень було випробування та оцінка нового препарату «Сарофлоск» товариства НВФ «Бровафарма». Препарат «Сарофлоск» являє собою білий порошок, який містить у своєму складі сарофлоксацин гідрохлорид, діє проти грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів, у тому числі резистентних до β -лактамних антибіотиків, тетрациклінів, макролідів і аміноглікозидів: *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Pasteurella spp.*, *Haemophilus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Campylobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Bordetella spp.*, *Clostridium spp.*, *Yersinia spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.*, *Ornithobacterium spp.* і т. п. Сарафлоксацин є одним з основних в програмах лікування птиці при колібактеріозі і сальмонельозі.

У ході проведення даного експерименту було з'ясовано, що дослідний зразок препарату «Сарофлоск» проявив виражені профілактичні властивості при експериментальному ешерихіозі та сальмонельозі птиці, який був обумовлений *E.coli* (O78) та *Salmonella enteritidis* (табл.3.29, 3.30).

Таблиця 3.29

Ефективність використання препарату «Сарофлоск» при експериментальному ешерихіозі курчат, ($M \pm m$; $n=10$)

Показники	Контрольна група			Дослідна група №1		Дослідна група №2	
	№1	№2	№3	№1	№2	№1	№2
Інфікування культурою <i>E.coli</i> (O78) в дозі 10^6 мк/см ³							
Спосіб інфікування	в/ч	і/н	—	в/ч	і/н	в/ч	і/н
Задавання препарату	Препарати не задавали			«Сарофлоск» за 5 днів до інфікування		«Сарофлоск» після прояву хвороби	
К-ть курчат у групі, гол.	10	10	10	10	10	10	10
К-сть загинув, гол.	6	8	0	1	2	0	0
К-сть живих, гол.	4	2	10	9	8	10	10
Збереженість, %	40	20	100	90	80	100	100

При аналізі даних таблиці 3.29, встановлено, що курчата контрольної групи №1 та №2 перехворіли на ешерихіоз з високим рівнем летальності – 60–80 %. Загибель була вищою в групі, де інфікування культурою ешерихій було інтранозальним. Контрольну групу № 3 було відсаджено в окреме ізольоване приміщення для усунення перехресного інфікування. Курчата із дослідної групи № 2, що були експериментально інфіковані збудником ешерихіозу, яким з лікувальною метою застосовували розчин експериментального препарату «Сарофлос» в дозі 0,24 мг на 1 дм³ води, були надійно захищені застосованою схемою терапії, котра забезпечила 100 % збереженість поголів'я в обох підгрупах, не залежно від методу інфікування. В дослідній групі № 1, де експериментальний препарат застосували з профілактичною метою за 5 діб до інфікування курчат, збереженість становила 90 та 80 % в підгрупах № 1 та № 2 відповідно, яких було інфіковано однаковою дозою збудника, але різними способами введення (внутрішньочеревне та інтранозальне відповідно). У підгрупах №1 і №2 контрольної, збереженість становила 40 та 20 % відповідно. При розтині трупів загиблих курчат були відмічені зміни, переважно в органах дихання, слизові оболонки яких були гіперемійовані, вкриті пластівцями фібрину, фібринозний перикардит, фібринозний перигепатит, плевра й очеревина вкриті фібринозними плівками та нашаруваннями. Таким чином, було з'ясовано, що новий екологічно безпечний препарат виявився ефективним для профілактики ешерихіозу. Аналогічні дослідження щодо використання препарату «Сарофлос» були проведені на курях, яких інфікували *Salmonella enteritidis* (табл.3.30).

Таблиця 3.30

**Ефективність використання препарату «Сарофлос»
при експериментальному сальмонельозі курчат, $M \pm m$; $n=10$**

Показники	Контрольна група			Дослідна група №1		Дослідна група №2	
	№1	№2	№3	№1	№2	№1	№2
	Інфікування культурою <i>S. enteritidis</i> в дозі 10^6 мк/см ³						
Спосіб інфікування	в/ч	і/н	–	в/ч	і/н	в/ч	і/н
1	2	3	4	5	6	7	8

Продовження таблиці 3.10

1	2	3	4	5	6	7	8
Задавання препарату	Препарати не задавали			«Сарофлос» за 5 днів до інфікування		«Сарофлос» після прояву хвороби	
К-ть курчат у групі, гол.	10	10	10	10	10	10	10
К-сть загинув, гол.	9	10	0	1	2	0	0
К-сть живих, гол.	1	0	10	9	9	10	10
Збереженість, %	10	0	100	90	90	100	100

Як видно з даних, наведених у таблиці 3.30, курчат контрольних підгруп експериментально інфікували *S. enteritidis* дозою 10^6 мк/см³. № 1-у групу заражали внутречеревнево, № 2 -у інтраназально. За курчатами спостерігали протягом місяця. В № 1 групі збереженість склала 10 % в №2 групі – 0, то б то загинули – 100%, №3 група інфікуванню не підлягала. Курчатам дослідної групи № 1 (п/г №1 та 2) перед інфікуванням за 5 діб задавали з профілактичною метою препарат «Сарофлос» в дозі 0,24 мг/дм³ води після чого вони були аналогічно контрольній групі інфіковані *S. enteritidis*.

У підгрупі № 1 та № 2 не залежно від способу інфікування загинуло лише по 1 курчаті через 14 та 16 діб відповідно збереженість птиці до кінця досліджень становила 90%.

Що, стосується дослідної групи № 2, курчат спочатку інфікували збудником сальмонельозу подібно до дослідної групи №1. На 3-тю та 4-ту добу спостерігали птицю, яка відокремлювалася від загальної кількості птахів, і відмічали скуйовдженість оперення, діарею та відмову від корму та води. Наявність клінічних ознак сприяло застосуванню препарату «Сарофлос» в тій же дозі що й в дослідній групі № 1.

Після задавання препарату у курчат зникли симптоми захворювання, і береженість до кінця дослідження склала 100% [253].

Окрім бактеріального захисту препарату, відмічали безпосередній його вплив на живу масу бройлерів- у дослідній групі вона становила 563 а в контрольній -530 г. Дані щодо динаміки живої маси наведені в таблиці 3.31

Таблиця 3.31

Результати Динаміка живої маси бройлерів при випробуванні препарату «Сарофлор», ($M \pm m$; $n=10$)

Група	Вік / маса			
	10	20	30	36
Контроль	382,4 $\pm$ 10,2*	750,6 $\pm$ 9,8*	1250,4 $\pm$ 11,8*	1770,1 $\pm$ 10,2*
Дослід	402,6 $\pm$ 12,1*	780,1 $\pm$ 8,4*	1270,8 $\pm$ 10,6*	1890,5 $\pm$ 9,8*
Різниця, г	+20,2 $\pm$ 1,2*	+20,5 $\pm$ 0,9*	+20,4 $\pm$ 1,7*	+20,4 $\pm$ 1,2*
Різниця, %	+9,4	+9,6	+9,6	+9,3

Примітка: вірогідність різниць із тваринами контрольної групи: * - $P < 0,05$

З даних таблиці видно, що середня жива маса бройлерів протягом 36 днів вирощування була вищою на 9,3 % порівняно з контролем. Динаміку збереженості поголів'я також враховували у цьому ж віці, і було встановлено, що збереженість поголів'я на 36 день вирощування в дослідній групі склала 98,7 %, в контрольній 97,3 %.

Таким чином, нами було встановлено, що новий експериментальний препарат «Сарофлор» проявив високу терапевтичну ефективність (100%) при застосуванні під час перебігу ешерихіозу та сальмонельозу, та значну профілактичну здатність при попередній корекційній обробці курчат. Крім того, застосування препарату підвищувало живу масу бройлерів у 36-денному віці на 9,3 %, а збереженість – на 1,4 %.

3.6 Обґрунтування перспективи застосування профілактичного комплексу при ешерихіозі та сальмонельозі в умовах виробництва.

Ефективність даних препаратів вивчали в умовах птахогосподарства ТОВ «Сумитехнокорм» Недрегайлівського району Сумської області, в якому реєстрували спорадичні випадки захворювання птиці на ешерихіоз та сальмонельоз. Дослідження проводили на курчатах кросу «Хайсекс Браун» віком 72 доби, живою масою 1,2 кг. Нами було проведено аналіз бактеріальної забрудненості в даному господарстві та проаналізовано всі фактори, які впливають на зміну кількісного складу мікрофлори птиці. При вивченні бактеріальної контамінації проводили метод прижиттєвого бактеріального контролю, що базується на дослідженні мікрофлори травного тракту та проб свіжого посліду. Зі стін, кліток, годівниць, технологічного обладнання та яєць робили змиви та окремо відбирали проби корму та води. Також, проводили патологоанатомічний розтин загиблої птиці.

З посліду курей було виділено: *Escherichia coli* – 22 %, *Sallmonell* – 10 % (*S. pullorum-gallinarum*, *S. enteritidis* по 5 % кожного), *P. vulgaris* – 7.5 %, *S. aureus* – 9 %. Аналогічну мікрофлору ізолювали при дослідженні трупного матеріалу (*Escherichia coli* – 25 %, *S. pullorum-gallinarum* – 6 %, *S. enteritidis* – 6 %, *S. aureus* – 5 %, *S. pyogenes* – 4,5%).

Зі стін кліток, годівниць технологічного обладнання було виділено змішану мікрофлору, яка представляла собою сукупність стрептококів, стафілококів, ентеробактерій та протей (*S. faecalis* – 3,6 %, *S. avium* – 2,0 % та незначний відсоток *S. saprophyticus* – 2,5 %, *S. aureus* – 1,5 %, *E. cloacae* – 3,6 % та на *E. aerogenes* 5,3 %).

З корму ізолювали *E.coli* – 8,9%, *S. enteritidis* – 1 %. З яєць – *E. cloacae* – 3,2%, *P. aeruginosa* – 1%.

Судячи з аналізу мікробіологічних досліджень птахогосподарства, можна з певністю сказати, що умовно-патогенна мікрофлора присутня в організмі здорової птиці та тієї, що перехворіла, і є досить поширеною у зовнішньому

середовищі пташника. У господарстві для лікування та профілактики бактеріальних хвороб птиці проводять заходи, що базуються на хіміотерапії. Використання антибактеріальних препаратів широкого спектру дії, таких як «Триколіна» та «Тіоцефура» є основною ланкою в лікуванні сальмонельозу [256].

Але згідно правил МЕБ суворо забороняється використовувати антибіотики та будь-які лікарські засоби, які здатні накопичуватися в продукції харчування. Постійне застосування цих препаратів призведе до формування стійкості та перехресної резистентності патогенної мікрофлори.

В якості альтернативи антибактеріальним препаратам нами запропоновано іони цитратів Ag та Zn для профілактики та дезінфекції приміщень.

Для усунення рециркуляції умовно-патогенної мікрофлори у приміщенні пташників № 1 та № 2 застосовували аерозольний метод дезінфекції розчином Ag та Zn – 3 % (хімічна формула розчинів $\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ – 3 % та $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)^2$ – 3 %) із розрахунку $0,3 \text{ см}^3/\text{м}^2$. за допомогою аерозольного генератора САГ-10.

До застосування розчинів кількість бактеріальних збудників становила від $12,8 \pm 1,0$ (*Enterobacter aerogenes*) до $138 \pm 5,6$ (*E. coli*).

Після використання розчинів цитратів кількість мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae* різко зменшилась, а саме ешерихій – у 10, сальмонел – 19, ентеробактер (*E. aerogenes* та *E. cloacae*) – 6, стрептококів – 15, стафілококів – 24, протей – 30 разів (табл. 3.32).

Таблиця 3.32

Кількість мікроорганізмів, виділених зі стін та технологічного обладнання пташника, ($M \pm m; n=20$)

Мікроорганізми	Кількість мікроорганізмів		
	до обробки	пташник № 1 $\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ –3 %	пташник № 2 $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)^2$ –3%
1	2	3	4
<i>E. coli</i>	$138,00 \pm 5,60$	$13,75 \pm 1,30$	$14,00 \pm 1,20$
<i>S. pullorum-gallinarum</i>	$39,0 \pm 1,70$	$2,35 \pm 0,05$	$3,00 \pm 1,00$
<i>S. enteritidis</i>	$24,00 \pm 1,20$	$4,00 \pm 1,00$	$5,00 \pm 1,50$
<i>S. typhimurium</i>	$16,00 \pm 0,50$	$1,00 \pm 0,02$	$2,00 \pm 0,05$
<i>P. vulgaris</i>	$13,50 \pm 1,30$	$1,00 \pm 0,03$	$2,00 \pm 0,05$

Продовження таблиці 3.32

1	2	3	4
<i>S. aureus</i>	48,10±2,50	2,00±1,20	3,00±1,50
<i>Str. Faecalis</i>	15,00±1,00	1,00±0,05	2,00±1,00
<i>Str. avium</i>	15,12±0,20	1,00±0,03	2,00±0,05
<i>E. aerogenes</i>	12,80±1,00	2,00±0,50	3,00±1,00
<i>E. cloacae</i>	13,70±1,30	2,00±0,50	3,00±1,00

Примітки: вірогідність різниць із тваринами контрольної групи:
*** $P < 0.001$

Бактерицидна дія $Zn_3(C_6H_5O_7)_2$ – 3% на умовно-патогенні мікроорганізми була іншою. Так, кількість ешерихій знизилася у 9, сальмонел – 13, ентеробактер – 4, стрептококів – 7, стафілококів – 16, протеї – 6 разів.

Для оздоровлення птахогосподарства 5 добовим курчатам випоювали іони цитратів $3Ag+C_6H_5O_7^{3-}$ та $3Zn_2+2C_6H_5O_7^{3-}$ в дозі по 15 г на 250 см³ води протягом 5 діб. До та після використання препаратів визначали мікрофлору харчового тракту молодняку курчат.

До використання препаратів із 1 граму посліду було виділено 5 видів мікроорганізмів, а саме: *E. coli*, *S. pullorum – gallinarum*, *S. enteritidis*, *P. vulgaris*, *S. aureus*. Найбільшу кількість з них становили *E. coli* – 145±8,7, *S. pullorum-gallinarum* – 59±4,1 та *S. aureus* – 53±2,3 (табл. 3.33)

Таблиця 3.33

Кількість мікроорганізмів у посліді ремонтного молодняку курей до та після застосування іонів цитратів Ag та Zn, ($M \pm m$; n=20)

Мікроорганізми	Кількість мікроорганізмів в 1г посліду		
	до використання препаратів	після	після
		іони цитрату $3Ag+C_6H_5O_7^{3-}$	іони цитрату $3Zn_2+2C_6H_5O_7^{3-}$
<i>Escherichia coli</i>	145,00±8,70	14,00±6,20**	14,00±6,20**
<i>Salmonella pullorum – gallinarum</i>	59,00±4,10	4,00±1,10**	4,00±1,10**
<i>Salmonella enteritidis</i>	35,00±1,70	2,00±1,20**	2,00±1,20**
<i>Proteus vulgaris</i>	13,00±1,30	1,00±1,20**	1,00±1,20**
<i>Staphylococcus aureus</i>	53,00±2,30	2,00±1,70**	2,00±1,70**

Примітки: вірогідність різниць із тваринами контрольної групи:** $P < 0,01$

Після застосування іонів цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ кількість мікроорганізмів в посліду ремонтного молодняку істотно зменшилося в декілька разів, а саме: *E. coli* в 10 разів, *S. pullorum – gallinarum* в 14, *S. enteritidis* в 17, *P. vulgaris* в 12, *S. aureus* в 26 разів.

З даного експерименту видно, що птиця в дослідних групах № 1 та № 2 мала більший відсоток збереженості поголів'я – 95,9 % та 96,6 %, приріст живої маси становив 55 г у порівнянні з птицею контрольної групи (50 г) і відсоток збереженість поголів'я становила 51, дані наведені в таблиці 3.33.

Таблиця 3.34

**Терапевтична ефективність іонів цитратів Ag та Zn при ешерихіозі птиці
M±m (n=4000)**

Показники	№1 $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$	№ 2 $3\text{Zn}^{2+}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$	Контроль
	При ешерихіозі		
Кількість курчат, яких лікували	4000	4000	4000
З цього числа: пало/одужало гол.	580/3420	582/3418	600/3400
Тривалість курсу лікування	5 днів	5 днів	5 днів
Добова доза	15 г/250 см ³ води	15 г/250 см ³ води	1 см ³ /1 дм ³ води
Термін спостереження	42	42	42
Маса тіла на початок досліджу	795,4±0,42	795,4±0,42	795,4±0,42
Маса тіла на кінець досліджу	850,9±0,15	850,9,±0,15	845,5±1,50
Збереженість %	95,9	96,6	51,0 %

Примітка: вірогідність різниць із тваринами контрольної групи: *** - $P < 0,001$

Таким чином, згідно результатів, наведених у таблиці 3.33, при оздоровленні птахогосподарства від бактеріальних хвороб птиці встановлено, що комплексне застосування препаратів у вигляді розчинів та іонів цитратів кількість патогенної мікрофлори дає змогу зменшити бактеріальну флору як в навколишньому середовищі пташника (від 4 до 24 разів), так і в організмі самої птиці (від 10 до 26 разів) залежно від виду мікроорганізмів (*Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*). А також, при використанні іонів цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ спостерігали не тільки збереженість молодняку, а й зміну

маси тіла (табл. 3.33). Тому для профілактики бактеріальних хвороб птиці вважаємо можливим використовувати іони цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ в якості корекційної обробки від патогенного впливу *E. coli*, *S. pullorum* – *gallinarum*, *P. vulgaris*, *S. aureus*.

Аналогічну серію дослідів нами було проведено при асоційованому перебігу ешерихіозу та сальмонельозу в бройлерному господарстві орендованованої частини ТОВ «Сумитехнокорм» під назвою ТОВ «Інкубатор», що знаходиться в селі Боромля Тростянецького району Сумської області. Клінічно хворих курчат лікували новим антибактеріальним препаратом «Сарофлос», порівнюючи його із широковідомим препаратом, який застосовувався в даному господарстві для лікування ешерихіозу та сальмонельозу - «Енрофлоксацин». Умовно хворим курчатам місячного віку задавали іони цитратів Ag та Zn в дозі по 15 г на 250 см³ води впродовж 5 днів (табл. 3.34).

Таблиця 3.35

Ефективність використання іонів цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ на умовно хворих курчат- бройлерів за ешерихіозу та сальмонельозу $M \pm m$ (n=2000)

Показники	Іони цитрату Ag	Іони цитрату Zn	Контроль
К-ть курчат, яких лікували / гол.	2000	2000	2000
З цього числа: пало / одужало / гол	59/1941	59/1941	250/1750
У тому числі від бактеріальних хвороб / %	-	-	12,5
Тривалість курсу задавання Препаратів / днів	5 днів	5 днів	-
Добова доза / см ³ /дм ³	15г/250 см ³ води	15 г/250см ³ води	-
Середньодобовий приріст / г	84,5±0,2	84,5±0,2	75,2±8,2
Збереженість / %	97 %	97 %	87,5

Як бачимо з таблиці 3.34 збереження поголів'я при використанні іонів цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ становив 97 %, і слід відмітити, що

в дослідних групах загибель курчат від бактеріальних хвороб не була зареєстрована на відмінну від контрольної групи, де смертність становила 12,5 %, а збереження - 87,5 %.

Результати вивчення терапевтичної ефективності «Сарофлоск» в умовах птахогосподарства ТОВ «Інкубатор» село Боромля Тростянецького району Сумської області показали високу ефективність при ешерихіозі курчат, відсоток збереження склав 95,1 % (табл. 3.35).

Таблиця 3.36

Терапевтична ефективність препарату «Сарофлоск» за ешерихіозу та сальмонельозу курчат-бройлерів $M \pm m$ ($n=2000$)

Показники	Сарофлоск 10 %	Енрофлокса- цин 10 %	Сарофлоск 10 %	Енрофлокс ацин 10 %
	при ешерихіозі		при сальмонельозі	
Кількість курчат, яких лікували / гол.	2000	2000	2000	2000
З цього числа: пало/одужало / гол.	98/1902	125/1875	108/1892	130/1870
Тривалість курсу лікування / днівднів	5	5	5	5
Добова доза / $\text{см}^3/\text{дм}^3$	0,24 $\text{см}^3/1 \text{ дм}^3$ води	1 $\text{см}^3/1 \text{ дм}^3$ води	0,24 $\text{см}^3/1 \text{ дм}^3$ води	1 $\text{см}^3/1 \text{ дм}^3$ води
Збереженість %	95,1	93,7	94,6	93,5

Як видно з таблиці 3.35, при сальмонельозі курчат збереження поголів'я становило 94,6 %, на відмінну від застосовування антибактеріального засобу «Енрофлоксацин», де збереження птиці становило 93,7 % (при ешерихіозі) та 93,5 % (при сальмонельозі).

Результати проведених досліджень підтвердили терапевтичну ефективність іонів цитратів $3\text{Ag} + \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+} + 2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ в якості профілактичних засобів, які забезпечують збереження поголів'я курчат-бройлерів за бактеріальних хвороб на 97 % (таб 3.34). Використання іонів цитратів в якості лікувальних засобів при ешерихіозі птиці, дозволяє отримати 96,6 % збереження поголів'я птиці.

Таким чином можна зробити висновок, що «Сарофлоск» є ефективним

препаратом проти грамнегативних мікроорганізмів, таких як : *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Enterobacter spp.*, і його можна застосовувати в програмах ротацій для лікування не тільки збудників ешерихіозу та сальмонельозу, а й іншої патогенної кишечної мікрофлори.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Найважливішим показником ефективного контролю раціональної системи заходів профілактики бактеріальних хвороб є результати мікробіологічного моніторингу внутрішнього середовища пташників та їх об'єктів. Найчастіше результати мікробіологічних досліджень підтверджують наявність патогенної та умовно-патогенної мікрофлори, яка приходить на родину *Enterobacteriaceae* до якої входить більш ніж 20 родів. (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Yersinia*, тощо), які здатні викликати захворювання не тільки у птахів, а й у людей. Досліджуючи мікрофлору птахогосподарств нами було ізолювано такі збудники бактеріальних хвороб як: *Escherichia* – 34,0 %, і *Salmonella* – 16,0 %, *Pseudomonas aerogenosa* – 3%, *Proteus spp* – 12%, *Klebsiella spp* – 6,5%, *Citrobacterspp* – 9%, *Enterobacter ssp* – 15%, *Yersinia spp* – 12,5%, *Campilobacter spp* – 5%, *Clostridium spp* – 2%, які також відносяться до представників даної родини (*Enterobacteriaceae*).

При серотипізації ізолюваних збудників ешерихіозу та сальмонельозу було виділено по 11 сероварів кожного.

З поверхні інкубаційних яєць було виділено такі серотипи *E. coli*: O35 – 5,7 %, O157 – 3,9 %, O55 – 2,3 %, O78 – 1,5 %, O7 – 1,0 %.

З відходів інкубації - O35 – 9,8 %, O55 – 5,0 %, O78 – 7,3 %, O157 – 2,5 %, O1 – 2,9 %, O4 – 1,0 %, O9 – 1,0 %

З м'яса птиці та субпродуктів - O35 – 8,8 %, O78 – 5,5 %, O55 – 4,0, O41 – 2 %, O157 – 2,0, O8 – 1,5 %, O2 – 1,0 %

Згідно серотипування культур сальмонел було виділено такі серовари як: *S. enteritidis* – 2,5% *S. pullorum-gallinarum* – 2,4 %, *S. typhimurium* – 2,2 %, *S. infantis* – 1,5 %, *S. anatum* – 1,2 % всіх інших (*S. tsioque*, *S. bredeney*, *S. newport*, *S. london*, *S. jawa*, *S. kentucky*) по 1 %

А також при дослідженнях більшу частину збудників було виділено від птиці та її продуктів в асоціації з іншими мікроорганізмами: *Klebsiella*

pneumoniae + *Staphylococcus aureus*; *E.coli* + *Staphylococcus aureus*; *Citrobacter* + *Staphylococcus aureus*; *Proteus mirabilis* + *Staphylococcus aureus*; *Klebsiella pneumoniae* + *E.coli* O157; *Staphylococcus aureus* + *S. enteritidis*; *E.coli* + *S. pullorum-gallinarum*; *Klebsiella pneumoniae* + *E.coli* O157 + *Staphylococcus aureus*; *Campylobacter jejuni* + *E.coli* O157 + *Staphylococcus aureus*.

Отримані нами дослідження тільки підтверджують поширення ешерихіозу та сальмонельозу у птахівничих господарствах північно-східного регіону України.

За даними вітчизняних авторів Обуховської О.В. та Єгорова С. А., збудники сальмонельозу, колібактеріозу, пастерельозу, стафілококозу, стрептококозу та мікоплазмозу займають друге місце у структурі інфекційної патології птиці. І ці збудники дуже часто знаходяться в зовнішньому середовищі та в організмі самої птиці в симбіотичному співіснуванні, але окрім цього вони є причиною токсикоінфекцій людини та токсикозів птахів [14-15].

За даними Зона Г. А. такий перебіг асоційованих хвороб не випадковість, так як ешерихіоз являє собою типову вторинну або системну інфекцію, яка може проявлятися у формі колісептицемії, колігрануломатозу, аеросакулітів, пташиного целюліту, симптому набряку голови, перитоніту, сальпінгіту, остеомієліту, панофтальміту та омфаліту [25].

За даними Лизогуб Л. С. колісептицимія створює складну ситуацію тому, що зустрічається у формі ензоотії, а також у вигляді змішаної інфекції, яка супроводжується інфекційним бронхітом курчат, сальмонельозом, інфекційним ларинготрахеїтом, еймеріозом, також на фоні гіповітамінозу. Окрім цього ешерихіоз характеризується відсутністю сезонності та стаціонарності [247].

Слід зазначити, що за даними держпродспожив служби України випадки отруєнь групою бактеріальних хвороби за період 2013-2017 років траплялися в 4 - ох областях України, а саме в Харківській, Сумській, Хмельницькій та Львівській, через вживання продуктів птахівництва. У продовж 2017 року

епізоотологічні спалахи сальмонельозної токсикоінфекції були зареєстровані на території Сумщини, які зросли майже в 5 разів.

Питома вага захворювань спричинених групою кишкових інфекцій з ідентифікованим збудником складала 47 %, а з невстановленими -53 %. І причину виникнення цих захворювань дуже важко було встановити через те, що окрім основного збудника була присутня секундарна мікрофлора.

Проте, особливе зростання захворюваності на сальмонельоз відбулося у: м. Ромни (показник на 100 тис. 17,14%); у Лебединському районі (11,49 % на 100 тис), у Кролевецькому районі (39,06% на 100 тис. нас.), у С.-Будському районі (29,65 на 100 тис. нас.), В самих Сумах зареєстровано 18 випадків захворювань, які складають 6 %.

І навіть країни Європейського союзу потерпали від спалахів бактеріальних хвороб змішаної форми про які було опубліковано в жовтні 2015 року в журналі EFSA (journal is a publication of the European Food Safety Authority anagency of the European Union). В якому висвітлено проблему споживання контамінованих збудниками (сальмонельозу, ешерихіозу, кампілобактеріозу, ієрсиніозу та лістеріозу) продуктів харчування, які призводять до спалахів захворювань людей на харчові токсикоінфекції та токсикози, і становлять велику проблему для ветеринарної та гуманної медицини. Більш того, продукція птахівництва є субстратом для розмноження збудників бактеріальних інфекцій до рівня, що нерідко стає критичним для споживача. Дана проблема зберігає свою актуальність через значне поширення збудника сальмонельозу в природі та зростання захворюваності серед населення та реєстрацію епідемічних спалахів харчових токсикоінфекцій практично в усіх країнах світу.

Кожного року в США реєструється 124 випадки захворювань викликаних штамми сальмонел. В Латинській Америці, Африці, Південно-Східній Азії захворюваність сягає понад 70 випадків на 100 тис. населення в країнах Європи всього 0,3–1,3 на Півдні (Іспанія, Італія, Югославія) 4–20, випадків на 100 тис. населення. Але при цьому в жодній країні не постає питання повної ліквідації

сальмонельозної інфекції. Через сукупність факторів перебігу в асоціації з кишковою паличкою, протеем та кампілобактером висувують їх на рівень соціально-економічних проблем, які потребують постійного контролю з боку відповідних служб, які мають використовувати у своїй роботі найбільш сучасні й ефективні методи дослідження [259, 260].

Тому при лікуванні бактеріальних хвороб на сьогоднішній день використовується маса антибактеріальних препаратів таких, як фторхінолонів 3-го покоління (енроксилу, цифтіокуру, флорфеніколю) та препаратів комплексної дії (тилозіна, тіаμουліна, колістіна, та ін.), які роблять можливим ефективне лікування даної хвороби (Дворська Ю. Є., Фотіна А. А.) [261].

З наших результатів досліджень щодо вивчення чутливості виділених ешерихій та сальмонел до 26 антибіотиків з різних груп (пеніцилінів, фторхінолонів, карбопенемів, цефалоспоринів, лінкозамідів, поліміксинів та препаратів комбінованої дії) було встановлено, що ешерихія була 100 % чутлива до 13 препаратів (офлоксацину, гатіфлоксацину, левофлоксацину, енроксилу, цефтіокуру, флорфеніколю, карбеніциліну, ампіциліну, хлорамфеніколю, «ТімТіл-250», «Бровасептол концентрат», імепенему та меропенему), слабочутлива – до 2 (егоцину 20 та цефтіокуру), резистентними до 11– груп цефалоспоринів (цефтріаксону, цефіпіму, цефотоксиму, цефтазідіну), пеніцилінів (амоксоциліну, амікацину, гентаміцину) та частково до фторхінолонів (енрофлоксацину, моксіфлоксацину, пефлоксацину).

Сальмонела – проявила чутливість 50\50, тобто до 12 препаратів (офлоксацину, гатіфлоксацину, левофлоксацину, енроксилу, цефтіокуру, флорфеніколю, карбеніциліну, ампіциліну, «ТімТіл-250», «Бровасептол концентрат», імепенему та меропенему) була чутлива, до 2-х препаратів (хлорамфеніколю та колістіну) – слабочутлива, і до 12 (енрофлоксацину, моксіфлоксацину, амоксициліну, ампіциліну, амікацину, цефтріаксону, цефатоксим, цефтазідіму, цефепіму, цефтіокуру, кліндаміцину) – резистентна, що свідчить про мінливі властивості культур, що вивчались, і необхідний

постійний контроль за їх чутливістю при використанні антибіотиків у птахівничих господарствах.

В більшості літературних джерел описують антибіотикорезистентність кишкової палички до пеніцилінів та тетрациклінів. Клінічне застосування пеніцилінів розпочалося з 1940 року, коли винайшли перший антибіотик -пеніцилін. А вже через 10 років відмічали резистентність *Escherichia coli* до даного препарату. Наступним антибіотиком, який теж став клінічно марним із групи пеніцилінів, був ампіцилін. Тетрациклінова стійкість *Escherichia coli* з 1950 – 1990 роки змінилася від 2% до 80%. На сьогоднішній день препарати груп тетрациклінів та пеніцилінів для лікування ешерихіозу та сальмонельозу не використовуються через високий рівень набутої резистентності за останні 70 років. Такий поступовий розвиток антибіотикорезистентності може статися збудь-якою групою, що знову визначить безперервну потребу ветеринарії в нових дієвих препаратах.

В пошуках альтернативи антибіотикам нами запропоновано іони цитрату Ag та Zn у вигляді нанодисперсного розчину для аерозольної дезінфекції інкубаційних яєць, приміщень та у вигляді монокристалічного порошку для перорального застосування. До цього іони цитратів застосовувалися в якості нових інгредієнтів кормових добавок для збагачення раціону макро- та мікроелементами, (срібла, цинку, магнію, марганцю германію, кальцію, заліза та молібдену), що позитивно впливають на приріст живої маси, обмінні процеси в організмі птиці та покращення ветеринарно-санітарних показників продуктів забою харчової та біологічної цінності м'яса птиці, про що свідчать дослідження авторів: Головки Н. М., Сененко Є. О., Гавалко Н. М., Бусол Л. В., Якубчак О. М. [133, 134, 250]. А також за ефективністю цитрати не поступаються антибіотикам та деяким хіміотерапевтичним засобам, при цьому вони не пригнічують нормальну мікрофлору кишечника та не призводять до перехресної антибіотикорезистентності циркулюючої мікрофлори. Не накопичуються в навколишньому середовищі та продукції птахівництва. Про це свідчать і дослідження Васильєва В.П. (1996), який використовував іони

цитрату в якості альтернативи в лікуванні та профілактики бактеріальних хвороб [135].

Слід зазначити, що більшість авторів наголошує на форму та розмір наночастинок від яких в більшій мірі залежить терапевтичний ефект, і в цьому разі розмір цих часток не повинен перевищувати 100 нм (Алымов, М.И., Зеленский В.А., Уикли, Б., Морохов, и. д.) [124, 125, 126, 127, 128, 129, 130]. Але досліджуючи зразок «нано» порошку (Ag та Zn) нами було встановлено що розмір наночастинок був різним від 160 нм до 350 нм, і їх терапевтичний ефект ні як не залежав від їх розміру.

Досліджуючи бактерицидні властивості іонів цитратів з однокомпонентними та багатоконпонентними розчинами які містили в собі 1) срібло; 2) шумерське срібло; 3) цинк; 4) селен; 5) селен +цинк; 6) срібло + золото + вісмут; 7) срібло+цинк; 8) срібло+золото. Було встановлено, що бактерицидними властивостями володіє розчин з вмістом Ag та препарат шумерське срібло (на дослідні культури *Escherichia coli* O2, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*) Розчин з Zn був ефективним тільки до *E.coli* та *St. epidermidis*. До всіх інших дослідних зразків (Se, Se+Zn; Au+Ag, Au+Ag+Bi) культури були нечутливі. Комплексні сполуки іонів цитрату застосовуються досить давно в промисловості, сільському господарстві, науці і, звичайно, медицині. Наприклад, хлорофіл – це комплексна сполука магнію та заліза, інсулін (комплекс цинку), вітамін B12 (комплекс кобальту), платинол (комплекс платини) тощо [137]. Але перераховані сполуки хлорофіл, платинол та інсулін не володіють бактерицидними властивостями. А ось використання срібла та цинку у вигляді іонних розчинів для дезінфекційної обробки яєць володіють пролонгованими бактерицидними властивостями, які характеризуються зменшенням бактеріальної мікрофлори упродовж досліджуваного періоду (24, 42, 72 год.). Якщо до початку досліджень показник бактеріальної забрудненості візуально чистих яєць становив $400,18 \pm 31,1$ КУО, то після дії Ag- через 24 год. - $72 \pm 7,8$ КУО/см²; 48год. – $117,57 \pm 12,17$ КУО/см²; 72 год – $145,76 \pm 14,05$ КУО/см²).

При дії Zn – через 24 год $-83,18 \pm 14,0^{***}$ КУО/см², 48 год $-124,9 \pm 11,6^{**}$ КУО/см², 72 год $-146,67 \pm 21^{**}$ КУО/см².

Щодо бактерицидної дії срібла відомої досить давно, починаючи від золотої ери Греції, коли Гіппократ та Кред успішно застосовували срібло для лікування виразок та гонококових інфекцій у новонароджених. Срібний сульфадіазин є золотим стандартом для місцевого лікування пацієнтів з опіками [194]. Відродження інтересу до срібла та наносрібла було мотивовано виникненням нестримних бактерій, стійких до антибіотиків, і посиленням поширеності стаціонарних бактеріальних інфекцій. Використання срібла суттєво обмежується токсичністю його іонів для людини; однак нанотехнології сприяли виробництву більш дрібних частинок срібла із все більш великими співвідношеннями між поверхнею та об'ємом, більшою ефективністю проти бактерій, і найголовніше, меншою токсичністю для людей та птахів

Порівнюючи іони цитрату Ag та Zn з антибіотиками (амоксоцилін клавуланат та фторфеніколь) при експериментальному ешерихіозі курчат нами було встановлено, що після задавання препаратів Ag та Zn у хворих курчат спостерігали покращення апетиту збільшення маси тіла та потреба вживання води з даними препаратами, симптоми хвороби зникали вже на 5 добу після лікування. В контрольних групах де використовували антимікробні препарати (фторфеніколь, амоксицилін клавуланат) одужання проходило повільніше через те що антибактеріальні препарати впливають не тільки на бактеріальний збудник, а й на мікрофлору кишечника в цілому, а також слід нагадати про дозу (75 г на 250 см³) антибіотиків, яка була більшою в 3 рази за іони цитратів (15 г на 250 см³)

Подібну схему лікування провели з хворими курчатами породи легорн місячного віку на сальмонельоз. Але, так як сальмонельоз є більш небезпечним захворюванням ніж ешерихіоз, то нами запропонована нова схема застосування іонів цитратів в поєднанні з органічними кислотами (яблучної, лимонної, пропіонової), та ефірною олією хвої. Якщо у випадку із культурою *E.coli* чекали прояву клінічних ознак хвороби, і тільки тоді задавали іони цитратів то тут

навпаки, одночасно з інфікуванням птиці почали задавати препарати Ag та Zn з органічними кислотами, кормовою добавкою мікростимулін та ефірною олією хвої.

При інтраназальному та внутрішньочеревному зараженні було доведено ефективність цитратів цинку та срібла в поєднанні з органічними кислотами. В групах курчат, які отримували цитрати, реєстрували 100 % збереженість. В контрольних групах курчат, які отримували кормову добавку мікростимулін та цитрати цинку та срібла в поєднанні з ефірною олією хвої, збереженість курчат становила близько 90 %. В групі, де не використовували препарати, збереженість становила 40 %.

За останні десять років авторами (Ahmadi F., Rahimi F., Lane P., Andre C., Ewa S, et al.) досліджено вплив іонів цитратів на клінічний стан, різні системи відсоток організму, технологічні показники, якість і безпечність продуктів забою курчат-бройлерів. Доведено, що наночастки срібла різних форм сприяють підвищенню приростів, покращенню клінічного стану, в першу чергу, за рахунок антимікробної дії [217–222].

Досліджуючи гематологічні показники крові хворих курчат на сальмонельоз та ешерихіоз спостерігали зміни фізіологічних параметрів підвищення (кількості еритроцитів, лейкоцитів, еозинофілів, базофілів та моноцитів) та зниження (БАСК, ЛАСК, загальний білок та рівень глюкози) у два рази, що тільки підтверджують розвиток запального процесу спричиненого збудниками колібактеріозу та сальмонельозу, які пригнічують захисні сили організму.

Але після застосування іонів цитрату Ag та Zn кількість еритроцитів становила $1,73 \times 10^{12}/\text{л}$ та $1,76 \times 10^{12}/\text{л}$, що нижче на $2,32 \times 10^{12}/\text{л}$ та $2,29 \times 10^{12}/\text{л}$ відповідно до контролю ($4,05 \pm 0,65^{**}$, $P < 0,01$).

Рівень лейкоцитів - $30,36 \times 10^9/\text{л}$ та $28,37 \times 10^9/\text{л}$ - вірогідно нижчий за контроль ($61,30 \pm 6,80$; $P < 0,05$) на 50,4 % (Zn) та на 53,7 % (Ag) відповідно.

Кількість еозинофілів знизилася на 50,9 % ($3,15 \pm 0,19\%$) після застосування Ag, а після застосування Zn на 33,8 % ($4,25 \pm 0,35\%$) з вірогідною різницею контрольної групи ($6,42 \pm 1,58$; $P < 0,01$).

Моноцити відповідно були нижчі за контроль ($6,96 \pm 0,19\%$) на 42,5 % ($4,00 \pm 1,08$) та 42,8% ($3,98 \pm 0,70$). Рівень лімфоцитів $21,46 \pm 1,5$ % та $14,18 \pm 0,54$ % за аналогічною схемою перерахунку різниці між контрольною і дослідною групою був нижчим на 63,0 % (Zn) та на 75,6 % (Ag) відповідно до контролю ($58,12 \pm 1,15$) вірогідності $P < 0,001$

Аналогічне зниження базофілів спостерігали за дії Zn на 46,4 % ($3,00 \pm 0,10$ %) за Ag на 47,1 % ($2,96 \pm 0,24\%$) відповідно до контролю ($5,60 \pm 0,78\%$; $P < 0,05$).

Використання іонів Zn та с Ag сприяло вірогідному підвищенню БАСК на $61,73 \pm 1,73\%$ та на $62,50 \pm 2,01\%$ ($25,38 \pm 2,01$; $P < 0,01$). Стосовно ЛАСК вона також вища за контроль ($5,25 \pm 0,42$) на $27,8 \pm 0,05$ та на $26,2 \pm 0,12\%$ відповідно.

На підставі отриманих результатів, можна вважати, що зниження показників еритроцитів та лейкоцитів зумовлено ефективною дією застосовуваних препаратів Ag та Zn, що вказує на відсутність негативної дії препаратів та зменшення запалення в організмі хворих курчат на ешерихіоз.

При сальмонельозі курчат нормалізацію кількості еритроцитів та лейкоцитів спостерігали під час поєднання іонів цитрату Ag та Zn з органічними кислотами. Так, кількість еритроцитів Zn+K становила $1,45 \times 10^{12}/л$ та $1,50 \times 10^{12}/л$ (Ag+K), що на $2,30 \times 10^{12}/л$ та $2,25 \times 10^{12}/л$ була нижчою за контроль ($3,75 \pm 0,59$; $P < 0,01$).

Рівень лейкоцитів знизився у 2 рази відповідно до контролю ($62,24 \pm 1,40$; $P < 0,05$) до $38,41 \times 10^9/л$ та $30,04 \times 10^9/л$.

Рівень моноцитів аналогічно був нижчий за контроль ($6,57 \pm 0,58\%$) на 27,7 % і 46,7 % ($4,75 \pm 0,26\%$ –Zn+K та $3,50 \pm 0,58\%$ –Ag+K). Також нижча за контроль ($6,40 \pm 1,62$; $P < 0,01$) була і кількість еозинофілів – на 51% та 46% ($3,13 \pm 0,31\%$ і $3,45 \pm 0,28\%$). Лімфоцити – на 71,5% ($17,13 \pm 0,29\%$) та 70,1% ($18,00 \pm 1,58\%$) нижче за контроль ($60,23 \pm 2,14\%$; $P < 0,01$).

Стосовно БАСК – спостерігали її підвищення на $59,70 \pm 1,11$ % (Zn+K) та $60,82 \pm 1,07$ % (Ag+K) у порівнянні з контролем ($26,40 \pm 0,62$) %. ЛАСК становила $25,8 \pm 0,52$ % та $26,2 \pm 0,12$ %, що була вища за контроль ($5,49 \pm 0,05$; $P < 0,001$) на 74,2% та 73,8 % відповідно.

При застосуванні ж нами іонів цитрату Ag та Zn (Zn+K та Ag+K) спостерігали вірогідне зниження (еритроцитів, лейкоцитів, лімфоцитів базофілів, еозинофілів, моноцитів) та підвищення (БАСК, ЛАСК, загального білку та глюкози в сироватці крові) гематологічних показників до нормалізації фізіологічних параметрів клінічної та біохімічної картини крові.

Терапевтичну ефективність даних препаратів вивчали в умовах птахогосподарства ТОВ «Сумитехнокорм» Недрегайлівського району Сумської області, в якому реєстрували спорадичні випадки захворювання птиці на ешерихіоз та сальмонельоз. Дослідження проводили на ремонтному молодняку кросу «Хайсекс Браун» віком 72 доби, живою масою 1,2 кг. Нами було проведено аналіз бактеріальної забрудненості в даному господарстві та проаналізовано всі фактори, які можуть впливають на зміну кількісного складу мікрофлори птиці. При вивченні бактеріальної контамінації проводили метод прижиттєвого бактеріального контролю, що базується на дослідженні мікрофлори травного тракту та проб свіжого посліду. Зі стін, кліток, годівниць, технологічного обладнання та яєць робили змиви та окремо відбирали проби корму та води Також, проводили патологоанатомічний розтин загиблої птиці.

З посліду курей було виділено: *Escherichia coli* – 22 %, *Sallmonell* – 10 % (*S. pullorum-gallinarum*, *S. enteritidis* по 5 % кожного), *P. vulgaris* – 7.5 %, *S. aureus* – 9 %. Аналогічну мікрофлору ізолювали при дослідженні трупного матеріалу (*Escherichia coli* – 25 %, *S. pullorum-gallinarum* – 6 %, *S. enteritidis* – 6 %, *S. aureus* – 5 %, *S. pyogenes* – 4,5%).

Зі стін кліток, годівниць технологічного обладнання було виділено змішану мікрофлору, яка представляла собою сукупність стрептококів, стафілококів, ентеробактерій та протей (*S. faecalis* – 3,6%, *S. avium* – 2,0% та незначний

відсоток *S. saprophyticus* – 2,5%, *S. aureus* – 1,5%, *E. cloacae* – 3,6% та на *E. aerogenes* 5,3%) .

З корму ізолювали *E.coli* – 8,9%, *S. enteritidis* – 1 %. З яєць – *E. cloacae* – 3,2%, *P. aeruginosa* – 1%.

Судячи з аналізу мікробіологічних досліджень птахогосподарства, можна з певністю сказати, що умовно-патогенна мікрофлора присутня в організмі здорової птиці та тієї, що перехворіла, і є досить поширеною у зовнішньому середовищі пташника. В якості альтернативи антибіотикам нами запропоновано іони цитратів Ag та Zn для профілактики та дезінфекції приміщень.

Для усунення рециркуляції умовно-патогенної мікрофлори у приміщенні пташників № 1 та № 2 застосовували аерозольний метод дезінфекції розчином $\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ – 3 % та $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)^2$ – 3 % із розрахунку $0,3 \text{ см}^3/\text{м}^2$. за допомогою аерозольного генератора САГ-10.

До застосування розчинів кількість бактеріальних збудників становила від $12,8 \pm 1,0$ (*Enterobacter aerogenes*) до $138 \pm 5,6$ (*E. coli*).

Після використання розчинів цитратів кількість мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae* різко зменшилась, а саме ешерихій – у 10, сальмонел – 19, ентеробактер (*E. aerogenes* та *E. cloacae*) – 6, стрептококів – 15, стафілококів – 24, протей – 30 разів

Бактерицидна дія $\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)^2$ – 3% на умовно-патогенні мікроорганізми була іншою. Так, кількість ешерихій знизилася у 9, сальмонел – 13, ентеробактер – 4, стрептококів – 7, стафілококів – 16, протей – 6 разів.

Для оздоровлення птахогосподарства 5 добовим курчатам вполювали іони цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ в дозі по 15 г на 250 см^3 води протягом 5 діб. До та після використання препаратів визначали мікрофлору харчового тракту молодняку курчат.

До використання препаратів із 1 граму посліду було виділено 5 видів мікроорганізмів, а саме: *E. coli*, *S. pullorum – gallinarum*, *S. enteritidis*, *P. vulgaris*, *S. aureus*. Найбільшу кількість з них становили *E. coli* – $145 \pm 8,7$, *S. pullorum-gallinarum* – $59 \pm 4,1$ та *S. aureus* – $53 \pm 2,3$

Після застосування іонів цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ кількість мікроорганізмів в посліду ремонтного молодняку істотно зменшилося в декілька разів, а саме: *E. coli* в 10 разів, *S. pullorum – gallinarum* в 14, *S. enteritidis* в 17, *P. vulgaris* в 12, *S. aureus* в 26 разів.

Таким чином, при оздоровленні птахогосподарства від бактеріальних хвороб птиці встановлено, що комплексне застосування препаратів у вигляді розчинів та іонів цитратів кількість патогенної мікрофлори дає змогу зменшити бактеріальну флору як в навколишньому середовищі пташника (від 4 до 24 разів), так і в організмі самої птиці (від 10 до 26 разів) залежно від виду мікроорганізмів (*Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*).

Тому для профілактики бактеріальних хвороб птиці вважаємо можливим використовувати іони цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ в якості лікування та профілактики від патогенного впливу *E. coli*, *S. pullorum – gallinarum*, *P. vulgaris*, *S. aureus*.

Отже, поставлена перед нами мета: експериментально обґрунтувати застосування іонів цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ для профілактики ешерихіозу та сальмонельозу птиці – виконана повністю.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі науково обґрунтовано та експериментально доведено доцільність використання для профілактики ешерихіозу та сальмонельозу птиці цитрати Ag та Zn. Розроблена схема профілактичних заходів за умови з'ясування чутливості ізолюваних потенційних збудників ешерихіозу та сальмонельозу птиці. Аргументовано перспективу застосування досліджених препаратів у технологіях промислового птахівництва.

1. Мікробіологічним моніторингом у птахівничих господарств північно-східного регіону України встановлено, що серед збудників бактеріальних хвороб птиці переважають ентеробактерії, а саме ешерихіоз та сальмонельоз. Серед ізолюваних мікроорганізмів *Escherichia* становила 34,0 %, *Salmonella* – 16,0 %, *Pseudomonas aerogenosae* – 3 %, *Proteus spp.* – 12 %, *Klebsiella spp.* – 6,5 %, *Citrobacter spp.* – 9 %, *Enterobacter spp.* – 15 %, *Yersinia spp.* – 12,5 %, *Campilobacter spp.* – 5 %, *Clostridium spp.* – 2 %, що були патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами.

2. Доведено, що ізолювані культури сальмонел і ешерихій з 32 досліджених препаратів були 100 % чутливими до 13 антибіотиків фторхінолонів, карбопенемів та препаратів комбінованої дії.

3. Встановлено, що 3 % розчин цитрату Ag був ефективним по відношенню до дослідних тест-культур *E. coli* O2, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, 3 % розчин цитрату Zn – ефективним тільки до *E. coli* та *S. epidermidis*.

4. Визначено, що цитрати Ag та Zn малотоксичні як при зовнішньому, так і при внутрішньому застосуванні: не проявляють виражених клінічних ознак інтоксикації, місцево-подразнюючої та шкірно-резорбтивної дії на поверхню шкіри досліджуваних тварин.

5. Доведено 100 % терапевтичну ефективність цитратів Ag та Zn за ешерихіозу та сальмонельозу курчат в дозі по 15 г/250 см³ води впродовж 5 днів, як окремо так і в комплексі з органічними кислотами (3:1:200 см³ води).

6. Встановлено, що збудники ешерихіозу та сальмонельозу вірогідно ($P < 0,005$) впливають на підвищення (еритроцитів, лейкоцитів, еозинофілів, базофілів, моноцитів та ферментативних показників АсАт і АлАт) у 1,5 - 2 рази та зниження (тромбоцитів, гемоглобіну, БАСК, ЛАСК, загального білку та глюкози) у 1,3 - 1,5 рази, що підтверджує розвиток запального процесу.

7. Визначено, що цитрати Ag та Zn до та після поєднання з органічними кислотами сприяють підвищенню показників БАСК на 20,6 % - 37,5 % (при ешерихіозі) та на 15,4 % - 56,5 % (при сальмонельозі); ЛАСК на 72,2 % - 73,8 % та на 74,2 % - 73,8 % відповідно.

8. Встановлено, що застосування аерозольного методу дезінфекції в приміщенні 3 %-ми розчинами цитратів Ag та Zn знижує бактеріальне забруднення, а саме, ентеробактерій у 20 разів, кокової флори в 16 разів. При комплексному застосуванні розчинів цитратів Ag та Zn кількість патогенної мікрофлори в організмі птиці знижується у 10 - 26 разів. Збереженість поголів'я становить 96,6 %.

9. Доведено, що препарат «Сарофлос» (сарофлоксацин гідрохлорид) виробництва НВФ «Бровафарма», проявляє високу терапевтичну ефективність (100%) за ешерихіозу та сальмонельозу. Його застосування підвищує живу масу бройлерів у 36-денному віці на 9,3 %, збереженість на 1,4 %. «Сарофлос» може бути конкурентоспроможним та імпортозаміщуючим лікарським засобом, який успішно використовується у птахівничих господарствах України

РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

Практичні пропозиції викладено в методичних рекомендаціях «Методичні рекомендації для проведення експрес-аналізу харчових продуктів на бактеріальну забрудненість за допомогою тест-систем *Compact Dry* та *RIDA®STAMP*» які схвалені науково-методичною радою Сумського національного аграрного університету.

1 Для усунення рециркуляції патогенної мікрофлори у птахогосподарствах різного технологічного напрямлення рекомендуємо аерозольний метод дезінфекції приміщень, технологічного обладнання, інкубаторіїв, інкубаційних яєць та харчових яєць 3 % розчинами цитратів Ag та Zn з розрахунку 15 мл/м³ час експозиції 24 год. За умов дотримання ветеринарно-гігієнічних параметрів мікроклімату приміщення (t +12°C, вологість 55 %).

2 Для профілактики ешерихіозу птиці рекомендуємо використовувати цитрати Ag та Zn в дозі 15 г на 250 см³ води впродовж 5 днів.

3 Для профілактики сальмонельозу птиці рекомендуємо використовувати суміш цитратів Ag та Zn з органічними кислотами (яблучна, пропіонова, лимонна) в дозі 15 г цитратів + 5 г органічних кислот/500см³ води впродовж 30 днів.

Список використаної літератури

1. Удосконалення технології виробництва продукції птахівництва в невеликих і середніх підприємствах на основі принципів системи НАССР [Online]. Доступно на: <http://market.avianua.com/?p=4158>
2. Березовський А.В., Герман В.В., Фотіна Т. І., Фотіна Г.А. (2012). *Хвороби птиці: Навчальний посібник*. К.: ТОВ “ДІА”
3. Чемич. М.Д., Козько В.М., та ін.,(2012). Антибіотико резистентність та шляхи її подолання: *Матеріали Всеукраїнської науково–практичної конференції і пленуму «Асоціації інфекціоністів Сумщини»* Суми,СУМДУ 30–31 травня. – 104 с.
4. Дунець В.Ю., Слівінська Л.Г. (2017) Профілактика хвороб печінки у курей яєчного напрямку продуктивності. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького*, Львів, Т 19(73), 55–60
5. Бовкун В.Г. (2006). Роль мікрофлори при захворюваннях органів пищеварення у цыплят. *Ветеринария*, 4, 14–16.
6. Кукушкин Ю. Н. *Химия вокруг нас* [Online]. Офіційний сайт: Електронная библиотека. Доступ на: <http://n-t.ru/ri/kk/hm.htm.5>
7. Борисевич В. Б., Борисевич Б.В., Каплуненко В. Г. (2009). Вплив наночастинок Cu, Zn, Mg, Co на продуктивність бройлерів. *Ефективне птахівництво*, 1, 28–31.
8. Магній в сучасній медицині: від теорії до клінічної практики [Online]. *Therapia український медичний вісник*. Доступ на: <http://therapia.ua/therapia/2015-/1-94-2015/mahniy-v-suchasniy-medytsyni-vid-teoriyi-do-klinichnoyi-praktyky>
9. *Использование марганца цитрата при выращивании цыплят – бройлеров* [Online]. Офіційний сайт: web ptice prom ru. Доступ на: <http://web-ptice-prom.ru/articles-birdseed.htm> page ID=1346908372
10. Методичні вказівки щодо застосування засобу «Шумерське срібло» з метою дезінфекції / «Інститут медицини праці АМН України» при участі ТОВ

«Наноматеріали і нанотехнології», Україна // ТУ У 24.2 – 35291116 – 001: 2009. – Київ, 2010. – 13с

11. Антибиотическое действие серебра [Online]. Коллоидное и ионное серебро в медицине 2009–2016. Доступ на: [http : //info-farm. Ru / alphabet index /k / kolloidnoe – i – ionnoe – serebro – v – medic. html](http://info-farm.ru/alphabet_index/k/kolloidnoe-i-ionnoe-serebro-v-medic.html)

12. Марченко Ф., Мартинюк І., Ващенко О. (2009) Хелатні мікроелементи в годівлі птиці. *Наше птахівництво*, 26–27.

13 Ushkalov, A.V. (2017). Analysis of results of laboratory investigations on bacteriosis in Kharkov region. *Scientific Messenger LNUVMB*, 19(78), 74–80

14 Обуховська, О.В. (2009) Аналіз епізоотичної ситуації щодо бактеріальних хвороб птиці в птахогосподарствах Харківської області [Текст] Пробл. зооінженерії та вет. медицини: зб. наук.пр. ХДЗВА, Харків, 2009. – Вип.19, Ч. 2, Т. 1, 123–128.

15 Егорова С.А., Селиванова Л. В. (2009) Проблемы современной эпидемиологии. Всерос. научн. конф.: «Перспективные средства и методы лабораторной диагностики и профилактики актуальных инфекций», Санкт–Петербург, 323 – 324.

16 EC Directives N2009/99/, on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents. 2003; 17. 11.

17 Scientific report. The European Union Summary Report on zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2014. J. EFSA–ECDC 2015; December.

18 Информационный бюллетень референс-центра по мониторингу за сальмонеллезам. М., 2015; Бюллетень № 27.

19 Wray C., Laren I. M., Beedell Y. E. (2009). Bacterial resistance monitoring of salmonellas isolated from animals, national experience of surveillance schemes in the United Kingdom. *Vet. Microbiol.*, 35, 313–319.

20 Борисенкова А. Н., Рождественская Т. Н. (2003). Испытание комплексного препарата на основе пробиотиков и фермента для профилактики бактериальных болезней у птиц. *Сб. науч. тр. Литовского вет. института*, 99–100.

- 21 Александров Д. Е Мигаеш В. С. (2011). Комплексные антибактериальные препараты в промышленном птицеводстве. *Ветеринария*, 10, 13–15.
- 22 Востроилова Г. А. Близнецова Г. Н., Ческидова Л. В. (2012). Эффективность применения диоксинора для лечения колибактериоза у цыплят-бройлеров. *Матер. XVII Междун. конф. – Сергиев Посад «Инновационные разработки и их освоение в промышленном птицеводстве»*, 519–521.
- 23 Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses, in the EU, 2008 // *The EFSA Journal*. – 2011. – № 9 (2). 2017. – P. – 43.
- 24 ISO 6579: 2002 "Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.". Scientific and Technical Factors Affecting the Setting of *Salmonella* Criteria for Raw Poultry: A Global Perspective. Report of the IPC *Salmonella* on Raw Poultry Writing Committee, Atlanta, 2010
- 25 Фотіна, Т.І.(2001). Умовно–патогенні мікроорганізми та інфекції птиці, які вони викликають. *Ред. від. СНАУ*, Суми 104 с.
- 26 Гусев, В. (2003) Мониторинг возбудителей бактериальной инфекции [Текст]. *Птицеводство*, 2, 8–12.
- 27 Сальмонельоз – як передається, інкубаційний період, шляхи інфікування сальмонельозом [Online]. Доступ на: <http://medprice.com.ua/ukr/articles/salmoneloz-yak-peredayetsya-inkubatsiyniy-period-shlyahi-zarazhennya-salmonelozom-2370.html>
- 28 Visscher C.F., Klein G., Verspohl J., Beyerbach M., Stratmann–Selke J (2011). Serodiversity and serological as well as cultural distribution of *Salmonella* on farms and in abattoirs in Lower Saxony, Germany. *Int J of Food Microbiol* 146:44–51.
- 29 Campioni F. Moratto A.M., Bergaxv I., Falcão J.P. (2012) Genetic diversity, virulence genes and antimicrobial resistance of *Salmonella Enteritidis*

isolated from food and humans over a 24-year period in Brazil [Text]. *Food Microbiol* 32, 254–264.

30 Majowicz SE. Musto J., Scallan E., Angulo FJ., Kirk M., et al.(2010) The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis [Text]. *Clin Infect Dis: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 50:882–889.

31 Little C. L. Walsh S., Hucklesby L., Survey of *Salmonella* contamination of non-United Kingdom-produced raw shell eggs on retail sale in the northwest of England and London, 2005 to 2006 [Text] / S. Surman-Lee, K. Pathak, Y. Gatty, M. Greenwood, E. De Pinna, E. J.

32 Majowicz, S.E. Musto J.E., Angulo F.J O'Brien S.J., Jones T.F., Hoekstra R.M. (2010). Scallan International Collaboration on Enteric Disease 'Burden of Illness' Studies. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis [Text]. *Clin. Infect. Dis.*, 50, 882 – 889.

33 Coburn, B., Grassl G.A., Finlay B.B. (2006). *Salmonella*, the host and disease: A brief review. *Immunol. Cell Biol.*, 85, 112–118.

34 Pang, T., Bhutta Z. A., Finlay B. B., Altwegg M. (1995). Typhoid fever and other salmonellosis: a continuing challenge [Text]. *Trends Microbiol.*, 3:253–25

35 Ленев С.В. (2012). Мероприятия по профилактике сальмонеллеза птиц *Материалы: II Междунар. вет. конгресс, VIII Междунар. вет. конгресс по птицеводству 19–22 апреля*, Москва, 102–106.

36 Сальмонелла (небрюшнотифозная). Информационный бюллетень N°139 Август 2013 г [Online]. Доступ на: [http: // www. who. int/ mediacentre / factsheets / fs 139 /ru/](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/ru/)

37 Кисленко, В. Н., Колычев Н. М., Суворина О. С . (2007) *Ветеринарная микробиология и иммунология [Текст]: учебник* Ч.3, 215

38 Howard Z.R., O'Bryan C.A., Crandall P.G., Ricke S.C. (2012) *Salmonella* Enteritidis in shell eggs: Current issues and prospects for control [Text]. *Int. Food Res.*, 45. 755–764.

- 39 Galiş, A.M., Marcq C., Marlier D., Portetelle D., Van I., Beckers Y., Théwis A. (2013). Control of *Salmonella* contamination of shell eggs—Preharvest and postharvest methods: A review [Text], *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 12, 155–182.
- 40 Havelaar, A.H., Ivarsson S., Lofdahl M., Nauta M.J. (2013). Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union, 2009 [Text] *Epidemiol. Infect.*, 141, 293–302.
- 41 De Reu, K., Grijspeerdt K., Messens W., Heyndrickx M., Uyttendaele M., Debevere J., Herman L. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella* Enteritidis [Text]. *Int. J. Food Microbiol.*, 112, 253–260.
- 41 Food Drug Administration. Prevention of *Salmonella* Enteritidis in shell eggs during production, storage, and transportation. Final rule [Text]. *Fed. Regist.* 2009, 74, 33030–33101
- 42 Namata, H. Méroc E., Aerts M., Faes C., Abrahantes J.C., Imberechts H. (2008). Salmonella in Belgian laying hens: An identification of risk factors [Text] *K. Prev. Vet. Med.*, 83, 323 – 336.
- 43 Gast, R.K., Gast D.R., Guraya K.E., Jones Anderson. (2014). Contamination of eggs by *Salmonella* Enteritidis in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages [Text] *Poultry Science*, 93, 728–733.
- 44 Davies, R. Observations on *Salmonella* contamination of commercial laying farms before and after cleaning and disinfection [Text] / R. Davies, M. Breslin. // *Vet. Rec.* – 2003 – 152. – 283 – 287.
- 45 Якубчак О. М., Обштат С. В., Муковоз В. М., Карпуленко М. С. (2014). Підходи до оцінки ризиків виникнення токсикоінфекцій, спричинених сальмонелами в Україні. *Вісник ЖНАЕУ*, Т1, 2 (42), 172 – 177.
- 46 Облап Р.В.(2013). Визначення представників *Salmonella* spp. методом ПЛР у реальному часі. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*, 10 (105), 60 – 64.
- 47 Пак, С.Г., Турьянов М.Х., Пальцев М.А. (1988) Сальмонеллез. М.: Медицина, 304

- 48 Лобзин Ю.В., Казанцева А.П. (1996). Руководство по инфекционным болезням. СПб: ТИТ «Комета», 720 с
- 49 Семенов В.М. (2009) Руководство по инфекционным болезням. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 752 с.
- 50 Гропе И., Гардовска Д., Лайзане Г. (2000). Сальмонеллезная инфекция в Латвии у детей – клиническая характеристика и принципы лечения. *Педиатрия*, 2, 68–71.
- 51 Лавринович Д.Н. [и др.] (2007). Эпидемиологические особенности внутрибольничного сальмонеллеза, принципы профилактики. *Медицинская панорама*, 4, 18–22.
- 52 Стринкевич, О.В., Галькевич Н.В., Смаль А.П.(2010) Современное течение сальмонеллеза у детей «Актуальные вопросы этиотропной терапии при инфекционных заболеваниях у детей» (28 мая 2010 г.). Республиканского научного семинара с международным участием к 25–летнему юбилею кафедры детских инфекционных болезней УО «БГМУ», Минск, «Доктор Дизайн», 98–100.
- 53 Богуцкий, М.И., Васильев А.В., Цыркунов В.М. (2009). Сальмонеллезная инфекция в современный период. *Медицинская панорама*, 7, 3–4.
- 54 Zhou L., Pollard A.J (2010). A fast and highly sensitive blood culture PCR method for clinical detection of *Salmonella enterica* serovar *Typhi*. *Annals Clin Microbiol Antimicrob*, 9:14 doi:10.1186/1476–0711–9–14
- 55 FAQ feedstuff control annual report. *FAO newsletter* – 2010, p.282
- 56 Панин А.Н., Куликовский А.В., Давлеев А.Д., Сорокин П.П. (2010). Предотвращение контаминации сальмонеллами продукции птицеводства глобальная проблема. *Птица и птицепродукты*, 5, 62–65
- 57 Broglia, A., Kapel C. (2011). Changing dietary habits in a changing world: Emerging drivers for the transmission of foodborne parasitic zoonoses. *Vet. Parasitol*, 182, p. 2-13.

- 58 Kretser A., Dunn C., DeVirgiliis R., Levine K. (2014). Utility of a new food value analysis application to evaluate trade-offs when making food selections. *Nutr. Today*, 49, p. 185-195.
- 59 Fearnley E., Raupach J., Lagala F., Cameron S. (2011) *Salmonella* in chicken meat, eggs and humans; Adelaide, South Australia, 2008. *Int. J. Food Microbiol*, 146, p. 219-227.
- 60 Moffatt, C.R., Appuhamy R., Kaye A., Carswell A., Denehy D. (2012). An outbreak of *Salmonella Typhimurium* phage type 135a gastroenteritis linked to eggs served at an Australian Capital Territory café. *Commun. Dis. Intell. Quart. Rep*, 36, E281–E285.
- 61 Galiş, A.M., Marcq C., Marlier D., Portetelle D. [et al] (2013). Control of *Salmonella* contamination of shell eggs—Preharvest and postharvest methods: A review *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 12, 155–182.
- 62 Фильчаков И.В., Зарицкий А.М. (2003). Персистенция бактерий и иммунная реактивность организма. *Сучасні інфекції*, 3, 71–82.
- 63 Бубало В.О. (2013). Сучасний стан захворюваності на сальмонельози в Україні. *Український медичний альманах*, Т.16(3), 26–28.
- 64 Учайкин В.Ф. (2001). Руководство по инфекционным болезням у детей. М.: ГЕОТАР–МЕД., 824
- 65 Ахмедов М.М., Аллахвердиев М.С., Салихова, Н.И., Муслев Д.Г. (1996). Некоторые вопросы эпизоотологии сальмонеллеза птиц. *Вестник ветеринарии*, 2, 15–17.
- 66 Куриленко А.Н., Пименов Н.В., Ленев С.В., Малахов Ю.Н., Яковлев С.С. (2002). Рекомендации по диагностике, профилактике и ликвидации сальмонеллеза кур. М.: МСХ/МГАВМиБ, 34
- 67 Москалюк В. Д. (2010). Диференційна діагностика інфекційних хвороб: Навчальний посібник для студентів V–VI курсів медичних факультетів вищих медичних закладів освіти III–IV рівнів акредитації та лікарів–інтернів. Буковинський державний медичний університет, Чернівці, 406

- 68 *Ешерихіоз* заразна хвороба [Online]. Доступно на: <http://babushkinsad.kiev.ua/2016/03/16/3613.html>
- 69 Cai K., Tu W., Liu Y[et al.] (2015). Novel fusion antigen displayed–bacterial ghosts vaccine candidate against infection of Escherichia coli O157:H7 [Online]. Sci Rep., 2(5),174–179. doi: 10.1038 / srep17479. Access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26626573>
- 70 *Колібактеріоз* [Online]. Доступно на: https://медпортал.com/veterinariya_727/kolibakterioz-40940.html
- 71 *Мікробіологія, вірусологія та імунологія/ешерихія, шегела, сальмонела* [Online]. Доступно на: http://medcollege.te.ua/sayt1/Lectures/Mikrobiologia_virusologia_ta_imunologia/Esherihii.Shugelu.Salmonelu.htm
- 72 *Колібактеріоз* [Online]. Доступно на : https://медпортал.com/veterinariya_727/kolibakterioz-40940.html
- 73 Щебенцовська О. (2017). Колібактеріоз птиці. *Птахівництво*, 70–71.
- 74 *Ешерихиоз, причины симптомы, лечение, профилактика* [Online]. Доступно на: <http://www.pitermed.Com/simptomy-bolezni/?cat=6&word=55158>
- 75 Dormanesh B., Siroosbakhat S., Karimi Goudarzi P. [et al.] (2015). Shiga Toxigenic Escherichia coli in Iranian Pediatric Patients With and Without Diarrhea: O–Serogroups, Virulence Factors and Antimicrobial Resistance Properties [Online]. *Iran. Red. Crescent. Med. J*, 17 (10), 297–306. doi: 10.5812/ircmj.29706.eCollection 2015. Access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
- 76 Про затвердження уніфікованих клінічних протоколів медичної допомоги дітям із захворюваннями органів травлення: Наказ МОЗ України № 59 від 29.01.2013 р. Уніфікований протокол медичної допомоги дітям із хронічним неспецифічним невиразковим колітом
- 77 Литвин В.П., Олійник Л.В., Корнієнко Л.Є., Ярчук Б.М. (2002). Факторні хвороби сільськогосподарських тварин. *К.: Аграрна наука*, 400
- 78 *Колібактеріоз птиці* [Online]. Доступно на: <https://medlec.org/lek3-147697.html>

- 79 Friedberg K. D.(1986) *Arbeitsmed., Socialmed., Fr.,ventivmed*, 6, p. 22–26.
- 80 Вербицький П.І., Фотіна Т.І., Зон, Г.А., Міланко О. О.(2000). Методичні рекомендації з діагностики та профілактики колібактеріозу сільськогосподарської птиці. Суми, 18
- 81 Кенжебаева А.Т., Айтмураева Е.Т. (2008). Серологическая диагностика сальмонеллеза и шигеллеза. Конструирование эритроцитарных диагностикумов для реакции непрямой гемагглютинации *.Известия НАН РК. Серия биологическая*, 2, 47–49
- 82 Чугунова Е.О. Татарникова Н.А. (2014) Учебное пособие: Сальмонеллез сельскохозяйственных животных и птиц: характеристика возбудителя, распространенность в Пермском крае и эпидемиологическое значение. М–во с.–х. РФ, федеральное госбюджетное образоват. учреждение высшего проф. образов. «Пермская гос. с.–х. акад. им. акад. Д.Н. Прянишникова» – Пермь: ИПЦ «Прокрость», 2014. – 134 с
- 83 ГОСТ Р 53665–2009. Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Метод выявления сальмонелл.–Москва, Стандартинформ,10 с
- 84 Анализ продуктов питания кормов: Каталог продукции R–Biopharm– для безопасности Ваших анализов[каталог]. –Germany: 2017] – 88 с
- 85 Brown E., Nathwanc D. (2005). Antibioticcycling orrotation, a systematic review of the evidence of efficacy. *J. Antimicrob. Chemother*, 55(1), 6–9.
- 86 Стегній Б. Т., Глебова К. В., Петренчук Е. П., Бобровицька І. А., Майборода О. В.(2014). Епізоотологічний моніторинг бактеріальних хвороб птиці в Україні. *Ветеринарна медицина*, Харків, 98, 99–102.
- 87 Проблема резистентности (устойчивости) к антибиотикам [Online] Доступно на: <http://biofile.ru/bio/4271.htm>
- 89 Prevention, detection and control of SALMONELLA in POULTRY, OIE, Terrestrial Animal Health Code 2014 In: *World Organization for Animal Health*, Paris.
- 90 Ященко С. В., Мінералов О. І., Марченко О. А. (2010). Методичні рекомендації з екологічних вимог до птахогосподарств. Київ, 22с.

- 91 Barquero F., Negri M. C., Marosini M. I.(1998). Antibiotic – selective environments.*Clin. Dis.*, 27, 95–911.
- 92 Davies J. *Another look at antibiotic resistance*, 426–427.
- 93 Gen. J.(1992) *Microbiol*,138,p. 1553–1559.
- 94 Endtz H. P., Ruisg, J., B. Van Clingenen (1990).Quinolone resistance in campylobacter isolated from man andpoultrg following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine .*J. Anti. Chemo*, 27, 199–208.
- 95 Fontaine T. D., Hoqdley A. W. (1976) Transferable drug resistance associated with coliforms isolatedfrom hospital and domestic sewage. *Health Lab.Sci.*, 13, 238–245.
- 96 Gauthier M. J., Breittmayer V. A. (1990) Gene transfer in marine environment. *Bact. Genet. Nat. Environ*, London, 100–110.
- 97 Hariharan H. J., Bryenton J. W (1989). Registance to trimethoprimsulphametoxazole of E. coli isolated from pigs and calves. *J Can. Vet.*, 30, 348–349.
- 98 Holmberg S. D., Wells J. R., Cohen M. I. Animal – to man transmission of antibacterial resistant Salmonella: investigatiin of U. S. outbreaks 1971–1983. *Science*, 225, 833–836.
- 99 Hummel R., Tschape H., Witte W (1986). Spread of plasmid – mediated nonrseothricin resistance due toantibiotic use in animal husbandry *J. BasicVicrobiol*.Vol, 26, P. 461–466.
- 100 Hunter J. E., Hart C. A (1993). Human isolates of apramisin resistant E. coli which contain thegenes for the AAC *Epidem. Infect*.Vol. 110, P. 253–259.
- 101 Jacobs– Rejstma W. F., Rejstma, C. A (1994). The induetion of guinoloxe resistant Campylobacterbacteria in broilers bu quinolone treatment *Lett. Appl. Microbiol*. Vol, 19. P. 228–231.
- 102 Levi S. B. (1992) *The antibiotic paradox* Plenum Press, New York, NY. USA.
- 103 Levi S. B. Antibiotik resistance an ecological inbulance England, Ciba Fundation Symposium.1997, P.1–14.
- 104 Lewis K. (1994). Multidrug resistance pump in bacteria variation on a theme. *Trends Biochem Sci*.Vol. 19, P.119–123.
- 105 Lyons R. W., Samples C. L., De – Silva H. S.(1980) An epidemic of resistant salmonella in a nursery.*J. Amer. Med. Assoc*.Vol.(243), P. 546–549.

- 106 Mach P. A., Grimes D. J (1982) R-plasmid transfer in a wastewater treatment plant. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. (44), P. 1395–1403.
- 107 Ewen S. A (2002). Antimicrobial use and resistance in animals. *Clin. Infect. Dis.* Vol.(34), P. 93 – 106.
- 108 Madigan M., Martinko J (2003). Brock biology of microorganisms. *Prentice Hall, Upper Saddle River.* p 10
- 109 Martel J. L.(1993). Bacterial resistance monitoring in animals. *Vet. Microbiol.* Vol. (35), P. 321–338.
- 110 Mazodier P., Petter R., Thompson C. (1989). Intergeneric conjugation between *E. coli* and *Streptomyces* species. *J. Bacteriol.* Vol. 171, P. 3583–3585.
- 111 Molback K., Boggesen D. L (1999). An outbreak of multidrug resistant, quinolone – resistant *Salmonella enterica* serotype typhimurium DT 104 W. *Engl. J. Med.* Vol. (341), P. 1420–1425.
- 112 Nen H. C. (1992). The crisis in antibiotic resistance. *Science.* Vol. (257), P. 1064–1073.
- 113 Poole K. (1994). Bacterial multidrug resistance – emphasis on efflux mechanisms and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Anti. Chem.* Vol. 257, P. 1064–1073.
- 114 Sastre J. I., Cabezon E (1998). The carboxyl terminus of protein Tra D adds specificity and efficiency to F – plasmid conjugative transfer. *J. Bacteriol.* Vol. (180), P. 6039–6042.
- 115 Schafer A (1990). High – frequency conjugal plasmid transfer from gram – negative *E. coli* to various gram – negative coryneform bacteria. *J. Bacteriol.* Vol. (172), P. 1663–1666.
- 116 Tacket C. O., Dominguez L. B (1985). An outbreak of multiple – drug – resistant *Salmonella enteritidis* from RAF milk. *J. Amer. Med. Assoc.* Vol. 253, P. 2058–2060.
- 117 Yan – den Bogaard A. E (1997). Antimicrobial resistance relation to human and animal exposure to antibiotics. *J. Anti. Chemo.* Vol. (40), P. 453–454.
- 118 Watters V. L.(1999) Conjugative transfer in the dissemination of beta – lactam and aminoglycoside resistance. *Fran. Biol.* Vol.(4), P.416–439.
- 119 Wray C. R (1986). Apramisin and gentamicin resistance in *E. coli* and *Salmonella* isolated from farm animals. *J. Angiense.* Vol. (97), P. 445–456.
- 120 Wray C. (1990). Feeding antibiotic – contaminated waste milk to calves – effects on physical performance and antibiotic sensitivity of gut flora. *Brit. Vet. J.* Vol. (146). P. 80–87.

- 121 *Що можуть нанотехнології?* [Online]. Доступно на: [http:// dovidka.biz. Ua / shho – mozhut – nanotehnologiyi /](http://dovidka.biz.Ua/shho-mozhut-nanotehnologiyi/)
- 122 Мальцева П.П (2006). Мир материалов и технологий. Наноматериалы. Нанотехнологии. Наносистемная техника. М. : *Техносфера*, 176 с.
- 123 Михайлов, Г.А., Васильева О. С (2008). Технология будущего: использование магнитных наночастиц в онкологии. *Бюллетень СО РАМН*. 3, С. 18–22
- 124 Алымов, М.И. Зеленский В.А (2005). *Методы получения и физико–механические свойства объемных нанокристаллических материалов*. – М.: МИФИ 52 с.
- 125 Алымов, М.И (2004) *Механические свойства нанокристаллических материалов*. – М.: МИФИ, – 32 с.
- 126 Уикли, Б. (1975). *Электронная микроскопия для начинающих*. – М.: Мир,– 325 с.
- 127 Fuentes–Duculan J., Suárez–Fariñas M., L A Zaba C.[et al.] (2010).Subpopulation of CD163–positive macrophages is classically activated in psoriasis. *J.of Investigative Dermatology*. Vol. 130, P. 2412–2422.
- 128 Colvin, V (2003). Potential risks of nanomaterials and how to safely handle materials of uncertain toxicity. *Technology Review*.Vol. 4, P. 119–128.
- 129 Морохов, И.Д., Трусков Л.И., Лапово В.Н (1984). *Физические явления в ультрадисперсных средах*. к. – М.: Энергоатомиздат, 224 с.
- 130 Арбузова, Т.И., Наумов С.В., Арбузов В.Л (2003) Поверхностный магнетизм нанокристаллического монооксида меди. *Физика твердого тела*. Т.45 (2), 290–295.
- 131 Под ред. Шляхто Е.В (2009).*Нанотехнологии в биологии и медицине* – СПб.: Любавич, 319 с.
- 132 Lang, C., Schüler D (2006).Biogenic nanoparticles: production, characterization, and application of bacterial magnetosomes. *J. Phys.: Condens. Matter*. Vol. 18, P. 2815–2828.

- 133 Головка Н. М. (2016.). *Ветеринарно–санітарна експертиза продуктів забою курчат–бройлерів за збагачення раціону цитратом наномолібдену та кормовою добавкою «Пробікс»* : дис. канд. вет. наук: Харків
- 134 Гавалко Ю. В (2014). Использование хелатных соединений в медицинской практике с позиции доказательной медицины. Сучасний погляд на проблему . Кровообіг та гомеостаз. 47–49с.
- 135 Васильев В.П (1996). Комплексоны и комплексонаты. *Соросовский образовательный журнал*. 4, 39–44.
- 136 Стегній М. Ю (2016). Цитопрولیферативна активність перещеплюваних куьтур клітин FLK–BLV під впливом нанокарбоксилатів металів. *Міжсвідомчий тематичний науковий збірник «Ветеринарна медицина»*.Харків, 102, 273–277
- 137 Харитонов Ю.Я (1996). Комплексные соединения *Соросовский образовательный журнал*, 1, 48–56.
- 138 Под ред. Заозерского И.Н (1965). *Неорганическая химия*. Издание второе. – М.: Высшая шк., 363–368.
- 139 Котегов В.П., Сульдин А.В, Липина М.В[и др.] (2011). Гипогликемическая активность хелатных комплексов цинка с аминокислотами. *Микроэлементы в медицине*, Т. 12 (3,4), 83–85.
- 140 Talba T., Shui X.W., Cheng Q Tian X (2011). Antidiabetic effect of glucoseaminic acid–cobalt (II) chelate instreptozotocin–induced diabetes in mice. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* 4, P. 137–140
- 141 Ma W., Niu H., Feng J [et al.] (2011). Effects of zinc glycine chelate on oxidative stress, contents of trace elements, and intestinal morphology in broilers. *Biol. Trace Elem. Res.* Vol. 142 (3), 546–556.
- 142 Zhu K., Nie S., Li C. [et al.] (2013). Antidiabetic and pancreas–protective effects of zinc threoninate chelate in diabetic rats may be associated with its antioxidative stress ability. *Biol. Trace Elem. Res.* Vol. 153(1–3), P. 291–298.

- 143 Chatterjee S., Mookerjee A., Basu J.M. [et al.] (2009). A novel copper chelate modulates tumor associated macrophages to promote anti_tumor response of T cells. *PLoS One*. Vol. 4(9), P. 7048
- 144 Elam M. L., Johnson S. A., Hooshmand S [et al.] (2015). Calcium – Collagen Chelate Dietary Supplement Attenuates Bone Loss in Postmenopausal Women with Osteopenia: A Randomized Controlled Trial. *J. Med. Food*. Vol. 18(3), P. 324–331.
- 145 Fouad G.T, Evans M., Sharma [et al.] (2013). A randomized, double–blind clinical study on the safety and tolerability of an iron multiamino acid chelate preparation in premenopausal women. *J. Diet. Suppl.* Vol. 10 (1), P. 17–28
- 146 de Paula R.A., Fisberg M (2001). The use of sugar fortified with iron tris– glycinate chelate in the prevention of iron deficiency anemia in preschool children. *Arch. Latinoam. Nutr.* Vol. 51 (Suppl. 1), P. 54–59.
- 147 Szarfarc S.C., de Cassana L.M., Fujimori E. [et al.] (2001). Relative effectiveness of iron bis–glycinate chelate (Ferrochel) and ferrous sulfate in the control of iron deficiency in pregnant women. *Arch. Latinoam. Nutr.* Vol. 51(Suppl. 1), P. 42–47
- 148 Giorgini E., de Paula R.A., Fisberg M [et al.] (2001). The use of sweet rolls fortified with iron bis–glycinate chelate in the prevention of iron deficiency anemia in preschool children. *Arch. Latinoam. Nutr.* Vol. 51 (Suppl. 1), P. 48–53.
- 149 Ferrari P., Nicolini A., Manca M.L [et al.] (2012). Treatment of mild non–chemotherapy–induced iron deficiency anemia in cancer patients: comparison between oral ferrous bisglycinate chelate and ferrous sulfate *Biomed. Pharmacother.* Vol. 66 (6), P. 414–418
- 150 Ashmead H.D. (2001). The absorption and metabolism of iron amino acid chelate. *Arch. Latinoam. Nutr.* Vol. 51 (Suppl. 1), P. 13–21.
- 151 Popovici A., Ges_ chickter C.F., Rubin M.(1951). The treatment of essential hypertension by magnesium chelate solution *.Bull. Georgetown Univ. Med. Cent.* Vol. 5 (3), P. 108–116.

- 152 Kelly H.G., Turton M.R., Hatcher J.D (1961). Renal and cardiovascular effects induced by intravenous infusion of magnesium; chelate J.Vol. 84, P. 1124–1128
- 153 Schuette S. A., Lashner, B.A., Janghorbani M. (1994). Bioavailability of magnesium diglycinatevs magnesium oxide in patients with ileal resection. *JPEN J.Parenter Enteral. Nutr.* Vol. 18(5), P. 430–435.
- 154 Supakatisant C., Phupong V. (2015). Oral magnesium for relief in pregnancy_induced leg cramps: a randomised controlled trial. *Matern. Child Nutr.*Vol. 11, (2), P. 139–145
- 155 Gurunathan S, Han JW, Kwon DN, Kim JH.(2014). Enhanced antibacterial and anti–biofilm activities of silver nanoparticles against Gram–negative and Gram–positive bacteria. *Nanoscale Res Lett.* Vol. 9(1),373.
- 156 Rathi Sre PR, Reka M, Poovazhagi R, Arul Kumar M, Murugesan K (2015) Antibacterial and cytotoxic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using aqueous root extract of *Erythrina indica* lam. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 135:1137–1144.
- 157 Elangovan K, Elumalai D, Anupriya S, Shenbhagaraman R, Kaleena P, Murugesan K.(2015). Phyto mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Andrographis echiioides* and its bio–efficacy on anticancer and antibacterial activities. *J Photochem Photobiol B.* 151:118–124.
- 158 Bindhu MR, Umadevi M.(2015). Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc,* 135:373–378
- 159 Ajitha B, Ashok Kumar Reddy Y, Shameer S, Rajesh K, Suneetha Y, Sreedhara Reddy P(2015). *Lantana camara* leaf extract mediated silver nanoparticles: antibacterial, green catalyst. *J Photochem Photobiol B,* 149:84–92.
- 160 Ahmed KB, Senthilnathan R, Megarajan S, Anbazhagan V.(2015). Sunlight mediated synthesis of silver nanoparticles using redox phytoprotein and their application in catalysis and colorimetric mercury sensing. *J Photochem Photobiol B,* 151:39–45.
- 161 Kim JS, Kuk E, Yu KN, [et al.] (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine.,* 3(1):95–101.

- 162 Raffi M, Hussain F, Bhatti T, Akhter J, Hameed A, Hasan M.(2008). Antibacterial characterization of silver nanoparticles against *E. coli* ATCC–15224. *J Mater Sci Technol*. 24(2):192–196.
- 163 Nadworny P.L., Wang J, Tredget E. E., Burrell R.E.(2008). Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver in a porcine contact dermatitis model. *Nanomedicine*. 4(3):241–251.
- 164 Tian J, Wong KK, Ho CM,[et al.] (2007). Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. *ChemMedChem*. 2(1):129–136.
- 165 Wright J. B, Lam K, Buret A. G, Olson M. E, Burrell R. E.(2002). Early healing events in a porcine model of contaminated wounds: effects of nanocrystalline silver on matrix metalloproteinases, cell apoptosis, and healing. *Wound Repair Regen*. 10(3):141–151.
- 166 Huang Y, Li X, Liao Z, [et al.] (2007). A randomized comparative trial between Acticoat and SD–Ag in the treatment of residual burn wounds, including safety analysis. *Burns*.33(2):161–166.
- 167 Atiyeh B. S, Costagliola M, Hayek S.N, Dibo S. A (2007). Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. *Burns*. 33(2):139–148.
- 168 Kim K. J, Sung W. S, Moon S. K, Choi J. S, Kim J. G, Lee D. G (2008). Antifungal effect of silver nanoparticles on dermatophytes. *J Microbiol Biotechnol*. 18(8):1482–1484.
- 169 Chen J, Han C, Lin X, Tang Z, Su S (2006). Effect of silver nanoparticle dressing on second degree burn wound. [with English abstract]. Chinese *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 44(1):50–52.
- 170 Vlachou E, Chipp E, Shale E, Wilson Y. T, Papini R, Moiemmen N.S (2007).The safety of nanocrystalline silver dressings on burns: a study of systemic silver absorption. *Burns*. 33(8):979–985
- 171 Asz J, Asz D, Moushey R, Seigel J, Mallory S. B, Foglia R. P.(2006). Treatment of toxic epidermal necrolysis in a pediatric patient with a nanocrystalline silver dressing. *J Pediatr Surg*. 41(12):9–12.
- 172 Sibbald R. G, Contreras–Ruiz J., Coutts P., Fierheller M, Rothman A., Woo K(2007). Bacteriology, inflammation, and healing: a study of nanocrystalline

silver dressings in chronic venous leg ulcers. *Adv Skin Wound Care*. 20(10):549–558.

173 Yang J. Y, Huang C. Y, Chuang S. S, Chen C.C.(2007). A clinical experience of treating exfoliative wounds using nanocrystalline silver-containing dressings (Acticoat). *Burns*. 33(6):793–797

174 Huang Y., Li X., Liao Z, [et al.] A randomized comparative trial between Acticoat and SD–Ag in the treatment of residual burn wounds, including safety analysis. *Burns*. 33(2):161–166.

175 Liu H. L, Dai S. A, Fu K.Y., Hsu S.H (2010). Antibacterial properties of silver nanoparticles in three different sizes and their nanocomposites with a new waterborne polyurethane. *Int J Nanomedicine*. 5:1017–1028.

176 Nadworny P. L., Wang J, Tredget E.E., Burrell R. E (2008). Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver in a porcine contact dermatitis model. *Nanomedicine*. 4(3):241–251.

177 Shameli K, Ahmad M. B, Jazayeri S. D.,[et al.] (2012) Investigation of antibacterial properties silver nanoparticles prepared via green method. *J Chem Cent* 6(1):73

178 Bin Ahmad M., Lim J. J., Shameli K, Ibrahim N. A., Tay M. Y., Chieng B.W(2012). Antibacterial activity of silver bionanocomposites synthesized by chemical reduction route. *J. Chem Cent* 6(1):101

179 Rajkuberan C., Sudha K., Sathishkumar G., Sivaramakrishnan S (2015). Antibacterial and cytotoxic potential of silver nanoparticles synthesized using latex of *Calotropis gigantea* L. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 136(Pt B):924–930.

180 Ramar M., Manikandan B., Marimuthu P. N., [et.al.] (2015). Synthesis of silver nanoparticles using *Solanum trilobatum* fruits extract and its antibacterial, cytotoxic activity against human breast cancer cell line MCF 7. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 140:223–228.

181 Kvitek L, Panáček A, Soukupova J, [et al.] (2008). Effect of surfactants and polymers on stability and antibacterial activity of silver nanoparticles (NPs). *J Phys Chem C*. 112(15):5825–5834.

- 182 Shameli K., Ahmad M. B., Zargar M., Yunus W. M., Rustaiyan A., Ibrahim N. A (2011). Synthesis of silver nanoparticles in montmorillonite and their antibacterial behavior. *Int J Nanomedicine*. 6:581–590.
- 183 Marslin G, Selvakesavan RK, Franklin G, Sarmiento B, Dias AC. Antimicrobial activity of cream incorporated with silver nanoparticles biosynthesized from *Withania somnifera*. *Int J Nanomedicine*. 2015;10:5955–5963.
- 184 Velluti F., Mosconi N., Acevedo A., [et al.] (2014). Synthesis, characterization, microbiological evaluation, genotoxicity and synergism tests of new nano silver complexes with sulfamoxole: X-ray diffraction of [Ag₂ (SMX) 2]·DMSO. *J Inorg Biochem*.141:58–69.
- 185 Gajbhiye M., Kesharwani J., Ingle A., Gade A., Rai M (2009). Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole. *Nanomedicine*. 5(4):382–386.
- 186 Jo Y. K., Kim B. H., Jung G (2009). Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. *Plant Dis*. 93(10),1037–1043.
- 187 Ogar A., Tylko G., Turnau K.(2015). Antifungal properties of silver nanoparticles against indoor mould growth. *Sci Total Environ*.521–522:305–314.
- 188 Dar M. A., Ingle A., Rai M (2013). Enhanced antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cryphonectria* sp. evaluated singly and in combination with antibiotics. *Nanomedicine*. 9(1),105–110.
- 189 Jaidev L. R., Narasimha G (2010). Fungal mediated biosynthesis of silver nanoparticles, characterization and antimicrobial activity. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 81(2), 430–433.
- 190 Nasrollahi A., Pourshamsian K., Mansourkiaee P (2011). Antifungal activity of silver nanoparticles on some of fungi. *Int J Nanodimens*. 1(3), 233–239.
- 191 Savithramma N., Rao M. L., Rukmini K, Devi P.S (2011). Antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by using medicinal plants. *Int J Chemtech Res*. 3(3), 1394–1402.
- 192 Arjun T. V., Bholay A (2012). Biosynthesis of silver nanoparticles and its antifungal activities. *J Environ Res Dev*. 7(1A), 338–345.
- 193 Xu Y., Gao C., Li X., [et al.] (2013). In vitro antifungal activity of silver nanoparticles against ocular pathogenic filamentous fungi. *J Ocul Pharmacol Ther*. 29(2), 270–274.

- 194 Venkatpurwar V., Pokharkar V (2011). Green synthesis of silver nanoparticles using marine polysaccharide: study of in-vitro antibacterial activity. *Mater Lett.* 65(6), 999–1002.
- 195 El-Sheikh M. A(2014). A novel photosynthesis of carboxymethyl starch–stabilized silver nanoparticles. *J. Sci World.*2014, 514563.
- 196 El-Rafie M., Ahmed H. B, Zahran M (2014). Facile precursor for synthesis of silver nanoparticles using alkali treated maize starch. *Int Sch Res Notices*, 2014– 702396.
- 197 Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей [Online]. Доступ на: http://zakon.nau.ua/doc/?code=994_137
- 198 Коваленко В. Л., Якубчак О. М., Яценко М. Ф (2011) Методичні рекомендації. Санітарно–мікробіологічний контроль повітря об'єктів ветеринарно–санітарного нагляду і контролю. Київ
- 199 Головка А. Н., Ушкалов В. А., Стегний Б. Т та ін. (2007). *Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине*. Харків: НТМТ, 512
- 200 ГОСТ 30726–2001.IDT. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий вида *Escherichia coli*
- 201 ДСТУ ISO 6579:2006. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Методика виявлення *Salmonella spp.*
- 202 Міністерство охорони здоров'я України. Наказ №167 від 05.04.2007. Методичні вказівки «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»
- 203 Хоулт Дж.(1997. *Краткий определитель бактерий Берджи*. М.: Мир, 444
- 204 Фотіна Т. І. (1985). *Роль биологических свойств E.coli в патологии колибактериоза птиц* : дис. канд. вет. наук. Харків
- 205 Інструкція з профілактики та ліквідації сальмонельозу птиці затверджена Наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України 19 вересня 2016 року № 310

- 206 Арєф'єв В. Л. (2017). *Система індикації та ідентифікації сальмонел в кормах на основі мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції* : дис. канд. вет. наук. Харків
- 207 Mcmillan J., Datrakova E., Gendelman H (2011). Cell delivery of therapeutic nanoparticles. *Progress in molecular Biology and Translational Science*. Vol. 104, P. 563–601.
- 208 Трахтенберг І. М., Дмитруха Н. М (2013). Наночастинки металів, фізико–хімічні та токсичні властивості. *Український журнал з проблем медицини праці*. 4 (37), 62–74.
- 209 Борисевич В. Б., Каплуненко В. Г., Косинов Н. В (2012). *Наноматериалы и нанотехнологии в ветеринарной практике*. Київ : Авіцена, 512
- 210 Бусол В. О., Якубчак О. М., Бусол Л. В (2010). Науково–методичні рекомендації щодо оцінки ризиків використання наноматеріалів у ветеринарній медицині і тваринництві. Київ
- 211 Zampoli M., Troncarelli H., Mello Brandao J., Sa Guimaraes A. [et al] (2013). Nanotechnology and Antimicrobials in Veterinary Medicine. *Formatex*. 2, 543–556.
- 212 Фотіна Г. А. (2015). *Фармако–токсикологічна та клінічна оцінка хіміотерапевтичних засобів для схем ротації в птахівництві* : дис. доктора. вет. наук. Львів, 2015–464 с.
- 213 Рогозинникова И. В (2010). *Использование кормовых добавок Биоплекс цинк и Биоплекс медь в кормлении цыплят–бройлеров: автореф. дис. кандидата биологических наук : спец. 06.02.08 «Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов»* Оренбург
- 214 Бусол В. О., Ситнік М. Г(2013). Вплив споживання нанокарбоксилатів германію і заліза на гематологічні та біохімічні показники крові курчат–бройлерів. *Наукові праці Південного філіалу НУБіПУ «Кримський агротехнологічний університет» Ветеринарні науки*, 151, 160–164.

215 Кочеткова Н. А.(2009). *Влияние цитратов металлов на биохимические показатели тканей и органов цыплят–бройлеров и качество получаемой продукции : автореф. дис. кандидата биологических наук : спец. 04.00.04 «Биохимия».* Белгород

216 Кочеткова Н. А., Хмыров А. В., Шапошников А. А (2008). Цитраты биометаллов и иммунитет бройлеров. *Животноводство России*, 11, 17–18.

217 Бузоева Л. Б. (2013). *Эффективность использования хелатных соединений в кормлении цыплят–бройлеров при денитрификации: автореф. дис. кандидата сельскохозяйственных наук : спец. 06.02.08 «Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов»* Владикавказ,

218 Ahmadi F (2012). Impact of Different Levels of silver nanoparticles (Ag–NPs) on performance, oxidative enzymes and blood parameters in broiler chicks *Pak Vet J.* 32 (3), 325–328.

219 Ahmadi F., Rahimi F (2010) The effect of silver nano particles on performance, and retention silver in edible tissue e of broiler chicks. *World Applied Science Journal*.V. 12 (1), 1–4.

220 Lane P., Andre C., Ewa S, [et al.] (2010). Effect of silver nanoparticles on growth performance, metabolism and microbial profile of broiler chickens. *Archives of Animal Nutrition*.V. 66 (5), 416–429.

221 Sondi I., Salopek–Sondi B (2004).Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on E. coli as a model for Gram–negative bacteria. *J. Colloid Interface Sci.* 275, 177–182.

222 Usama T. M(2012). Silver Nanoparticles in Poultry Production. *Journal of Advanced Veterinary Research.* 2, 303–306.

223 Ahmadi F., Kordistany A. H (2011). The impact of silver nano particles on growth performance, lymphoid organs and oxidative stress indicators in broiler chicks. *Global Veterinaria.* 5, 366–370.

224 Сененко Є. О (2014). Вітамінний та мінеральний склад м'яса курчат–бройлерів за введення в раціон цитрату наносрібла. *Проблеми*

зооінженерії та ветеринарної медицини: збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії. – Харків : РВВ ХДЗВА. Вип. 28, Ч 2, 172–175

225 Сененко Є. О.(2013). Морфологічний склад тушок курчат–бройлерів за збагачення раціону цитратом срібла. Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини : збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії. – Харків : РВВ ХДЗВА, 2013. – Вип. 27, Ч. 2, 216–222

226 Яценко І. В., Гетманець О. М., Сененко Є. О (2013). Аналіз впливу наноаквахелату срібла на живу масу курчат–бройлерів в процесі їх відгодівлі. Науковий вісник Національного ун–ту біоресурсів і природокористування України. 188, Ч. 2, 237–242.

227 Засєкін Д. А.(2008). Перспективи застосування нанорозмірного срібла у птахівничій галузі України. Сучасне птахівництво. 11(12), 7–11.

228 Кучерук М. Д., Засєкін Д. А., Соломон В. В (2008). Ефективність нанорозмірного срібла при санації шлунково–кишкового тракту птиці. Науковий вісник НАУ.Вип. 127, 152–156.

229 Засєкін Д. А., Кучерук М. Д (2009). Вплив нутріцевтиків на продуктивність курчат–бройлерів. Тези конференції науково–педагогічних працівників, наукових співробітників та аспірантів ННІ ВМЯБПТ НУБіП України, м. Київ, (12–13 березня), 87–88.

230 Бусол Л. В.(2010). Ветеринарно–санітарна експертиза продуктів забою курчат–бройлерів при застосуванні нанокомпозиту порошка феромагнетика: автореф. дис. кандидата ветеринарних наук : спец. 16.00.09 «Ветеринарно–санітарна експертиза». Київ

231 Бусол Л. В (2009). Біологічна дія ультрадисперсного заліза, виготовленого термохімічним способом. Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини : збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії РВВ ХДЗВА, Харків. Вип. 19, Ч. 2,(1), 272–275

232 Бусол Л. В. (2010), Вплив ультрадисперсного заліза на клініко–біохімічні показники крові курчат–бройлерів. Проблеми зооінженерії та

ветеринарної медицини : збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії. – Харків : РВВ ХДЗВА, 2010. – Вип. 2, ч. 2, т. 1. – С. 159–163.

233 Якубчак О. М., Бусол Л. В (2010). Хімічний склад та біологічна цінність м'яса курчат-бройлерів за умов згодовування ультрадисперсного заліза. *Ветеринарна медицина України*. 5, 41–43.

234 Иванова Е., Грязнева Т (2008). Методические указания по оценке токсичности и опасности дезинфицирующих средств.— МУ 1.2.1105–02.— М., 2002.— 30 с., 2 Водолажский В. Изучение местно раздражающего, резорбтивного и сенсibiliзирующего действия наноструктурированного биоцида велтосфер. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*, 10, 55–57

235 Янишин Я., Булик О., теоретичні аспекти організаційно-економічного механізму ефективного розвитку птахівництва *АГРАРНА ЕКОНОМІКА*, 2015, Т. 8, 1(2), 60–64

234 Морфологія мікроорганізмів. [Online] Систематика, класифікація та номенклатура мікроорганізмів. Доступ на: <http://ua-referat.com/> Морфологія мікроорганізмів

236 Крига Н., Хоулта Дж.(1997). Под ред. Н П. Снита, Дж Стейли, С Уиллямса Определитель бактерий Берджи В 2-х т. Т 1: Пер с англ.М.:– Мир, 432с.

237 Ветеринарно – санітарні вимоги утримання птиці в особистих селянських господарствах [Online]. Доступно на: <http://zakon0.rada.gov.ua/laws/show/z0042-07>

238 Фотіна Т. І.(2003) *Теоретичні і практичні основи контролю основного спектру умовно – патогенних мікроорганізмів при інфекційних хворобах птиці: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. вет. наук: спец. 16.00.03» «ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія»* Харків, 40

239 Фотіна Т.І.(2014) Мікрофлора пташників. *Наше птахівництво*.6 (36), 84–88.

240 Vegad J. L. (2016). Antimicrobial Resistance: a Threat to Livestock Production and a Potential Risk for Public Health [Online]. Доступно на: <http://www.ltz.de/en/news/lohmann-information/Antimicrobial-Resistance-a-Threat-to-Livestock-Production-and-a-Potential-Risk-for-Public-Health.php>.

241 Стегний Б. Т., Бреславец В. А., Калын П. С. (2008) Дезобработка воздуха, подаваемого в помещения или удаляемого из них -путь к снижению эмбриональной смертности и повышению выводимости молодняка, обеспечению благополучия хозяйства. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Ветеринарна медицина»* 5, 121–134.

242 Стегній Б. Т., Глєбова К. В., Петренчук та ін. (2014) Епізоотологічний моніторинг бактеріальних хвороб птиці в Україні. *Ветеринарна медицина*, 98, 99–102.

243 Фотіна Т. І., Петров Р. В., Фотіна Г. А. та ін. (2006). Удосконалення ветеринарно – санітарних заходів при виробництві екологічно чистої продукції птахівництва. *Вісник Білоцерківського державного аграрного університету: збірник наукових праць*, 39, 39–45.

244 Фотина Т. И. (2002). Профилактика бактериальных болезней при посадке цыплят на выращивание. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: збірник наукових праць*. Харків, 10(34), 142 – 146.

245 Фотіна Т. І., Касяненко О. І., Фотіна Г. А., Дворська Ю. Є. (2014). Епізоотологічне та епідеміологічні значення харчових бактеріальних патогенів. *Наук. – техн. бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ вет. препаратів та кормових добавок*, Львів, 15, 141–148.

246 Байдевятов А., Бессарабов Б., Бородай В. (2002) Дезинфектанты инкубационных яиц. *Птицеводство*, 2, 34 – 36.

247 Thornton G. (2011). Managing the hatch window. *Watt Poultry USA*, 20 – 22.

248 Коцюмбас І. Я., Малик О. Г., Патерега І. П., та ін. (2006). *Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів*. Львів: Тріада плюс, 360

249 Фотіна Т. І., Кліщова Ж. Є. (2018) Моніторинг сальмонельозної інфекції птиці. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і інституту біології тварин*, Львів, 19 (1), 136–141 (Дисертант виконала

експериментальну частину роботи та приймала участь в оформленні матеріалів).

250 Фотіна, Т. І. та **Кліщова, Ж. Є.** (2018) Моніторинг сальмонельозної інфекції птиці. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і інституту біології тварин*, Львів, 19 (1), 136–141. (Дисертант виконала експериментальну частину роботи та приймала участь в оформленні матеріалів).

251 Клищева Ж.Е (2016). Чувствительность возбудителей бактериальных болезней птицы к антибактериальным препаратам. Научные труды ветеринарного научно-исследовательского института, Баку, 34, 287–291

252 Кліщова Ж.Є. (2017) Експериментальне дослідження резистентності антибактеріальних засобів «Сарофлос» та «Енрофлоксацин» до виділеної мікрофлори пташників північно-східного регіону України. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і інституту біології тварин*, Львів, 18 (2), 234–239

253 Кліщова Ж. Є., Фотін О. В (2018). Вивчення експериментальної ефективності антибактеріального засобу «Сарофлос» за ешерихіозу та сальмонельозу курей. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Ветеринарна медицина»*, 1 (42), 175–177

254 Фотіна Т. І., Коваленко І. В., **Кліщова Ж. Є.**, Коваль Г.І (2016). Передінкубаційна обробка яєць. *Міжвідомчий тематичний науковий збірник ІЕКВМ. Ветеринарна медицина*, 102, 223–227

255 Фотіна Т. І., **Кліщова Ж. Є.** (2016). Профілактика ешерихіозу птиці за допомогою цитратів. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини, серія «Ветеринарна медицина»*, 33(2), 118–121

256 **Кліщова Ж.Є.** (2017). Застосування іонів цитратів як альтернатива при сальмонельозі птахів. *Міжвідомчий тематичний науковий збірник ІЕКВМ. Ветеринарна медицина*, 103, 339–342

257 Фотіна, Т. І., та **Кліщова, Ж. Є** Заявник і патентовласник Сумський НАУ (2016). Патент на корисну модель № 113243, Україна МПК (2006.01) u 201606119 *Спосіб профілактики ешерихіозу птиці за допомогою цитратів.*

заявл. 06.06.2016; опубл. 25.01.2017, Бюл. № 2. (Здобувач брала участь у дослідженнях, розробці принципу корисної моделі, у підготовці матеріалів до патентування)

258 Фотіна Т. І., Сторчак Ю. Г., Кліщова Ж. Є (2017). Поєднання іонів цитратів з органічними кислотами та їх вплив на фізіологічні показники курей. *Вісник Сумського національного аграрного університету Серія «Ветеринарна медицина»*, 11 (41), 43–46

259 Вербицкий П. И. Справочник ветеринарного врача. / П. И. Вербицкий, П. П. Достоевский, [и др.]. – М.: «Урожай», 2004, С. 879 – 882.

260 Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс] Режим доступу <http://www.who.int/csr/don/28-april-2016-salmonellosis-usa/ru/>

261 Дворска Ю. Е., Фотина А. А (2012). Программа по снижению количества сальмонелл в продуктах птицеводства. Научное обеспечение агропромышленного производства: *Международный науч.-практ. сборн.* – Курск, Ч. (1), С. 14–17.

262 Садовников Н. В., Придыбайло Н. Д [и др.] (2009). *Общие и специальные методы исследования крови птиц промышленных кроссов.* – С.Петербург.: «АВИВАК», с 8–15

263 Антонов Б.И., Борисова В. В., Волкова П. М., [и др.] (1986). *Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции.* М.: «Агропромиздат», с 275

264 Розділ 2 Статистичні методи досліджень [Online]. Доступно на: <http://dspace.knau.kharkov.ua/jspui/>

ДОДАТКИ

- 1 1 Додаток А. Супровідна
- 2 Додаток Б. Протокол досліджень
- 3 Додаток В. Патент України на корисну модель
- 4 Додаток Г Методичні рекомендації
- 5 Додаток Д. Посвідчення про закінчення навчального курсу електронної мікроскопії
- 6 Додаток З. Грамота за кращу доповідь та II місце на XVI Всеукраїнській науковопрактичній конференції.

- 7 Додаток К. Акт про науково-виробниче випробування іонів цитратів Ag та Zn
- 8 Додаток Ж. Акт про впровадження використання кандидатської дисертаційної роботи у навчальний процес
- 9 Довідка Л. Акт доклінічних та клінічних досліджень препаратів Ag та Zn.
- 10 Додаток М. Довідка про впровадження дисертаційної роботи в навчальний процес.
- 11 Додаток Н. Висновок комісії з біоетики.

Додаток А. Супровідна

ННЦ «ЛЕКВМ»,
відділ молекулярної
епізоотології та діагностики

До кафедри кафедра
ветсанекспертизи, мікробіології,
зоогієни та безпеки і якості продуктів
тваринництва факультету
ветеринарної медицини СНАУ (м.Суми)

Супровідна від 20.12.2017.

При цьому направляється зразок агарової культури польового ізоляту бактерій *Salmonella spp.*, ізолюваний із зразка пилу, який було одержано із Сумського національного аграрного університету згідно супровідної ЛМД-196-2017 від 13.12.2017р. у межах виконання сумісних наукових досліджень.

Відповідальний виконавець:
Завідувач сектором
генетики мікроорганізмів
відділу молекулярної епізоотології
та діагностики,
кандидат ветеринарних наук



В. Ареф'єв

Завідувач відділу молекулярної
епізоотології та діагностики,
доктор ветеринарних наук
професор, чл.-кор. НААН



А. Герілович

Додаток Б. Протокол досліджень



**Національний науковий центр
«Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної
медицини»**

61023, Харків, вул. Пушкінська, 83.
Тел. 707-20-44, 704-10-90 (ф)
E-mail: admin@vet.kharkov.ua

Відділ молекулярної епізоотології та діагностики

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор ННЦ «ІЕКВМ»
доктор ветеринарних наук,
професор, академік НААН
Б.Т. Стегній
«24» листопада 20__ р.

**Протокол досліджень
№ ЛМД-185-17 від 24.11.2017**

Замовник: Сумський національний аграрний університет

Адреса замовника: м. Суми, вул. Г. Кондратьєва 160

Зразок для досліджень: зразок культур бактерій

Дата отримання зразка: 24.11.2017 р.

Опис та стан зразка: культури бактерій у скляних пробірках з резиновими пробками.

Відбирання зразка: відібрані та доставлені 24.11.2017 р. аспірантом СНАУ Клішовою Ж.Е.

Мета дослідження: генетичний матеріал сальмонел.

Супровідний документ: супровідна № ЛМД-185-17 від «24» листопада 2017 р.

Маркування матеріалу (зразка): №1 – 4/ЛМД-185-17

Метод досліджень: ПЛР

відповідно до

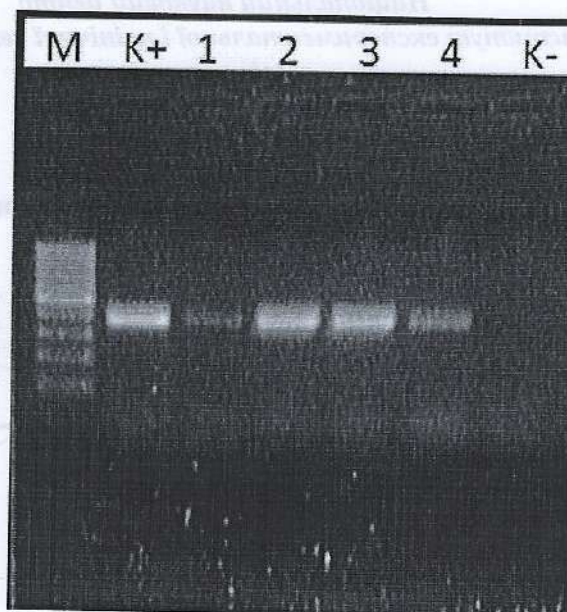
СОП № ЛМД-22-2014 «Екстракція ДНК/РНК біологічного матеріалу для генетичного аналізу методом полімеразної ланцюгової реакції»;

Індикація генетичного матеріалу сальмонел проводили згідно СОП №ЛМД-32-2014 «Індикація ДНК збудника сальмонельозу за допомогою полімеразної ланцюгової реакції»

Результати досліджень: щодо наявності генетичного матеріалу сальмонел:

№	Ідентифікаційний номер зразка	Результат
1	1/ЛМД-185-17	позитивний
2	2/ ЛМД-185-17	позитивний
3	3/ ЛМД-185-17	позитивний
4	4/ ЛМД-185-17	позитивний

Додатки



М – маркер молекулярної маси;
 К+ - контроль позитивний,
 1, 2, 3, 4 – дослідні зразки,
 К- – контроль негативний

Виконавець:
 Провідний науковий співробітник
 відділу молекулярної епізоотології
 та діагностики

(підпис)

Ареф'єв В.Л.

Висновки, пропозиції та рекомендації (думки та тлумачення) не потребує

Зав. відділу молекулярної
 епізоотології та діагностики

(підпис)

Солодянкін О.С.

Примітки:

1. Протокол випробувань стосуються тільки зразків, що пройшли випробування
2. Термін дії протоколу випробувань 1 місяць
3. Передрукування протоколу випробувань частково або повністю без дозволу ННЦ «ІЕКВМ» забороняється

Додаток В. Патент України на корисну модель



(11) 113243

(19) UA

(51) МПК (2016.01)

A01M 1/20 (2006.01)

A61K 33/00

(21) Номер заявки: u 2016 06119

(22) Дата подання заявки: 06.06.2016

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну модель: 25.01.2017(46) Дата публікації відомостей
про видачу патенту та
номер бюлетеня: 25.01.2017,
Бюл. № 2

(72) Винахідники:

Фотіна Тетяна Іванівна, UA,
Кліщова Жанна Євгеніївна,
UA

(73) Власник:

СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
вул. Г. Кондратьєва, 160, м.
Суми, 40021, UA

(54) Назва корисної моделі:

СПОСІБ ПРОФІЛАКТИКИ ЕШЕРИХІОЗУ ПТИЦІ ЗА ДОПОМОГОЮ ЦИТРАТІВ

(57) Формула корисної моделі:

Спосіб профілактики ешерихіозу птиці за допомогою цитратів цинку та срібла, який відрізняється тим, що цитрати цинку та срібла використовують у дозі 15 г на 250 мл води для захисту організму курчат від патогенного впливу *E. coli*, завдяки їх бактерицидним та антиоксидантним властивостям.

Додаток Г. Методичні рекомендації

Міністерство освіти і науки України
Сумський національний аграрний університет

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО ЕКСПЕРИМЕНТУ
ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ НА БАКТЕРІАЛЬНУ
ЗАБЕРУДНЕНІСТЬ ЗА ДОПОМОГОЮ ТЕСТ-СИСТЕМ BHI/BSI/MBP
ТА COMBACT BRF

Суми—2017

УДК 619:616.995.4.7:636.5

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ПОДОБНО ВКРЕСЛО-АНАЛІЗУ
ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ НА ЗАКРЕСЛЯЛЬНУ ЗАБУДУВАНІСТЬ ЗА
ДОПОМОГОЮ ТЕСТ-СИСТЕМ *ВІДАНТАМЕР* (A-SOAR/AS/DA)

Методичні рекомендації призначені для оцінювання ветеринарної медицини, спеціальність державних лікарняних ветеринарної медицини, студентів і магистрантів вищих навчальних закладів за фахом 7.130301 «Ветеринарна медицина».

Резюме

Кафедра ветеринарно-санітарної експертизи, мікробіології, зоотехніки та бальнеології продуктів тваринництва Сумського НАУ.

Т.І. Фотіна, д.в.з., професор

А.Д. Старосельська, асистент

ЯСС. К.вікторія, асистент

Рецензент:

В. Ю. Кошкін, канд. професор, Сумський національний аграрний університет

Рекомендації редакції і видавця:

Внесок редакції Сумського національного аграрного університету
(протокол № 4 від 25 жовтня 2017 р.)

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Савицький В.І., Петришин О.В., Голован О.В. Контроль продукції харчування онкологічних і хворих на висхідний. Проблемне управління 1:2015, С. 18-22
2. Савицький В.І., Жарикова Г.Г. Мікробіологія основних видів сільськогосподарської продукції в виробництві кондитерських изделий. М.: Даша принт, 2006. - 146 с.
3. Оцінювання якості харчових продуктів: переклад з англійської мови, ред. Н.А. Уманської. СПб: Професіонал, 2014. - 496 с.
4. Савицький В.І. Оцінювання якості харчових продуктів та їх контролю. Савицький В.І. Проблемне управління. - 2007. - №2 [Електронний ресурс]. - Режим доступу: http://www.prikladnaya-mikrobiologiya.com.ua/2007_2_4.htm.
5. International Association of Agricultural and Veterinary Food Research Association Technical Manual. - 1997. - №13.
6. Jouve, J.L., Stringer, M.P., Batri-Fuker, A. Food Safety Management Tools. - Brussels: ILSEurope, 1998.
7. Uyttendaele, M. Modern Food Microbiology, 2nd ed. - New York: Dixon Nealand Co., 1978.
8. Уманська Н.А. Управління якістю у харчовій промисловості та в агропродовольстві: Сторінки життя харчової промисловості і агропродовольства: статистика і аналіз / Н.А. Уманська. - Київ: ПАНО, 2006. - 336 с.
9. ISO 17004 Мікробіологія продуктів харчування і кормів для тварин. Вибір проб і методів для мікробіологічного аналізу
10. ISO 6887-1 Мікробіологія продуктів харчування і кормів для тварин. Підготовка послідовних аналізів, вихідних функцій і дослідницьких розробок для мікробіологічного аналізу. - Ч. 1: Загальні принципи для підготовки послідовних функцій і дослідницьких розробок

Додаток Д. Посвідчення про закінчення навчального курсу електронної
мікроскопії

СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ПОСВІДЧЕННЯ

про закінчення навчального курсу
електронної мікроскопії

Згідно з наказом № 2260-к від 18.07.2017 р.

КЛІЩОВА ЖАННА ЄВГЕНІВНА

прослужала навчальний курс, виконала та захистила випускну роботу на тему
"Розробка методики вивчення морфологічної структури клітин *S. Pyllogium-gallinatum*
методом скануючої електронної мікроскопії"

Ректор,
Д.С.-Г.Н., професор, академік НААН України

В.І. Ладика

2017 рік

Додаток 3. Грамота за кращу доповідь та II місце на XVI Всеукраїнській науковопрактичній конференції.



Додаток К. Акт про науково-виробниче випробування іонів цитратів Ag та Zn

ЗАТВЕРДЖУЮ

ДИРЕКТОР ТОВ «Сумитехнокорм»



Ю. І Дяченко

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи



Ю. І Данько

Акт

про науково-виробниче випробування іонів цитратів Ag та Zn

для профілактики бактеріальних хвороб птиці.

Ми що нижче підписалися представники кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського НАУ професор Фотіна Т. І., аспірант Кліщова Ж. Є та ветеринарний лікар господарства ТОВ «Сумитехнокорм» Черненко В. В. провели виробничу перевірку препаратів іонів цитратів Ag та Zn з метою профілактики бактеріальних хвороб птиці та дезінфекційну обробку приміщення пташників з іонними розчинами « $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ » – 3 % та « $3\text{Zn}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ » – 3 %.

Дослідження здійснювали на 72 добових курях породи Хайсекс Браун, масою тіла 1,2 кг.

Нами проведений аналіз бактеріальної забрудненості птахогосподарства і встановлено, що з посліду курей було виділено такі види мікроорганізмів, як *Escherichia coli* – 22 %, *Sallmonel* – 10 % (*S. pullorum* – *gallinarum*, *S. enteritidis* no 5 % кожного), *P. vulgaris* – 7,5 %, *S. aureus* – 9 %, аналогічну мікрофлору спостерігали при дослідженні трупного матеріалу (*Escherichia coli* – 25 %, *S. pullorum* – *gallinarum* – 6 %, *S. enteritidis* – 6 %, *S. aureus* – 5 %, *Str. pyogenes* – 4,5 %).

Зі стін кліток, годівниць технологічного обладнання виділяли змішану мікрофлору яка представляла собою сукупність стрептококів, стафілококів, ентеробактерій та протей (*Str. faecalis* – 3,6 %, *Str. avium* – 2,0 % та незначний відсоток *S. saprophyticus* – 2,5 %, *S. aureus* – 1,5 %, *Enterobacter cloacae* – 3,6 % та на *Enterobacter aerogenes* 5,3 %). З корму ізолювали *Escherichia coli* – 8,9 %, *S. enteritidis* – 1 %. З яєць – *Enterobacter cloacae* – 3,2 %, *P. aeruginosa* – 1 %.

Для усунення рециркуляції умовно-патогенної мікрофлори у приміщенні пташників загальною площею 4200 м² № 1 та № 2 застосовували аерозольний метод дезінфекції розчином « $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ » – 3 % та « $3\text{Zn}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ » – 3 % із розрахунку 0,03 мл/м² за допомогою аерозольного генератора САГ-10.

До застосування розчинів кількість бактеріальних збудників становила від 12,8±1,0 (*Enterobacter aerogenes*) до 138±5,6 (*Escherichia coli*) КУО/см² після використання розчинів цитратів кількість мікроорганізмів різко зменшується, а саме ешерихій – в десять разів, сальмонел – у дев'ятнадцять, ентеробактер у шість разів, стрептококів – у п'ятнадцять, стафілококів – у двадцять чотири, протей – у тринадцять (табл. 1).

Таблиця 1

**Кількість мікроорганізмів виділених зі стін та технологічного обладнання
пташника $M \pm m$; $n=20$**

Мікроорганізми	Кількість мікроорганізмів		
	до обробки	пташник № 1 « $3Ag+C_6H_5O_7^{3-}$ » – 3 %	пташник № 2 « $3Zn_2+2C_6H_5O_7^{3-}$ » – 3 %
<i>E. coli</i>	138,00±5,60	13,75±1,30	14,00±1,20
<i>S. pullorum – gallinarum</i>	39,0±1,70	2,35±0,05	3,00±1,00
<i>S. enteritidis</i>	24,00±1,20	4,00±1,00	5,00±1,50
<i>S. typhimurium</i>	16,00±0,50	1,00±0,02	2,00±0,05
<i>P. vulgaris</i>	13,50±1,30	1,00±0,03	2,00±0,05
<i>S. aureus</i>	48,10±2,50	2,00±1,20	3,00±1,50
<i>Str. Faecalis</i>	15,00±1,00	1,00±0,05	2,00±1,00
<i>Str. avium</i>	15,12±0,20	1,00±0,03	2,00±0,05
<i>E. aerogenes</i>	12,80±1,00	2,00±0,50	3,00±1,00
<i>E. cloacae</i>	13,70±1,30	2,00±0,50	3,00±1,00

Стосовно бактерицидної дії « $3Zn_2+2C_6H_5O_7^{3-}$ » – 3 % на умовно-патогенні мікроорганізми була іншою кількістю ешеріхій знизилася у дев'ять разів, сальмонел – у тринадцять разів, ентеробактер (*E. aerogenes*, *E. cloacae*) у чотири рази, стрептококів – у сім, стафілококів – у шістнадцять, протей – у шість разів. Витрати розчину для дезінфекційної обробки становили 1, 260 мл на площу одного пташника (4200 м²).

Для оздоровлення птахогосподарства 5 добовим курчатам випоювали іони цитратів Zn та Ag в дозі по 15 г на 250 см³ води протягом п'яти діб. До та після використання препаратів визначали мікрофлору харчового тракту молодняку кур.

До використання препаратів із 1 граму посліду було виділено 5 видів мікроорганізмів а саме *Escherichia coli*, *Salmonella pullorum – gallinarum*, *Salmonella enteritidis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* (табл. 2).

Таблиця 2

**Кількість мікроорганізмів у посліді ремонтного молодняку кур до та після
застосування іонів цитратів Ag та Zn, $M \pm m$; $n=20$**

Мікроорганізми	Кількість мікроорганізмів в 1г посліду		
	до використання препаратів	після іонів цитрату Ag	після іонів цитрату Zn
<i>Escherichia coli</i>	145,00±8,70	14,00±6,20	14,00±6,20
<i>Salmonella pullorum – gallinarum</i>	59,00±4,10	4,00±1,10	4,00±1,10
<i>Salmonella enteritidis</i>	35,00±1,70	2,00±1,20	2,00±1,20
<i>Proteus vulgaris</i>	13,00±1,30	1,00±1,20	1,00±1,20
<i>Staphylococcus aureus</i>	53,00±2,30	2,00±1,70	2,00±1,70

Найбільшу кількість з них становили *Escherichia coli* – $145 \pm 8,7$ КУО/см², *Salmonella pullorum – gallinarum* – $59 \pm 4,1$ та *Staphylococcus aureus* – $53 \pm 2,3$ КУО/см²

Після застосування іонів цитратів Ag та Zn кількість мікроорганізмів в посліду ремонтного молодняку істотно зменшується в декілька разів а саме: *Escherichia coli* в 10 разів, *Salmonella pullorum – gallinarum* в 14 разів, *Salmonella enteritidis* в 17 разів, *Proteus vulgaris* в 12 разів, *Staphylococcus aureus* в 26 разів

З даного експерименту видно, що птиця в дослідних групах № 1 та № 2 має більший відсоток збереженості поголів'я – 95,9 % та 96,6% приріст живої маси становить 55 г у порівнянні з птицею контрольної групи 50 г і відсоток збереженості поголів'я становить 51 % (табл. 3).

Таблиця 3

Терапевтична ефективність іонів цитратів Ag та Zn за ешерихіозу птиці

Показники	M±m; n=4000		
	№1 Ag	№ 2 Zn	Контроль
Кількість курчат, яких лікували	4000	4000	4000
З цього числа: пало/одужало гол.	580/3420	582/3418	600/3400
Тривалість курсу лікування	5 днів	5 днів	5 днів
Добова доза	15г/250 см ³ води	15г/250 см ³ води	1 см ³ /1 дм ³ води
Термін спостереження	42	42	42
Вага на початок дослідів	795,4±0,42	795,4±0,42	795,4±0,42
Вага на кінець дослідів	850,9±0,15	850,9±0,15	845,5±1,50
Збереженість/%	95,9	96,6	51,0%

Аналогічну серію дослідів ми провели в бройлерному господарстві орендованій частині ТОВ «Сумитехнокорм» під назвою ТОВ «Інкубатор», що знаходиться в селі Боромля Тростянецького району Сумської області при асоційованому перебігу ешерихіозу та сальмонельозу. Клінічно хворих курчат лікували новим антибактеріальним препаратом «Сарофлекс» порівнюючи його із широковідомим препаратом який застосовувався в даному господарстві для лікування ешерихіозу та сальмонельозу «Енрофлоксацин». Умовно хворим курчатам задавали іони цитратів Ag та Zn в дозі по 15 г на 250 см³ води впродовж 5 днів (табл. 4).

Як бачимо з таблиці 4 відсоток збереження поголів'я за використання іонів цитратів $3\text{Ag} + \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+} + \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ становить 97 %, і слід відмітити що в дослідних групах загибель курчат від бактеріальних хвороб не була зареєстрована на відмінну від контрольної групи де відсоток смертності становив 12,5 %, а збереження становив 87,5 %.

Результати вивчення терапевтичної ефективності «Сарофлекс» в умовах птахогосподарства ТОВ «Інкубатор» Тростянецького району Сумської області показали високу ефективність при ешерихіозі курчат, відсоток збереження складає 95,1 % (табл. 5).

Таблиця 4

Ефективність використання іонів цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ умовно хворих курей за ешерихіозу та сальмонельозу
 $M\pm m$; $n=2000$

Показники	Одиниці виміру	Іони цитрату Ag	Іони цитрату Zn	Контроль
Кількість курчат, яких лікували	голів	2000	2000	2000
З цього числа: пало/одужало	голів	59/1941	59/1941	250/1750
У тому числі від бактеріальних хвороб	%	-	-	12,5
Тривалість курсу задавання препаратів	днів	5 днів	5 днів	-
Добова доза	см ³ /дм ³	15 г/250 см ³ води	15 г/250 см ³ води	
Середньодобовий приріст	г	84,5±0,2	84,5±0,2	75,2±8,2
Збереженість	%	97 %	97 %	87,5

За сальмонельозу курей відсоток збереження поголів'я становить 94,6 % на відмінну від застосування антибактеріального засобу «Енрофлоксацин» відсоток збереження за ешерихіозу становить 93,7 % за сальмонельозу 93,5 %.

Результати проведених досліджень підтвердили терапевтичну ефективність іонів цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ в якості профілактичних засобів, які забезпечують збереження поголів'я від бактеріальних хвороб птиці на 97 %.

Використовуючи іони цитратів в якості лікувальних засобів за ешерихіозу птиці дозволяє отримати 96,6 % збереження поголів'я курчат.

Таблиця 5

Терапевтична ефективність препарату «Сарофлос» за ешерихіозу та сальмонельозу курчат-бройлерів
 $M\pm m$; $n=2000$

Показники	Одиниці	«Сарофлос» 10 % ешерихіоз	Енрофлоксацин 10 %	Сарофлос 10 %	Енрофлоксацин 10 %
				сальмонельоз	
Кількість курчат, яких лікували	голів	2000	2000	2000	2000
З цього числа: пало/одужало	голів	98/1902	125/1875	108/1892	130/1870
Тривалість курсу лікування	днів	5	5	5	5
Добова доза	см ³ /дм ³	0,24 см ³ /1 дм ³ води	1 см ³ /1 дм ³ води	0,24 см ³ /1 дм ³ води	1 см ³ /1 дм ³ води
Збереженість	%	95,1	93,7	94,6	93,5

Таким чином при оздоровленні птахогосподарства від бактеріальних хвороб птиці встановлено, що при комплексному застосуванні препаратів у вигляді іонних розчинів та іонів цитратів кількість патогенної мікрофлори зменшується, як в навколишньому середовищі пташника від 4 до 24 разів так і в організмі самої птиці від 10 до 26 разів залежно від виду мікроорганізмів (*Escherichia coli* та

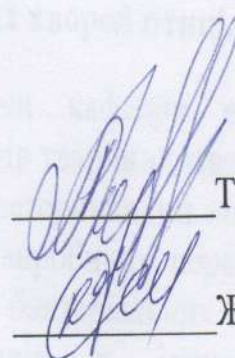
Staphylococcus aureus). Також при використанні іонів цитратів Ag та Zn спостерігали не тільки збереженість молодняку а й зміну ваги її тіла на 55 г на відмінно від контролю на 50 г.

Тому для профілактики бактеріальних хвороб птиці можна використовувати іони цитратів Ag та Zn в якості корекційної обробки від патогенного впливу *Escherichia coli*, *Salmonella pullorum – gallinarum*, *Proteus vulgari*, *Staphylococcus aureus*.

Стосовно препарату «Сарофлос» він є ефективним проти грамнегативних мікроорганізмів: *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Enterobacter spp.*, і та д. «Сарофлос» можна застосовувати в програмах ротацій для лікування ешерихіозу та сальмонельозу.

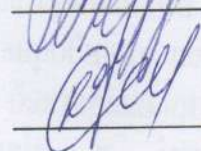
Підписи:

д.вет.н., професор



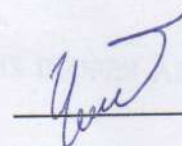
Т. І. Фотіна

аспірант



Ж. Є. Кліщова

ветеринарний
лікар



В. В. Черненко

Додаток Ж Акт про впровадження використання використання кандидатської дисертаційної роботи у навчальний процес

Погоджено Перший проректор Турко І.Б. (підпис) (Прізвище, ініціали)	Затверджую Проректор з наукової роботи Феденко О.М. (підпис) (Прізвище, ініціали)
« <u>14</u> » <u>березня</u> <u>2018</u> р.	« <u> </u> » <u> </u> р.

А К Т

про впровадження/використання результатів кандидатської дисертаційної роботи у навчальний процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему:
Удосконалення профілактики бактеріальних хвороб птиці.

що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю **16.00.03 – ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія**

виконаної **Клішова Жанна Євгенівна**

ПІБ здобувача

впроваджено у навчальну програму при викладанні дисциплін(и)
«Ветеринарна мікробіологія та імунологія»,
 назва дисципліни

Ознайомлення та роз'яснення студентам необхідності проведення комплексної профілактики бактеріальних хвороб птиці з використанням нових препаратів таких як іонів цитратів $3\text{Ag}+\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ та $3\text{Zn}^{2+}+2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ в дозі 15г на 250см³ води. Результатом ефективності цих препаратів є те що, вони не пригнічують нормальну мікрофлору кишечника та не призводять до перехресної антибіотикорезистентності циркулюючої мікрофлори. Не накопичуються в навколишньому середовищі та продукції птахівництва.

(необхідно конкретизувати, які результати дисертаційної роботи і яким чином (способом) використані при викладанні дисциплін(и))

на кафедрі **епізоотології**
 у підготовці фахівців ОКР «Бакалавр»(6.11.01), «Магістр»(8.11.01.01.01)
 за напрямом «Ветеринарна медицина» із спеціальності «Ветеринарна медицина»
 у **Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького**

Декан факультету
 к.вет.н., доцент

Завідувач кафедри епізоотології
 д.вет.н., професор

Стронський Ю. С.

Куртяк Б. М.

Додаток Л. Довідка до клінічних та клінічних досліджень препаратів Ag та Zn



ООО «Доктор ОСКО»
40024, Украина, г.Сумы, ул.Харьковская,4
www.litosorbceolit.com/
litosorb@gmail.com
+380509327727
+380683950595

Вих. № б/н от « 24 » 07 2018 г.

ДОВІДКА

Видана аспіранту Сумського НАУ Кліщовій Жанні Євгеніївні про те що, отримані та узагальненні нею результати доклінічних та клінічних досліджень препаратів, які складаються з основної речовини та наповнювача. Основою є природний мінерал цеоліт (кліноптилоліт), який використовується в медицині як селективний ентеросорбент. Властивості цеоліту корекція мінеральної недостатності, транспорт мікроелементів в організм та адсорбція токсичних речовин. Іони цитратів Ag та Zn виконують роль наповнювача цитрату за спеціальною технологією температурної дифузії поміщаючи іони Ag та Zn в структуру каркаса цеоліта. Отримані дані було розглянуто на засіданні директорату ТОВ «ДОКТОР ОСКО» та вирішено офіційно ввести результати досліджень до листівок-вкладок для застосування іонів цитратів Ag та Zn, з профілактичною метою за ешерихіозу та сальмонельозу птиці та для дезінфекційної обробки приміщень та інкубаційних яєць з метою зменшення мікробного тиску.

Голова правління ТОВ
«Доктор Оско»

Симоненко О. С.

Додаток М. Довідка про впровадження дисертаційної роботи в навчальний процес.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
та навчальної роботи СНАУ



В. М. Жмайлов

2018 року

ДОВІДКА

про впровадження результатів дисертаційної роботи аспіранта кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогігієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету Кліщової Жанни Євгеніївни «Обґрунтування інновацій у профілактиці за ешерихіозу та сальмонельозу птиці».

Викладені в інформаційному листі дані щодо обґрунтування доцільності застосування нових препаратів для профілактики ешерихіозу та сальмонельозу птиці відображають основні положення дисертаційної роботи Кліщової Жанни Євгеніївни, використовуються у наукових дослідженнях та навчальному процесі під час викладення дисциплін «Епізоотологія» та «Ветеринарна мікробіологія та імунологія» для студентів факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогігієни та безпеки і якості продуктів тваринництва протокол № від 10 вересня.

Завідувач кафедри
ветсанекспертизи, мікробіології, зоогігієни
та безпеки і якості продуктів тваринництва
доктор ветеринарних наук професор

Т. І Фотіна

Додаток Н. Висновок комісії з біоетики.

ВИСНОВОК КОМІСІЇ З БІОЕТИКИ

Сумського національного аграрного університету щодо досліджень аспірантки кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Кліщової Жанни Євгеніївни на тему: «Обґрунтування інновацій у профілактиці за ешерихіозу та сальмонельозу птиці».

Комісія з біоетики Сумського національного аграрного університету, в складі завідувача кафедри епізоотології та паразитології, доктора ветеринарних наук, професора Кассіча Ю. В., та доктора ветеринарних наук кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Петрова Р. В, та завідувача кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці ім. професора Панікара І. І, кандидата ветеринарних наук, професора Зона Г. А., вивчали матеріали експериментальних досліджень на курчатах, щурах, мурчаках. Експерименти виконанні протягом 2016-2018 рр на курчатах віком від 14-30 діб, щурах віком 2-12 міс. та мурчаках 3-4 міс. Тварини піддавалися діагностичним дослідженням, утримувалися в належних умовах та отримували корми згідно раціону.

Кількість тварин у групах була мінімальною для проведення дослідів. При утриманні дослідних тварин дотримувалися основних принципів біоетики, а саме: не допускали спраги, недоїдання, голоду, дискомфорту при утриманні та стресу при проведенні досліджень. Тварини не піддавалися вимушеній евтаназії.

Висновок. Експериментальні дослідження, що викладені у дисертації Кліщової Жанни Євгеніївни «Обґрунтування інновацій у профілактиці за ешерихіозу та сальмонельозу птиці», ґрунтувалися на принципах моральних цінностей людини, не нанесення шкоди тваринам, милосердя та

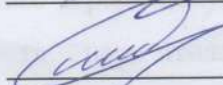
справедливості до них. При проведенні експериментальних досліджень Кліщової Ж. Є за темою дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 – ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія, було дотримані усі біотичні вимоги, які відмічені Законом України «Про гуманне відношення до тварин» №692 2008р.

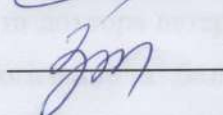
Підписи:

Голова комісії:

 Ю. В. Кассіч

Члени комісії:

 Р. В. Петров

 Г. А. Зон

