

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

ЗАБАРНА ІННА ВАСИЛІВНА

УДК 619:614.31:637.5:615.33

**ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНА ЕКСПЕРТИЗА ПРОДУКТІВ ЗАБОЮ
КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА ЗАСТОСУВАННЯ ФАРМАЗИНУ
І ТИЛОЦИКЛІНВЕТУ**

16.00.09 – ветеринарно-санітарна експертиза

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Київ – 2016

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Національному університеті біоресурсів і природокористування України Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник доктор ветеринарних наук, професор
Якубчак Ольга Миколаївна,
Національний університет біоресурсів
і природокористування України,
завідувач кафедри ветеринарно-санітарної експертизи

Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук, доцент
Бергілевич Олександра Миколаївна,
Сумський державний університет,
професор кафедри гігієни та екології з курсом
мікробіології, вірусології та імунології

кандидат ветеринарних наук, доцент
Бусол Леся Володимирівна,
Харківська державна зооветеринарна академія,
доцент кафедри ветеринарно-санітарної експертизи
та судової ветеринарної медицини

Захист відбудеться «02» червня 2016 року о 13⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 26.004.12 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Генерала Родимцева, 19, навчальний корпус № 1, кімната 97

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного університету біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, кімната 41а

Автореферат розісланий «28» квітня 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

Л. В. Шевченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Забезпечення населення продукцією тваринного походження, безпечне та якісне харчування – важливі й актуальні питання сьогодення. Без їх вирішення неможлива соціальна стабільність суспільства і здоров'я населення. Стрімке зростання споживання продукції агропромислового комплексу вимагає підвищення продуктивності тварин і зниження собівартості продукції, які досягаються завдяки раціональному застосуванню антибіотиків і стимуляторів росту в тваринництві та птахівництві (Ноллед Л., 2006; Богатко Н. М. та ін., 2009; Бергілевич О. М. та ін., 2010; Мельник О. В., 2011).

Однією із перспективних галузей тваринництва є вирощування курчат-бройлерів, адже продукти їх забою використовуються повністю (Коротко О. Л. и др., 2006; Антипова Л. и др., 2007; Митрофанов Н. С., 2007; Безмерных А. и др., 2008; Бусол Л. В., 2010; Терещенко О. В. та ін., 2011).

З численного арсеналу антибіотиків, які використовуються в тваринництві та птахівництві, препарати групи макролідів – фармазин і тилоциклінвет останнім часом знайшли широке застосування у ветеринарній практиці (Кожин Ю. В., 2004). При цьому виникає проблема їх накопичення у харчових продуктах тваринного походження. Тому суттєвим завданням для фахівців ветеринарної медицини є забезпечення лікувально-профілактичних заходів такими препаратами, які мінімізують ризики для організму птиці та споживачів продукції (Фотина Т. И. и др., 2011).

Необхідно зазначити, що потрапляння залишків антибіотиків в організм людини з харчовими продуктами вкрай небажано, оскільки вони можуть проявляти токсичну дію, найчастіше у вигляді алергічних реакцій, дисбактеріозів та інших небезпечних для організму наслідків. Останнє передбачає запровадження ретельного контролю харчових продуктів тваринного походження на вміст у них залишків антибіотиків (Засекін Д. А. та ін., 2006). Основними лабораторними методами визначення залишкових кількостей антибіотиків є мікробіологічний, метод імуноферментного аналізу (ELISA) та арбітражний метод – рідинної хроматографії (LC-MS-MS).

Єдина концепція і підхід до застосування лікарських препаратів за принципом найсуворішого контролю їх використання, розроблення і застосування різних сучасних методів аналізу антибіотиків дозволять організувати виробництво продуктів здорового харчування, що не містять залишків препаратів та відповідатимуть вимогам стандартів щодо безпечності та якості (Кальницькая О. В., 2008).

Саме тому було проведено ветеринарно-санітарну експертизу продуктів забою курчат-бройлерів у разі застосування препаратів фармазину і тилоциклінвету.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є складовою частиною науково-дослідної роботи «Розробити та підготувати проект порядку відбору та досліджень зразків продукції птахівництва у відповідності із регламентом 2073/2005 ЄС, удосконалити моніторингові дослідження залишків ветеринарних препаратів та забруднювачів в живих тваринах та сировині тваринного походження» (номер державної реєстрації 0111U007340,

2011–2012 рр.) та розділом ініціативної теми «Розробка вивчення та порівняння різних методів і засобів ветеринарно-санітарної оцінки і контролю якості та безпеки продукції тваринного і рослинного походження та кормів» (номер державної реєстрації 0109U001082, 2008–2018 рр.) Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ), що виконувались спільно з кафедрою ветеринарно-санітарної експертизи Національного університету біоресурсів і природокористування України.

Мета і задачі дослідження. Мета дослідження – ветеринарно-санітарна експертиза продуктів забою курчат-бройлерів у разі використання фармазину і тилоциклінвету під час їх вирощування та удосконалення моніторингового методу дослідження шляхом валідації методики щодо визначення залишкових кількостей тилозину в м'язах і яйцях птиці за допомогою тест-системи для конкурентного імуноферментного аналізу MaxSignal® Тилозин (Cat. No.: 1026).

Для досягнення поставленої мети необхідно було виконати наступні задачі:

1. Провести валідацію методики з кількісного визначення тилозину методом імуноферментного аналізу в пробах м'язів (курей і гусей) та яйцях птиці за допомогою тест-системи для конкурентного імуноферментного аналізу MaxSignal® Тилозин (Cat. No.: 1026).

2. Провести моніторинг залишків тилозину і доксицикліну у м'язах та яйцях птиці в Україні.

3. Дослідити наявність залишкової кількості тилозину і доксицикліну у м'язах і печінці курчат-бройлерів, що надходять в торгівельну мережу.

4. Проаналізувати вплив фармазину і тилоциклінвету на продуктивність курчат-бройлерів.

5. Дослідити хімічні, мікроскопічні та мікробіологічні показники продуктів забою курчат-бройлерів за умов надходження фармазину і тилоциклінвету.

6. Визначити біологічну цінність та токсичність «білих» і «червоних» м'язів курчат-бройлерів у разі надходження фармазину і тилоциклінвету.

7. Вивчити гістологічні зміни у внутрішніх органах курчат-бройлерів за умов надходження фармазину і тилоциклінвету.

8. Визначити залишкові кількості тилозину і доксицикліну у м'язах тулуба, кінцівок та внутрішніх органів курчат-бройлерів за допомогою арбітражного методу – рідинної хроматографії у виробничому експерименті.

9. Розробити методичні рекомендації з кількісного визначення тилозину в продукції тваринного походження за допомогою тест-системи для конкурентного імуноферментного аналізу MaxSignal® Тилозин (Cat. No.: 1026), виробництва фірми Bioo Scientific Corporation, США.

Об'єкт дослідження – ветеринарно-санітарна експертиза продуктів забою курчат-бройлерів у разі надходження ветеринарних препаратів фармазину і тилоциклінвету, валідація методики з кількісного визначення залишків тилозину в пробах м'язів (курей та гусей) і яєць за допомогою тест-системи MaxSignal® Тилозин (Cat. No.: 1026) методом імуноферментного аналізу.

Предмет дослідження – валідація методики з кількісного визначення тилозину, передзабійний клінічний стан курчат-бройлерів, хімічні, мікроскопічні та

мікробіологічні показники м'яса, вміст антибактеріальних препаратів, біологічна цінність та токсичність м'яса курчат-бройлерів.

Методи дослідження. Клінічні (аналіз передзабійного клінічного стану), аналітичні (рідинна хроматографія та метод імуноферментного аналізу для визначення залишкової кількості тилозину і доксицикліну), хімічні (рН, реакція на пероксидазу, реакція з міді сульфатом, реакція на аміак і солі амонію), мікроскопічні (бактеріоскопія мазків-відбитків), мікробіологічні (визначення МАФАНМ, БГКП, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, бактерій родів *Proteus*, *Salmonella*), гістологічні (мікроскопічні дослідження нирок, серця та печінки), визначення токсичності м'яса (тест-організм інфузорії *Tetrachimena piriformis*), визначення біологічної цінності м'яса курчат-бройлерів (визначення вмісту замісних та незамінних амінокислот), а також статистичні (обробка цифрових показників результатів дослідження та оцінка їх достовірності за критерієм Стьюдентом).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше в Україні проведено та науково обґрунтовано валідацію на тест-системі MaxSignal® Тилозин (Cat. No.: 1026), США із кількісного визначення тилозину в пробах м'язів свійської птиці (курей і гусей) та яєць методом імуноферментного аналізу. Отримано загальноприйнятні валідаційні характеристики: межу детектування (LOD), здатність виявлення (ССβ), рівень відсічення та відсоток повернення. На базі валідаційних даних встановлено, що чутливість методу імуноферментного аналізу вища на тест-системі MaxSignal® Тилозин – 10 мкг/кг, ніж методу рідинної хроматографії – 20 мкг/кг з визначення залишкової кількості тилозину.

Встановлено, що застосування фармазину і тилоциклінвету курчатам-бройлерам з профілактичною метою позитивно впливає на приріст живої маси, середньодобовий приріст птиці та забійний вихід тушок, сприяє достовірному збільшенню показників маси їстівних внутрішніх органів. Проте у разі зберігання тушок птиці в охолодженому стані (4–5 °С) впродовж чотирьох діб швидшому псуванню піддаються тушки курчат-бройлерів, що отримували тилоциклінвет.

Вперше за показниками МАФАНМ та визначенням токсичності м'яса курчат-бройлерів підтверджено вищу кумулятивну здатність фармазину в «білих», а тилоциклінвету – в «червоних» м'язах. При цьому м'ясо птиці є слаботоксичним, що не дозволяє його використовувати для харчових потреб.

Виявлено амінокислоту, що лімітує біологічну цінність білка – метіонін. Разом із тим, співвідношення незамінних до замісних амінокислот у разі застосування фармазину знижується, а тилоциклінвету – підвищується.

Вперше встановлено, що для об'єктивного виявлення залишкової кількості тилозину в продуктах забою курчат-бройлерів необхідно відбирати найширші м'язи спини, середній стегно-великогомілковий м'яз, каудальний клубово-вертлужний м'яз, а для виявлення доксицикліну – м'язову частину шлунка.

Практичне значення одержаних результатів. Практична цінність роботи полягає в удосконаленні методу імуноферментного аналізу шляхом проведення валідації з кількісного визначення тилозину в м'язах і яйцях птиці за допомогою тест-системи для конкурентного імуноферментного аналізу MaxSignal® Тилозин (Cat. No.: 1026), що дозволяє якісно проводити дослідження з визначення

залишкових кількостей тилозину та дає можливість включити до виконання Плану державного моніторингу більшу кількість акредитованих науково-дослідних лабораторій. Порівняно з іншими методами, ELISA не потребує використання дорогого устаткування та його обслуговування. Під час виконання процедури валідації з визначення залишкової кількості тилозину метод імуноферментного аналізу економічно ефективніший, порівняно з методом рідинної хроматографії на 28 %.

За результатами дослідження підготовлено та затверджено Науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол № 4 від 21 грудня 2011 року) «Методичні рекомендації з кількісного визначення тилозину в зразках м'яса, печінки, нирок, яєць, молока, меду, комбікормів та сечі за допомогою тест-системи для конкурентного імуноферментного аналізу MaxSignal® Тилозин (Art. No.: 1026)».

Результати наукової роботи впроваджено у Державному науково-дослідному інституті з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, державних лабораторіях ветеринарної медицини, а також включено до робочих програм навчальних дисциплін «Ветеринарно-санітарна експертиза з основами технології і стандартизації продуктів тваринництва», «Клінічна фармакологія», «Ветеринарна токсикологія» в Національному університеті біоресурсів і природокористування України, Білоцерківському національному аграрному університеті, Сумському національному аграрному університеті, Харківській державній зооветеринарній академії та Подільському державному аграрно-технічному університеті.

Особистий внесок здобувача. Здобувач самостійно виконала, проаналізувала та узагальнила увесь обсяг експериментальних досліджень, включно з формулюванням мети, основних етапів досліджень, пошуком та аналізом літератури, організацією дослідів і проведенням усіх видів досліджень. За участю наукового керівника інтерпретовано одержані результати, що лаконічно викладено у висновках.

Апробація результатів дисертації. Основні результати досліджень доповідалися та обговорювалися на міжнародних науково-практичних конференціях: «Актуальні проблеми інфекційної патології тварин» (м. Біла Церква, 2012 р.); «Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва» (м. Київ, 2013 р.); «Біоресурси планети та біобезпека навколишнього середовища: проблеми та перспективи» (м. Київ, 2013 р.); «Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва», присвяченої 20-річчю набуття університетом статусу Національного (м. Київ, 2014 р.); «Молодь в науці XXI століття» (м. Київ, 2014 р.); «Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва» присвяченої 95-річчю факультету ветеринарної медицини (м. Київ, 2015 р.); «Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті. Сучасні проблеми ветеринарної медицини» (м. Біла Церква, 2015 р.); «Заразные болезни животных: современные методы диагностики, лечения и профилактики» (м. Житомир, 2015 р.).

Публікації. Результати дослідження опубліковано у 15 наукових працях, з

яких 3 статті у фахових виданнях України; 3 статті у фахових виданнях України, включених до міжнародної наукометричної бази даних, стаття в іншому науковому виданні, 7 тез наукових доповідей, науково-методичні рекомендації.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 164 сторінках комп'ютерного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел літератури, що нараховує 182 найменування, у тому числі 38 латиницею, а також містить 27 таблиць, 21 рисунок і додатки.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертаційна робота виконувалася впродовж 2011–2015 років на кафедрі ветеринарно-санітарної експертизи факультету ветеринарної медицини НУБіП України. Окремі дослідження проведено в умовах приватного підприємства ТОВ «Подільський бройлер» Дунаєвецького району Хмельницької області та акредитованих лабораторіях Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (м. Київ): у науково-дослідному відділі ветеринарно-санітарної експертизи, науково-дослідному бактеріологічному відділі, науково-дослідному хіміко-токсикологічному відділі, у лабораторії рідинної хроматографії, лабораторії ELISA-тест та визначення мікотоксинів; Технологічному інституті молока і м'яса НААН (ТІММ) (м. Київ) – у лабораторії аналітичних досліджень та якості харчової продукції ІПР НААН; у науковій лабораторії кафедри патологічної анатомії факультету ветеринарної медицини НУБіП України.

Дисертаційна робота виконувалась у три етапи.

На **першому етапі** досліджень удосконалено моніторинговий метод досліджень шляхом проведення валідації з кількісного визначення тилозину в продукції тваринного походження за допомогою тест-системи для конкурентного імуоферментного аналізу MaxSignal® Тилозин (Cat. No.: 1026), виробництва фірми Bioo Scientific Corporation, США.

На **другому етапі** проведено моніторинг щодо визначення залишкових кількостей тилозину і доксицикліну у м'язах та яйцях птиці за 2009–2015 рр. згідно Плану державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та інших забруднювачів у живих тваринах та необроблених харчових продуктах тваринного походження. Крім того, проведено експериментальні дослідження випадкових проб м'язів птиці (грудний м'яз, середній стегно-великогомілковий м'яз і найширші м'язи спини) та печінки трьох найбільш відомих торгових марок з виробництва м'яса курчат-бройлерів в Україні на залишки тилозину і доксицикліну методом рідинної хроматографії (LC-MS/MS).

На **третьому етапі** дослідження вивчено накопичення фармазину і тилоциклінвету у продуктах забою курчат-бройлерів кросу Cobb 500, що обумовлює присутність їх залишків у продукції птахівництва, нерівномірне накопичення у м'язовій тканині, внутрішніх органах та необхідність контролю за їх вмістом.

Для проведення досліду було сформовано чотири групи курчат-бройлерів добового віку: дві контрольні та дві дослідні (по 12 курчат-бройлерів у кожній). Курчатам першої дослідної групи випоювали препарат фармазин, що містить діючої речовини (ДР) тилозину тартрат 500 мг в 1 г, а другій – тилоциклінвет, що містить ДР тилозину тартрат та доксицикліну гіклат по 100 мг в 1 г порошку. Дослід проводився на курчатах впродовж 51 доби. Препарати антибіотиків випоювали курчатам-бройлерам з профілактичною метою у дозі 1 г на 1 дм³ води перші 3 доби життя, на 28–29 і 38–42 добу досліду. По закінченню випоювання антибіотиків забій кожної групи по 6 курчат-бройлерів проводили на початку періоду елімінації (через 3 год) та в кінці періоду каренції (через 5–8 діб), відповідно, після останньої дачі фармазину і тилоциклінвету.

Щоденно в усіх групах визначали клінічний стан курчат-бройлерів, активність прийому корму та води. Препарати фармазину і тилоциклінвету застосовували перорально з водою. Курчата-бройлери контрольних груп отримували основний раціон.

Живу масу птиці визначали шляхом зважування на вагах фірми «Ohaus» на 1, 7, 14, 28, 38, 42 добу проведення досліду загальноприйнятим методом. Середньодобовий приріст, забійний вихід, масу напівпатраних та патраних тушок, масу їстівних внутрішніх органів визначали згідно методики Т. М. Поліванової, 1988. Передзабійний огляд птиці та післязабійну ветеринарно-санітарну експертизу продуктів забою проводили згідно вимог «Правил ветеринарного огляду забійних тварин і ветеринарно-санітарної експертизи м'яса і м'ясних продуктів» (2002). Забій птиці проводили за встановленими технологічними інструкціями.

Органолептичні дослідження м'яса курчат-бройлерів та бульйону з нього визначали згідно ГОСТ 7702.0-74. Хімічні та мікроскопічні характеристики, тривалість збереження свіжості м'яса визначали на 2, 3, 4 добу зберігання за органолептичними показниками та реакціями на пероксидазу, на аміак і солі амонію, з 5 % розчином міді сульфатом згідно ГОСТ 7702.1-74, ГОСТ 23392-78. Показник рН витяжки м'язів (1:10) визначали за допомогою іонометра марки Hanna instruments рН 211 відповідно до ДСТУ ISO 2917-2001.

Визначення кількості мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ) і бактерій групи кишкових паличок (БГКП) у м'ясі курчат-бройлерів контрольних та дослідних груп проводили згідно ДСТУ ISO 4833:2006. Бактерії роду *Proteus* визначали згідно ДСТУ 7444:2013, а роду *Salmonella* і *Listeria monocytogenes* – ДСТУ ISO 6579:2006, ДСТУ ISO 11290-1:2003. Виявлення *Staphylococcus aureus* у м'ясі птиці проводили згідно ГОСТ 10444.2-94.

У «білих» та «червоних» м'язах курчат-бройлерів контрольних і дослідних груп визначали вміст амінокислот на приладі «Аналізатор амінокислот LC 3000 Biotronic» (Німеччина), згідно ISO 13903:2005. Загальний вміст білка визначали за ГОСТ 25011-81. Для оцінки біологічної цінності м'яса визначали індекс А/Е та амінокислотний СКОР. Біологічну цінність м'яса оцінювали за білково-якісним показником – відношення триптофану до оксипроліну. Вміст триптофану визначали згідно ДСТУ ISO 5508-2001, оксипроліну – за ГОСТ Р 50207-92.

Токсичність м'яса курчат-бройлерів дослідних груп визначали за допомогою тест-організму інфузорії *Tetrachimena piriformis* згідно «Методических указаний по

токсико-биологической оценке мяса, мясных продуктов и молока с использованием инфузорий Тетрахимена пириформис (экспресс метод)», 1997.

Для гістологічного дослідження було відібрано від тушок курчат-бройлерів дослідних та контрольних груп проби печінки, нирок та серця. Проби фіксували у 70 % водному розчині етанолу, зневоднили в абсолютному етанолі і 96 %, залили в парафін. Виготовили необхідну кількість гістозрізів, товщиною 10 мкм, зафарбованих гематоксилином Караці та еозином. Виготовлені препарати досліджували під світловим мікроскопом «МСХі 100 LED» виробництва фірми Micros (Австрія).

Вміст залишкової кількості тилозину і доксицикліну в м'язовій тканині та у внутрішніх органах птиці визначали методом рідинної хроматографії на рідинному хроматографі з тандемним квадрупольним мас-спектрометричним детектором «Waters» TQD ACQUITY (США) згідно методичних рекомендацій «Визначення антибіотиків у продукції тваринного походження за допомогою рідинного хроматомас-спектрометра» (Новожицька Ю. М. та ін., 2014 р).

Достовірність різниці між середніми арифметичними двох варіаційних рядів визначали за критерієм достовірності і за таблицями Стюдента. Отримані результати досліджень було оброблено з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Валідація методики з кількісного визначення тилозину в м'язах птиці за допомогою тест-системи для конкурентного імуноферментного аналізу MaxSignal® Тилозин. Проведено валідацію згідно стандарту ISO 17025 на тест-системі MaxSignal® Тилозин (Cat. No.: 1026) виробництва фірми Bioo Scientific Corporation, США для кількісного визначення тилозину в пробах м'язів (курей та гусей) і яєць методом імуноферментного аналізу.

В результаті було визначено наступні робочі характеристики: межа детектування, ССβ, рівень відсічення та відсоток повернення. На підставі проведених досліджень в пробах м'язів птиці було отримано наступні валідаційні розрахунки: межа детектування (LOD) становить 11,25 мкг/кг; ССβ цього скринінг-тесту менша або дорівнює 10 мкг/кг, β-помилка становить <5 %; відсоток повернення – 125,7 %, рівень відсічення даного тесту становить 11,84 мкг/кг.

Під час проведення валідації з кількісного визначення тилозину в пробах яєць було отримано наступні валідаційні дані: LOD – 2,8 мкг/кг, ССβ менша або дорівнює 3 мкг/кг, β-помилка при цьому становить <5 %, рівень відсічення цього тесту становить 2,99 мкг/кг, відсоток повернення – 112 %. Встановлено, що будь-який зразок, який дає відповідь більшу за виявлений рівень відсічення, є «скрин-позитивним».

Отже, отримано загальноприйнятні валідаційні характеристики, що дозволяють працювати з даною тест-системою в умовах будь-якої акредитованої лабораторії. Це дозволяє переглянути План державного моніторингу та залучити до його виконання більшу кількість лабораторій з метою рівномірного розподілу навантаження між областями. Крім того, метод рідинної хроматографії є точним, але складним і повинен виконуватись висококваліфікованими спеціалістами та передбачати

використання дорогого обладнання, яке потребує створення особливих умов, окремого приміщення та регулярного технічного обслуговування. Нині лише декілька лабораторій в Україні мають потрібне обладнання, в той час, коли метод ІФА не потребує використання дорогого устаткування та його обслуговування, а комплектами та обладнанням для проведення імуноферментного аналізу забезпечені більшість лабораторій України.

Моніторинг залишкових кількостей тилозину і доксицикліну в м'язах курей, вирощених на великих промислових комплексах України. Проведено моніторинг щодо визначення залишкових кількостей тилозину і доксицикліну в продукції птахівництва згідно Плану державного моніторингу за 2009–2015 рр. Аналізуючи результати досліджень не встановлено жодного позитивного результату, що відповідає вимогам Регламенту Ради (ЕС) № 2377/90. Можна припустити, що мінімальні концентрації залишків антибіотиків було виявлено, але вони не перевищували максимально допустимий рівень (МДР), встановлений для тилозину і доксицикліну в нашій країні. Проте у разі надходження з продукцією тваринного походження до організму споживачів залишки антибіотиків можуть спричинити шкідливу дію.

У зв'язку з цим, проведено дослідження випадкових проб щодо виявлення залишкової кількості тилозину і доксицикліну у грудному м'язі, середньому стегно-великогомілковому м'язі, найширших м'язах спини та печінці курчат-бройлерів, відібраних від продуктів забою курчат-бройлерів трьох відомих торгових марок, що надходять в торгівельну мережу (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст залишків тилозину і доксицикліну у випадкових пробах м'язів курчат-бройлерів, мкг/кг, $M \pm m$; n=5

Номер торгової марки	Назва проби	Вміст антибіотиків	
		тилозину	доксицикліну
№ 1	Грудний м'яз	8,88±0,78	–
	Найширші м'язи спини	14,53±0,75	–
	Середній стегно-великогомілковий м'яз	17,05±0,78	–
	Печінка	19,04±0,98	–
№ 2	Грудний м'яз	5,85±1,30	–
	Найширші м'язи спини	11,21±1,21	–
	Середній стегно-великогомілковий м'яз	13,05±2,49	11,89±2,19
	Печінка	16,43±2,71	–
№ 3	Грудний м'яз	3,25±1,52	–
	Найширші м'язи спини	9,27±1,84	–
	Середній стегно-великогомілковий м'яз	19,65±1,84	–
	Печінка	8,84±1,68	–

Дані, наведені в таблиці 1, свідчать про те, що в продуктах забою курчат-бройлерів окремих торгових марок перевищення МВДР (25 мкг/кг), а з 2015 р. в зв'язку з проведенням гармонізації методик згідно європейських вимог МДР (100 мкг/кг) не виявлено, але найбільший вміст залишків тилозину виявлено в середньому стегно-великогомілковому м'язі. На нашу думку, це пов'язано з анатомічною будовою курчат-бройлерів, функціональним навантаженням саме на ці групи м'язів і малою руховою активністю птиці. У курчат-бройлерів торгової марки № 1 і № 2 найбільший вміст тилозину концентрувався в печінці, оскільки вона бере участь у виведенні антибіотиків з організму, а вміст доксицикліну – лише в середньому стегно-великогомілковому м'язі птиці торгової марки № 2, що не перевищує МДР (100 мкг/кг).

Вплив фармазину і тилоциклінвету на продуктивність курчат-бройлерів. Результати досліджень показали, що застосування антибактеріальних препаратів фармазину і тилоциклінвету позитивно впливає на приріст живої маси, що узгоджується з середньодобовими приростами курчат-бройлерів. Протягом періоду дослідження спостерігали достовірне збільшення приростів живої маси курчат-бройлерів дослідних груп, порівняно з показниками контрольних груп ($p \leq 0,05$, $p \leq 0,001$) (рис.1).

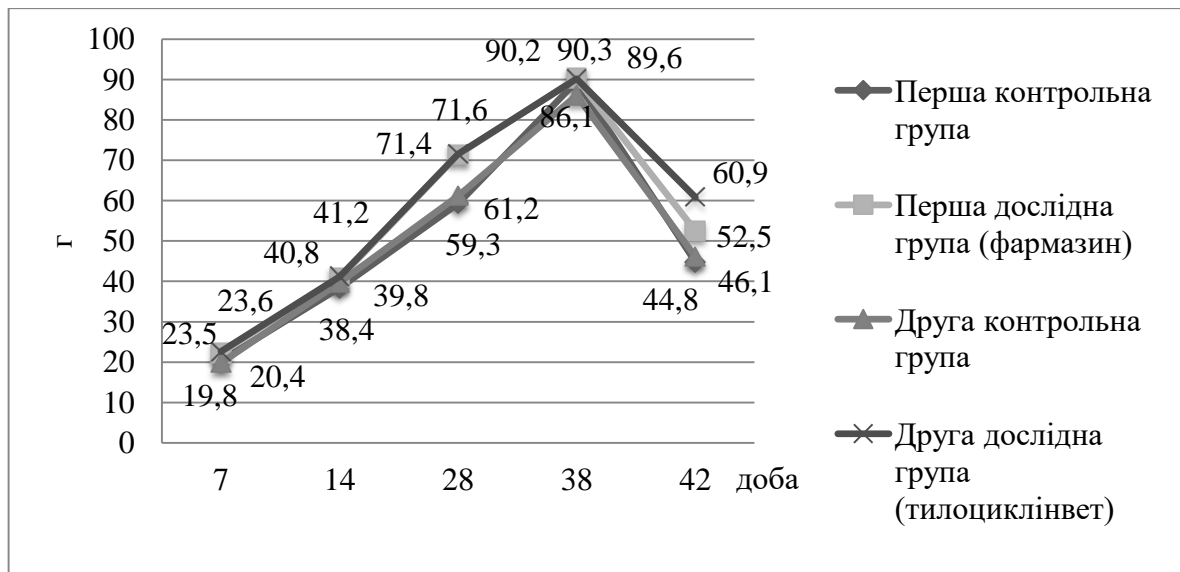


Рис. 1. Динаміка середньодобового приросту живої маси курчат-бройлерів у разі застосування препаратів фармазину і тилоциклінвету, г/добу

Проте слід зауважити, що безконтрольне застосування антибіотиків у великих дозах, недотримання правил застосування та періоду каренції призводить до накопичення їх у продукції птахівництва і може створювати небезпеку для людей. Тому було проведено ветеринарно-санітарну експертизу продуктів забою курчат-бройлерів.

Аналіз передзабійного клінічного стану птиці та післязабійного огляду продуктів забою курчат-бройлерів. Курчата-бройлери дослідних та контрольних груп активно рухались, адекватно реагували на зовнішні подразники, активно приймали корм та воду, положення тіла та голови було природне як у стані спокою, так і в русі, пір'яний покрив чистий, сухий, прилягав до тіла, видимі слизові

оболонки блідо-рожевого кольору, витікання з очей відсутні, дзьоб сухий, гребені також блідо-рожеві, поверхні кінцівок сухі, без ушкоджень та припухлостей, дихання без хрипів, температура тіла коливалась у межах 41–42 °С.

У результаті проведеного ветеринарно-санітарного огляду продуктів забою курчат-бройлерів, яким застосовували фармазин і тилоциклінвет, будь-яких видимих змін не виявлено. Поверхня тушок курчат-бройлерів контрольних і дослідних груп була сухою, білувато-жовтого кольору з рожевим відтінком. Зовнішній вигляд і колір дзьоба глясовий; слизова оболонка ротової порожнини – блискуча, блідо-рожевого кольору, незначно зволожена; очне яблуко – випукле, рогівка – блискуча. Підшкірний жир блідо-жовтого кольору локалізувався в ділянці нижньої частини живота та у вигляді переривчастої смужки – на спині (ділянка попереково-крижового відділу). Гребінь грудини слабко виражений, а грудина мала округлу форму; серозна оболонка грудочеревної порожнини – волога та блискуча. М'язи на розрізі злегка вологі блідо-рожевого кольору, щільні, пружні, під час натискання пальцем ямка, що утворилася, швидко вирівнювалася. Запах тушок специфічний, властивий свіжому м'ясу курчат-бройлерів; бульйон прозорий, ароматний.

Для більш детального вивчення впливу фармазину і тилоциклінвету на організм курчат-бройлерів та проведення оцінки поживної цінності м'яса було проаналізовано забійний вихід тушок. Забійний вихід тушок курчат-бройлерів дослідної групи, яка отримувала фармазин на початку періоду каренції, був на 6,8 % вищий, ніж у першій контрольній групі, а забійний вихід тушок птиці дослідної групи, якій задавали тилоциклінвет, перевищував другу контрольну групу за цим показником на 2,1 %. Після закінчення періоду каренції забійний вихід тушок курчат-бройлерів першої дослідної групи був на 1,4 % вищий, ніж вихід тушок першої контрольної групи, а різниця в забійному виході птиці другої дослідної групи складала 2,2 %, порівняно з контролем.

Для встановлення ознак функціонального навантаження на внутрішні органи курчат-бройлерів проведено визначення співвідношення маси їстівних органів до забійного виходу птиці (табл. 2, 3).

Аналіз результатів досліджень свідчить про достовірне збільшення маси їстівних внутрішніх органів курчат-бройлерів дослідної групи, що отримувала фармазин, порівняно з першою контрольною групою ($p \leq 0,05$) у кінці періоду каренції. У дослідній групі, що отримувала тилоциклінвет, встановлено достовірне збільшення маси печінки та маси м'язової частини шлунка, порівняно з другою контрольною групою ($p \leq 0,05$), після закінчення періоду каренції.

Маса печінки курчат-бройлерів дослідної групи, що отримувала фармазин, на початку періоду каренції на 20,4 % перевищувала масу печінки курчат першої контрольної групи, а маса печінки курчат-бройлерів дослідної групи, якій застосовували тилоциклінвет, на 15,8 % перевищувала показник другої контрольної групи. Після закінчення періоду елімінації маса печінки курчат першої дослідної групи була на 16,3 % вища від маси печінки птиці першої контрольної групи, а маса печінки курчат-бройлерів другої дослідної групи – на 16,4 %, порівняно з показником другої контрольної групи.

**Маса їстівних внутрішніх органів тушок курчат-бройлерів
у разі застосування фармазину, г, $M \pm m$; n=6**

Показник	Період каренції	Перша дослідна група (фармазин)	Перша контрольна група
Печінка	3 год	47,2±1,6	39,2±1,1
	6 доба	49,8±1,8*	42,8±1,7
Маса печінки відносно забійного виходу, %	3 год	2,3	2,2
	6 доба	2,3	2,2
Серце	3 год	9,4±1,2	6,6±1,0
	6 доба	10,0±0,6*	7,4±0,5
Маса серця відносно забійного виходу, %	3 год	0,4	0,4
	6 доба	0,5	0,4
М'язова частина шлунка	3 год	29,8±1,2	24,8±1,5
	6 доба	32,1±1,9*	26,0±1,1
Маса м'язової частини шлунка відносно забійного виходу, %	3 год	1,4	1,4
	6 доба	1,5	1,3

Примітка. * $p \leq 0,05$, порівняно з контролем

Маса печінки курчат-бройлерів першої дослідної групи, відносно забійного виходу, на 4,5 % перевищувала масу печінки птиці першої контрольної групи на початку та у кінці періоду каренції. Маса печінки птиці другої дослідної та другої контрольної груп відносно забійного виходу становила 2,05 % на початку періоду елімінації. Після закінчення періоду каренції маса печінки курчат-бройлерів другої дослідної групи відносно забійного виходу перевищувала масу печінки птиці другої контрольної групи на 1,4 %.

На початку періоду каренції маса серця курчат-бройлерів першої дослідної групи перевищувала масу серця птиці першої контрольної групи на 42,4 %, а маса серця птиці другої дослідної групи – на 30,5 % вища за показник курчат другої контрольної групи. Після закінчення періоду каренції маса серця курчат-бройлерів першої дослідної групи перевищувала показник птиці першої контрольної групи на 35,1 %, а маса серця птиці другої дослідної групи вища на 25,0 % від показника птиці другої контрольної групи.

Маса серця курчат-бройлерів першої дослідної і першої контрольної груп відносно забійного виходу становила 0,4 % на початку періоду каренції. Маса серця птиці другої дослідної та другої контрольної груп становила 0,5 % по закінченню періоду елімінації, тоді як маса серця птиці першої дослідної групи після закінчення періоду каренції та маса серця курчат другої дослідної групи на початку періоду елімінації відносно забійного виходу перевищували показники першої та другої контрольних груп на 25,0 %.

Маса м'язової частини шлунка курчат-бройлерів першої дослідної групи на початку періоду каренції перевищувала масу шлунка птиці першої контрольної групи на 20,2 %, а другої дослідної групи – на 20,4 %. Після закінчення періоду елімінації маса м'язової частини шлунка птиці першої дослідної групи вища за

показник курчат першої контрольної групи на 23,4 %, а другої дослідної групи – на 17,9 %.

Таблиця 3

**Маса їстівних внутрішніх органів тушок курчат-бройлерів
у разі застосування тилоциклінвету, г, $M \pm m$; n=6**

Показник	Період каренції	Друга дослідна група (тилоциклінвет)	Друга контрольна група
Печінка	3 год	42,6±1,1	36,8±2,6
	9 доба	45,4±1,5*	39,0±1,6
Маса печінки відносно забійного виходу, %	3 год	2,05	2,05
	9 доба	2,09	2,06
Серце	3 год	10,7±1,2	8,2±1,2
	9 доба	11,5±0,7	9,2±0,9
Маса серця відносно забійного виходу, %	3 год	0,5	0,4
	9 доба	0,5	0,5
М'язова частина шлунка	3 год	31,8±1,1	26,4±1,6
	9 доба	33,5±1,4*	28,4±1,1
Маса м'язової частини шлунка відносно забійного виходу, %	3 год	1,5	1,5
	9 доба	1,5	1,5

Примітка. * $p \leq 0,05$, порівняно з контролем

Маса м'язової частини шлунка відносно забійного виходу птиці першої дослідної і першої контрольної груп становила 1,4 % на початку періоду каренції. У кінці періоду елімінації маса м'язової частини шлунка курчат першої дослідної групи перевищувала показник птиці першої контрольної групи на 15,4 %. На початку та після закінчення періоду каренції маса м'язової частини шлунка відносно забійного виходу другої дослідної і другої контрольної груп становила 1,5 %.

На нашу думку, збільшення абсолютної маси печінки курчат-бройлерів пов'язане з тим, що метаболізм препаратів тилозину відбувається, в основному, в печінці. Найбільш високий рівень концентрації антибіотиків досягається саме в печінці, оскільки вона бере участь у виведенні антибактеріальних речовин. Збільшення маси м'язової частини шлунка пов'язане з тим, що у разі перорального введення антибіотики стимулюють апетит птиці, при цьому курчата споживають більше корму, що частково затримується в шлунку.

Хімічні та мікроскопічні показники продуктів забою курчат-бройлерів у разі застосування фармазину і тилоциклінвету. Показник рН м'яса в дослідних і контрольних групах коливався від 5,64±0,04 до 6,30±0,03 ($p \leq 0,05$). Реакціями на свіжість м'яса з міді сульфатом, на пероксидазу, на аміак і солі амонію встановлено, що м'ясо курчат-бройлерів дослідних та контрольних груп добре зберігається в охолодженому стані впродовж трьох діб та відноситься до свіжого. Проте на 4 добу зберігання величина рН м'яса курчат дослідних груп підвищується в лужний бік і за реакцією з міді сульфатом та аміаком і солями амонію м'ясо птиці другої дослідної групи у кінці періоду каренції відноситься до сумнівної свіжості. Встановлено, що у курчат-бройлерів дослідних груп після закінчення періоду каренції показник рН

зміщується у лужний бік відносно показників на початку періоду каренції. Крім того, виявлено, що у курчат-бройлерів дослідних груп величина рН м'яса зміщується у лужний бік, порівняно з показниками контрольних груп.

Під час проведення мікроскопії мазків-відбитків глибоких шарів м'язів птиці було виявлено поодинокі мікроорганізми кокової форми. На четверту добу зберігання у м'ясі курчат-бройлерів першої дослідної групи, першої та другої контрольних груп було виявлено не більше 10 поодиноких мікроорганізмів кокової форми, а після закінчення періоду каренції в м'ясі курчат другої дослідної групи виявлено 12 і більше мікроорганізмів в полі зору. У м'язовій тканині курчат-бройлерів дослідних та контрольних груп ознак розпаду не виявлено.

Мікробіологічні показники м'язів курчат-бройлерів у разі застосування фармазину і тилоциклінвету. Дослідження мікробіологічних показників показали, що застосування антибактеріальних препаратів фармазину і тилоциклінвету курчатам-бройлерам не вплинуло на рівень та видовий склад мікрофлори в досліджуваних зразках м'яса птиці, оскільки мікробіологічні показники у дослідних групах відповідали вимогам чинних нормативно-правових актів. У «білих» м'язах курчат-бройлерів першої дослідної групи показник МАФАНМ на початку періоду каренції був на 23 % вищий, порівняно з першою контрольною групою, а у кінці періоду напіввиведення виявлено перевищення на 33 %. У «червоних» м'язах курчат-бройлерів другої дослідної групи МАФАНМ на початку періоду каренції був вищим на 55 % ($p \leq 0,05$), порівняно з другою контрольною групою, а в кінці періоду елімінації – на 81 % ($p \leq 0,05$). Це пояснюється вищою кумуляцією фармазину у «білих» м'язах, а тилоциклінвету – у «червоних».

Вміст замічних і незамінних амінокислот у м'язах курчат-бройлерів у разі застосування фармазину і тилоциклінвету. Вміст незамінних і замічних амінокислот, амінокислотний індекс та амінокислотний СКОР у м'язах курчат-бройлерів дослідних груп на початку періоду каренції перевищують показники, отримані у кінці періоду елімінації (на 6–9 добу).

Співвідношення незамінних до замічних амінокислот у разі застосування фармазину у «білих» м'язах курчат-бройлерів на початку та у кінці періоду каренції знижується, відповідно, на 15,3 і 15,0 %, у «червоних» м'язах на початку періоду каренції знижується на 8,2 %, а у кінці періоду елімінації – на 4,3 %, порівняно з показниками курчат першої контрольної групи. У разі застосування тилоциклінвету співвідношення незамінних до замічних амінокислот, навпаки, збільшується у «білих» м'язах курчат-бройлерів на початку періоду каренції на 24,1 %, а після закінчення періоду елімінації – на 26,4 %; у «червоних» м'язах на початку та в кінці періоду каренції – на 6 %, порівняно з показниками курчат другої контрольної групи.

Розрахунок амінокислотного індексу А/Е дозволив встановити, що у м'язах курчат-бройлерів дослідних груп досить занижений індекс сірковмісних амінокислот (метіонін + цистин) і виявлено підвищення індексу ароматичних (фенілаланін + тирозин) амінокислот. Індекс валіну знижується, індекс ізолейцину і лейцину – підвищується. Відзначається підвищення індексу треоніну і лізину.

Амінокислотний СКОР білків у «білих» м'язах курчат-бройлерів дослідної групи, що отримували фармазин на початку періоду каренції знижується для валіну на 6 %, а на 6 добу після останньої дачі антибіотика – на 10 %. Амінокислотний СКОР білків у «білих» м'язах курчат-бройлерів, що отримували тилоциклінвет, знижується для валіну на початку періоду елімінації на 15 %, а на 9 добу після останньої дачі антибіотика – на 22 %. На підставі проведених досліджень встановлено: амінокислота, що лімітує біологічну цінність білка – метіонін. Відношення вмісту триптофану до оксипроліну у м'язах курчат-бройлерів дослідних груп збільшується відносно показника у птиці контрольних груп, що свідчить про зменшення кількості сполучної тканини і збільшення біологічної цінності м'яса птиці.

Токсичність «білих» і «червоних» м'язів курчат-бройлерів у разі застосування фармазину і тилоциклінвету. На підставі проведених досліджень встановлено, що м'ясо курчат-бройлерів, яким застосовували фармазин і тилоциклінвет, порівняно з м'ясом птиці контрольних груп, є слаботоксичним. У курчат-бройлерів дослідної групи, що отримувала фармазин, в пробах «білих» м'язів загибель інфузорій *Tetrachytena pyriformis* становила близько 20 %, виявлено загальмування рухів у 72 % особин, активних та рухливих – 6 %, патологічні зміни форми – до 2 %, пригнічення росту не виявлено. У пробах «червоних» м'язів птиці дослідної групи, що отримувала тилоциклінвет, загибель інфузорій становила близько 14 %, виявлено клітин з неприродними рухами – 70 %, активних та рухливих – 16 %, патологічні зміни форми та пригнічення росту не виявлено. Це ще раз підтверджує вищу кумуляцію фармазину в «білих» м'язах, а тилоциклінвету – в «червоних».

Мікроскопічні зміни у внутрішніх органах курчат-бройлерів за умов надходження фармазину і тилоциклінвету. На підставі гістологічних досліджень встановлено, що патологічні зміни, які виявляли у внутрішніх органах курчат-бройлерів у разі застосування фармазину і тилоциклінвету, були подібними між собою і свідчили про наявність таких процесів: у печінці виявлено зернисту й жирову дистрофію гепатоцитів, інтерстиційний лімфоїдоцитарний гепатит, фіброз (можливо – острівцевий цироз) (рис. 2).

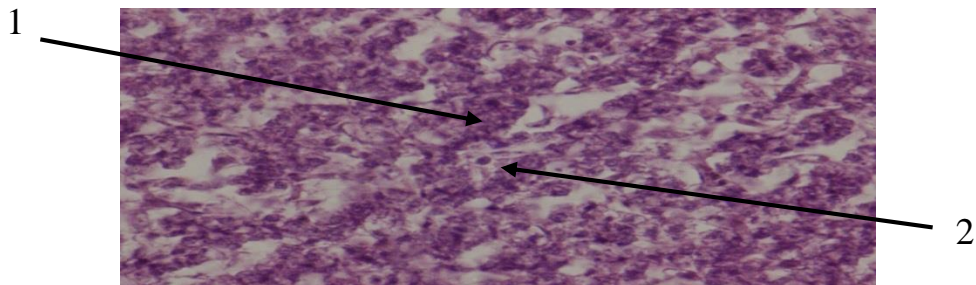


Рис. 2. Печінка курчат-бройлерів другої дослідної групи на початку періоду каренції. Фарбування гематоксиліном Караці та еозином. $\times 400$: 1 – гепатоцити в стані зернистої дистрофії; 2 – жирової дистрофії.

Під час досліджень нирок курчат-бройлерів виявлено зернисту дистрофію епітелію каналців, дифузний інтерстиційний лімфоїдоцитарний нефрит, фіброз (рис. 3).

В міокарді курчат-бройлерів виявлено набряк міжм'язової сполучної тканини, міокардіосклероз (рис. 4).

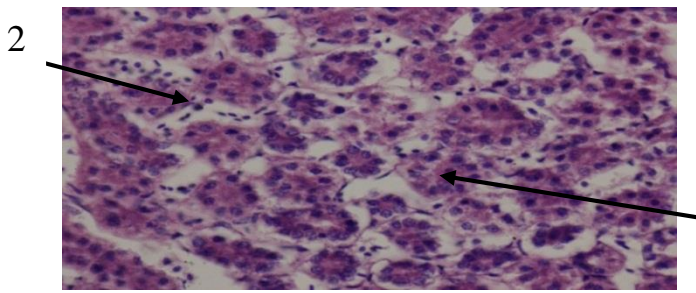


Рис. 3. Нирки курчат-бройлерів першої дослідної групи по закінченню періоду каренції. Фарбування гематоксиліном Караці та еозином. $\times 400$: 1 – епітеліоцити ниркових каналців в стані зернистої дистрофії; 2 – лімфоцитарна інфільтрація інтерстиційної тканини.

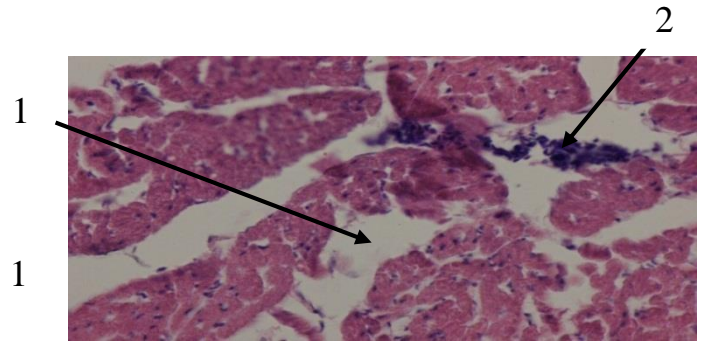


Рис. 4. Міокард курчат-бройлерів другої дослідної групи на початку періоду каренції. Фарбування гематоксиліном Караці та еозином. $\times 400$: 1 – набряк; 2 – лімфоцитарна інфільтрація міжм'язової сполучної тканини.

Найбільш виражені ці зміни були у курчат-бройлерів дослідної групи, що отримувала фармазин, дещо менше – у курчат дослідної групи, що отримувала тилоциклінвет, на початку періоду каренції.

Визначення залишкової кількості тилозину і доксицикліну в м'язах та внутрішніх органах курчат-бройлерів у разі застосування фармазину і тилоциклінвету. У разі застосування фармазину і тилоциклінвету курчатам-бройлерам найвищий вміст тилозину після закінчення періоду каренції виявлено в найширших м'язах спини, середньому стегно-великогомілковому м'язі та каудальному клубово-вертлужному м'язі, що перевищує максимально відносний допустимий рівень (План державного моніторингу, 2014 р.). Найвищий вміст доксицикліну, що перевищує максимально допустимий рівень по закінченню періоду каренції, виявлено в м'язовій частині шлунку курчат-бройлерів. В цьому випадку необхідно звернути увагу на допустимі рівні, що чинні в кожній країні окремо. На нашу думку, слід переглянути вимоги щодо відбору проб для контролю Планом державного моніторингу, оскільки, якщо найвищий вміст тилозину виявляють в найширших м'язах спини, середньому стегно-великогомілковому м'язі та каудальному клубово-вертлужному м'язі, то необхідно чітко вказувати, які частини тушки підлягають дослідженню.

Результати дослідження залишкової кількості доксицикліну на початку періоду каренції підтвердили гістологічні дослідження. По закінченню вполювання курчатам-бройлерам тилоциклінвету через 3 год у м'язах і внутрішніх органах доксицикліну не було виявлено. Спираючись на дані гістологічних досліджень встановлено, що у курчат дослідної групи, яка отримувала тилоциклінвет, на початку періоду каренції патологічні зміни були найменш виражені.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі щодо ветеринарно-санітарної експертизи продуктів забою курчат-бройлерів за умов застосування фармазину і тилоциклінвету. Встановлено позитивний вплив антибактеріальних засобів на приріст живої маси курчат-бройлерів. Проте м'ясо, отримане від таких курчат, швидше псується. Крім того, вперше виявлено, що фармазин більшою мірою кумулюється в «білих» м'язах, а тилоциклінвет – у «червоних». Біологічна цінність м'яса у разі застосування фармазину погіршується, а тилоциклінвету – поліпшується, але м'ясо птиці в обох випадках є слаботоксичним і не дозволяє використовувати його з харчовою метою.

1. Проведено апробацію та валідацію методики з кількісного визначення тилозину методом імуноферментного аналізу в пробах м'язів та яєць птиці за допомогою тест-системи для конкурентного імуноферментного аналізу MaxSignal® Тилозин (Cat. No.: 1026) і були отримані такі валідаційні дані: LOD – 11,25 і 2,8 мкг/кг, відповідно; СС β – менша або дорівнює 10 і 3 мкг/кг, відповідно, при цьому β -помилка становить <5 %; відсоток повернення – 125,7 і 112 %, відповідно; рівень відсічення становить 11,84 і 2,99 мкг/кг, відповідно. Встановлено, що будь-який зразок, який дає відповідь, більшу за виявлений рівень відсічення є «скрин-позитивним».

2. Аналіз проведеного моніторингу в Україні за 2009–2015 рр. щодо визначення залишкових кількостей тилозину і доксицикліну в м'язах і яйцях птиці свідчить про відсутність позитивних результатів.

3. За результатами дослідження продуктів забою курчат-бройлерів, що надходять в торгівельну мережу, виявлено наявність залишків тилозину і доксицикліну у грудному м'язі, середньому стегно-великоомілковому м'язі, найширших м'язах спини, печінці, але не встановлено перевищення максимально допустимого рівня.

4. Застосування фармазину і тилоциклінвету позитивно впливає на приріст живої маси курчат-бройлерів, що виявляється у достовірному збільшенні показників передзабійної живої маси ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,01$), забійного виходу тушок та маси їстівних внутрішніх органів ($p \leq 0,05$).

5. У разі зберігання тушок курчат-бройлерів в охолоджену стані (4–5 °С) впродовж чотирьох діб швидшому псуванню піддаються тушки курчат-бройлерів у кінці періоду каренції, що отримували тилоциклінвет. За мікробіологічними показниками м'ясо птиці, якій випоювали фармазин і тилоциклінвет відповідало вимогам чинних нормативно-правових актів. Разом з тим, за показниками МАФАНМ виявлено вищу кумулятивну здатність фармазину в «білих» м'язах, а тилоциклінвету – у «червоних» на початку та у кінці періоду каренції.

6. Встановлено, що співвідношення незамінних до замінних амінокислот у разі застосування фармазину у «білих» та «червоних» м'язах курчат-бройлерів на початку та у кінці періоду каренції знижується, відповідно, на 15,1 і 6,2 %. У разі застосування тилоциклінвету встановлено зворотню тенденцію до співвідношення незамінних до замінних амінокислот у досліджуваних м'язах (відповідно, 25,2 і 6 %). Виявлена амінокислота, що лімітує біологічну цінність білка – метіонін.

7. У м'ясі курчат-бройлерів, які отримували фармазин і тилоциклінвет, не було виявлено пригнічення росту інфузорій *Tetrachylena pyriformis*. Проте виявлені характерні патологічні зміни клітин культури: загальмування рухів клітин, патологічні зміни форми, наявність загиблих інфузорій, що підтверджує вищу кумуляцію фармазину в «білих» м'язах, а тилоциклінвету – в «червоних». Встановлено, що м'ясо птиці, що отримували фармазин і тилоциклінвет, є слаботоксичним.

8. У печінці курчат-бройлерів за дії фармазину і тилоциклінвету виявлено зернисту й жирову дистрофію гепатоцитів, інтерстиційний лімфоїдоцитарний гепатит, фіброз; в нирках – зернисту дистрофію епітелію каналців, дифузний інтерстиційний лімфоїдоцитарний нефрит, фіброз; в міокарді – набряк міжм'язової сполучної тканини, міокардіосклероз. Найбільш виражені патологічні зміни виявлено у курчат-бройлерів, що отримували фармазин, дещо менше – у курчат, що отримували тилоциклінвет на початку періоду каренції.

9. Максимальні концентрації залишкових кількостей тилозину у курчат, що отримували фармазин і тилоциклінвет по закінченню періоду каренції виявлено у найширших м'язах спини, середньому стегно-великогомілковому м'язі, каудальному клубово-вертлужному м'язі. У разі застосування курчатам-бройлерам тилоциклінвету найвищий вміст доксицикліну, що перевищує максимально допустимий рівень – 100 мкг/кг, виявлено в м'язовій частині шлунка.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Рекомендуємо з метою об'єктивного контролю залишкової кількості тилозину у продуктах забою курчат-бройлерів досліджувати найширші м'язи спини, середній стегно-великогомілковий м'яз, каудальний клубово-вертлужний м'яз, а доксицикліну – м'язову частину шлунка.

2. Для виконання «Плану державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та забруднювачів у живих тваринах і необроблених харчових продуктах тваринного походження» рекомендуємо використовувати як експрес-метод – імуноферментний аналіз, як арбітражний – метод рідинної хроматографії.

3. Рекомендувати «Методичні рекомендації з кількісного визначення тилозину в зразках м'яса, печінки, нирок, яєць, молока, меду, комбікормів та сечі за допомогою тест-системи для конкурентного імуноферментного аналізу MaxSignal® Тилозин (Art. No.: 1026)» для використання спеціалістами регіональних (обласних) державних лабораторій ветеринарної медицини, для слухачів факультетів післядипломного навчання, науковців, викладачів та студентів вищих навчальних закладів III–IV рівнів акредитації за спеціальністю «Ветеринарна медицина» та «Ветеринарно-санітарна експертиза, якість та безпека продукції тваринництва».

4. Використовувати отримані результати щодо впливу антибіотиків фармазину і тилоциклінвету на продукти забою курчат-бройлерів та валідацію методу з кількісного визначення тилозину у продукції тваринного походження у курсах лекцій та лабораторних занять з ветеринарно-санітарної експертизи, клінічної фармакології та ветеринарної токсикології для студентів аграрних ВНЗ, а також під

час проведення наукових досліджень, написанні монографій, підручників і навчальних посібників.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Чорненька І. В. (Забарна І. В.) Аналіз контролю залишків ветеринарних препаратів у продукції тваринного походження в Україні / **І. В. Чорненька (І. В. Забарна)**, О. М. Якубчак // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. – 2012. – Вип. 172. – Ч. 1. – С. 136–143. *(Здобувач провела аналіз моніторингу щодо визначення антибіотиків в продуктах тваринного походження в Україні та підготувала статтю до друку).*

2. Забарна І. В. Визначення тилозину в продукції птахівництва методом ELISA / **І. В. Забарна**, О. М. Якубчак // Сучасне птахівництво. – 2013. – Вип. 7 (128). – С. 6–8. *(Здобувач удосконалила моніторингові дослідження щодо визначення тилозину та підготувала статтю до друку).*

3. Забарна І. В. Мікробіологічні показники м'яса курчат-бройлерів у разі застосування антибактеріальних препаратів / **І. В. Забарна**, О. М. Якубчак // Ветеринарна біотехнологія. – 2015. – Бюлетень № 26. – С. 76–83. *(Здобувач провела експериментальні дослідження, проаналізувала дані і підготувала статтю до друку).*

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародної наукометричної бази даних:

4. Забарна І. В. Удосконалення моніторингових досліджень в продукції птахівництва з кількісного визначення тилозину методом ELISA / **І. В. Забарна**, О. М. Якубчак // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. – 2013. – Вип. 188. – Ч. 3. – С. 41–46. *(Здобувач провела валідаційні розрахунки та підготувала статтю до друку).*

5. Забарна І. В. Проблемні аспекти дослідження антибактеріальних препаратів в продуктах птахівництва / **І. В. Забарна**, О. М. Якубчак // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. – 2014. – Вип. 201. – Ч. 1. – С. 69–73. *(Здобувач провела експериментальні дослідження і підготувала статтю до друку).*

6. Забарна І. В. Ветеринарно-санітарна оцінка продуктів забою курчат-бройлерів за умов надходження фармазину і тилоциклінвету: [електронний ресурс] / **І. В. Забарна**, О. М. Якубчак // Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2015. – Вип. 5 (54). – Режим доступу: http://nd.nubip.edu.ua/2015_5/26.pdf. *(Здобувач провела експериментальні дослідження, їх узагальнення та підготувала матеріали до друку).*

Стаття в іншому науковому виданні

7. Забарна І. В. Оцінка токсичності м'яса курчат-бройлерів у разі застосування фармазину і тилоциклінвету / **І. В. Забарна**, О. М. Якубчак // Вісник Житомирського національного агроекологічного університету. – 2015. – Вип. 1 (49). – Т. 3. – С. 225–230. *(Здобувач провела експериментальні дослідження, проаналізувала дані і підготувала статтю до друку).*

Науково-методичні рекомендації

8. Методичні рекомендації з кількісного визначення тилозину в зразках м'яса, печінки, нирок, яєць, молока, меду, комбікормів та сечі за допомогою тест-системи для конкурентного імуноферментного аналізу Max Signal® Tylosin (Art. No.:1026) / [Загребельний В. О., Новожицька Ю. М., Мягка К. С., **Чорненька І. В. (Забарна І. В.)**, Костюк М. В.]. – Київ, 2012. – 22 с. *(Рекомендовано до друку Науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України, протокол № 4 від 21 грудня 2011 року. Здобувач провела валідування методу, статистичне опрацювання даних, підготовку матеріалів до друку).*

Тези наукових доповідей:

9. Чорненька І. В. (Забарна І. В.). Моніторинг антибіотиків в харчових продуктах в умовах Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи / І. В. Чорненька (І. В. Забарна) // VII Міжнародний конгрес спеціалістів ветеринарної медицини, 8–9 жовтня 2009 р.: тези доповіді. – Київ, 2009. – С. 136–137.

10. Чорненька І. В. (Забарна І. В.). Статистичний аналіз вмісту антибактеріальних речовин у м'ясі та м'ясних продуктах / І. В. Чорненька (І. В. Забарна) // VIII Міжнародний конгрес спеціалістів ветеринарної медицини, 7–8 жовтня 2010 р.: тези доповіді. – Київ, 2010. – С. 122–124.

11. Забарна І. В. Державний лабораторний контроль тилозину в продукції птахівництва методом ELISA / **І. В. Забарна**, О. М. Якубчак // Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва: XII Міжнародна науково-практична конференція, 14–15 березня 2013 р.: тези доповіді. – Київ, 2013. – С. 23–24.

12. Забарна І. В. Удосконалення моніторингових досліджень в продукції птахівництва з кількісного визначення тилозину методом ELISA / **І. В. Забарна**, О. М. Якубчак // Біоресурси планети та біобезпека навколишнього середовища: проблеми та перспективи: Міжнародна наукова конференція, 5–7 листопада 2013 р.: тези доповіді. – Київ, 2013. – С. 7.

13. Забарна І. В. Дослідження продуктів птахівництва на залишки антибактеріальних препаратів на ринках України / **І. В. Забарна**, О. М. Якубчак // Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва: XIII Міжнародна науково-практична конференція, 13–14 березня 2014 р.: тези доповіді. – Київ, 2014. – С. 22–23.

14. Забарна І. В. Визначення токсичності м'яса курчат-бройлерів у разі застосування фармазину і тилоциклінвету / **І. В. Забарна**, О. М. Якубчак // Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті. Сучасні проблеми ветеринарної медицини:

Міжнародна науково-практична конференція, 14–15 травня 2015 р.: тези доповіді. – Біла Церква, 2015. – С. 15.

15. Забарна І. В. Мікробіологічні показники м'яса курчат-бройлерів у разі застосування антибактеріальних препаратів / **І. В. Забарна**, О. М. Якубчак // Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва: XIV Міжнародна науково-практична конференція, 21–22 травня 2015 р.: тези доповіді. – Київ, 2015. – С. 24–26.

АНОТАЦІЯ

Забарна І. В. Ветеринарно-санітарна експертиза продуктів забою курчат-бройлерів за застосування фармазину і тилоциклінвету. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.09 – ветеринарно-санітарна експертиза. – Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, 2016.

Вперше в Україні проведено валідацію методики з кількісного визначення тилозину методом імуноферментного аналізу в пробах м'язів та яєць птиці згідно вимог стандарту ISO17025 та Рішення Комісії ЄС 657/2002.

Проведено моніторинг залишкових кількостей тилозину і доксицикліну в м'язах і яйцях птиці в Україні (2009–2015 рр.), який не дав позитивних результатів.

Встановлено, найбільший вміст залишків тилозину у випадкових пробах, що надходять в торгівельну мережу, виявлено в середньому стегно-великогомілковому м'язі і печінці. Вміст доксицикліну було виявлено лише в середньому стегно-великогомілковому м'язі, що не перевищує максимально допустимий рівень.

Застосування препаратів фармазину і тилоциклінвету з профілактичною метою позитивно впливає на приріст живої маси. За мікробіологічними показниками та токсичністю м'яса курчат-бройлерів встановлено, що фармазин в більшій мірі кумулюється в «білих» м'язах, а тилоциклінвет – у «червоних». Біологічна цінність м'яса у разі застосування фармазину погіршується, а тилоциклінвету – покращується.

З метою виявлення залишків тилозину методом рідинної хроматографії у тушках курчат-бройлерів необхідно відбирати найширші м'язи спини, середній стегно-великогомілковий м'яз та каудальний клубово-вертлужний м'яз, для виявлення залишків доксицикліну – м'язову частину шлунка.

Ключові слова: фармазин, тилоциклінвет, рідинна хроматографія, імуноферментний аналіз, курчата-бройлери, ветеринарно-санітарна експертиза.

АННОТАЦИЯ

Забарная И. В. Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов убоя цыплят-бройлеров при применении фармазина и тилоциклинвета. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.09 – ветеринарно-санитарная экспертиза. – Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, 2016.

Целью исследования было проведение ветеринарно-санитарной экспертизы продуктов убоя цыплят-бройлеров при использовании фармазина и тилоциклинвета при их выращивании и усовершенствования мониторингового метода исследования путем валидации методики по определению остаточных количеств тилозина в мышцах и яйцах птицы с помощью тест-системы для конкурентного иммуноферментного анализа MaxSignal® Тилозин (Cat. No.: 1026).

Метод иммуноферментного анализа количественного определения тилозина в мышцах и яйцах птицы усовершенствован путем проведения процедуры валидации с помощью тест-системы MaxSignal® Тилозин (Cat. No.: 1026) согласно требованиям Стандарта ISO 17025, Решения Европейской Комиссии 2002/657/ЕС, как результат может с успехом использоваться в аккредитированных лабораториях ветеринарной медицины.

Проведен мониторинг по определению остаточных количеств тилозина и доксициклина в мышечной ткани и яйцах кур в Украине согласно Плана государственного мониторинга за 2009–2015 гг., который не дал положительных результатов.

Проведено исследование случайных проб мышц туловища (грудная мышца, средняя бедренно-большеберцовая мышца, широчайшие мышцы спины) и печени цыплят-бройлеров, поступающих в торговую сеть на остатки тилозина и доксициклина. Наибольшее содержание остатков тилозина обнаружено в средней бедро-большеберцовой мышце и печени. Содержание доксициклина было обнаружено лишь в средней бедро-большеберцовой мышце, что не превышает максимально допустимый уровень.

Применение препаратов фармазин и тилоциклинвета с профилактической целью положительно влияет на прирост живой массы, среднесуточный прирост птицы и убойный выход тушек, способствует достоверному увеличению показателей массы съедобных внутренних органов. Убойный выход тушек цыплят-бройлеров, которые получали фармазин, в начале периода каренции был на 6,8 % выше, чем выход тушек контрольной группы, а убойный выход тушек птицы, которым задавали тилоциклинвет, превышает показатель контрольной группы на 2,1 %. При этом, убойный выход тушек цыплят-бройлеров, что получали фармазин по окончании периода элиминации был на 1,4 % выше, чем выход тушек контрольной группы, а разница в убойном выходе птицы, которые получали тилоциклинвет, составляет 2,2 %, по сравнению с показателем контрольной группы.

Установлено достоверное увеличение массы съедобных внутренних органов цыплят-бройлеров, получавших фармазин, по сравнению с первой контрольной группой ($p \leq 0,05$) в конце периода каренции. У цыплят-бройлеров, получавших тилоциклинвет, установлено достоверное увеличение массы печени и массы мышечной части желудка по сравнению со второй контрольной группой ($p \leq 0,05$) после окончания периода каренции.

Показатель рН мяса цыплят при выпаивании антибиотиков колебался от $5,64 \pm 0,04$ до $6,30 \pm 0,03$ ($p \leq 0,05$). Уже на четвертые сутки опыта рН мяса цыплят, которым выпаивали фармазин и тилоциклинвет повышается, по реакции с меди сульфатом и аммиаком, и солями аммония мясо цыплят, получавших тилоциклинвет

в конце периода каренции соответствует категории сомнительной свежести. Во время проведения микроскопии мазков-отпечатков глубоких слоев мышц птицы были обнаружены единичные микроорганизмы кокковой формы. В цыплят-бройлеров, которые получали фармазин и тилоциклинвет признаков распада мышечной ткани не обнаружено.

На основании исследований по определению общего микробного обсеменения, токсичности мяса установлено, что фармазин в большей степени накапливается в «белых», а тилоциклинвет – в «красных» мышцах цыплят-бройлеров.

Анализ данных аминокислотного состава мышц цыплят-бройлеров свидетельствует, что фармазин и тилоциклинвет избирательно действуют на аминокислотный обмен в организме птицы. Соотношение незаменимых к заменимым аминокислотам в «белых» и «красных» мышцах цыплят-бройлеров в случае применения фармазина снижается, соответственно, на 15,1 и 6,2 %, а тилоциклинвета – увеличивается, соответственно, на 25,2 и 6 %.

Аминокислотный СКОР белков в «белых» мышцах цыплят-бройлеров, получавших фармазин в начале периода каренции снижается для валина на 6 %, а на 6 сутки после последней дачи антибиотика – на 10 %. Аминокислотный СКОР белков в «белых» мышцах цыплят-бройлеров, получавших тилоциклинвет, снижается для валина в начале периода элиминации на 15 %, а на 9 сутки после последней дачи антибиотика – на 22 %. На основании проведенных исследований установлено: аминокислота, лимитирующая биологическую ценность белка – метионин.

На основании гистологических исследований, в печени выявлено зернистую и жировую дистрофию гепатоцитов, интерстициальный лимфоидоцитарный гепатит, фиброз; в почках – зернистую дистрофию эпителия канальцев, диффузный интерстициальный лимфоидоцитарный нефрит, фиброз; в миокарде – отек межмышечной соединительной ткани, миокардиосклероз.

С целью выявления остатков тилозина методом жидкостной хроматографии в тушках цыплят-бройлеров необходимо отбирать широчайшие мышцы спины, среднюю бедренно-большеберцовую мышцу и каудальную подвздошно-вертлужную мышцу. Для выявления остатков доксицилина необходимо исследовать мышечную часть желудка цыплят-бройлеров.

Ключевые слова: фармазин, тилоциклинвет, жидкостная хроматография, иммуноферментный анализ, цыплята-бройлеры, ветеринарно-санитарная экспертиза.

ANNOTATION

Zabarna I. V. Veterinary and sanitary expertise of products of broiler chickens' slaughter in a case of formazine and tylocyclinvet usage. – The manuscript.

Thesis for the candidate's degree in veterinary sciences, specialty 16.00.09 – veterinary and sanitary expertise. – National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, 2016.

For the first time ever it was carried out a methodic validation for a determination of

tylosin in poultry meat and egg samples using an enzyme-linked immunosorbent assay approach according to the requirements of ISO17025 standard and Decision 657/2002/EC.

We have also conducted a monitoring on determining the residual amounts of tylosin and doxycycline in poultry muscles and eggs (2009–2015) and can state about an absence of positive results obtaining.

It was determined that the biggest amount of tylosin residues was found in a middle part of an iliotibial tract and a liver in occasional samples, which had come in the trading environment. The amount of doxycycline, which was found only in the middle part of iliotibial tract, did not increase a maximal allowable limit.

Using of such preparations as formazine and tylocyclinvet with medical and preventive purposes has a positive effect on a live weight increment. According to the microbiological characteristics and meat toxicity of broiler chickens we have found that formazine strongly accumulates in «white» muscles and tylocyclinvet – in «red» muscles. Biological value of meat in a case of formazine usage tends to decline and in a case of tylocyclinvet usage – to improve.

In order to detect tylosin residues in the broiler chicken bodies using a liquid chromatography method it is necessary to sample the widest back muscles, the middle part of the iliotibial tract, the caudal iliac and the acetabular muscle. For the detection of doxycycline residues a muscular part of a stomach must be researched.

Key words: formazine, tylocyclinvet, liquid chromatography, enzyme-linked immunosorbent assay, broiler chickens, veterinary and sanitary expertise.