

6. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015 // EFSA J.– 2017. – V. 15, Iss. 2. – 212 p.

7. M. Ellin Doyle, Faye A. Hartmann, Amy C. Lee Wong. Whit Paper on sources of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and Other Methicillin-Resistant Staphylococcus: Implication for Oua Food Supply. https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/FRI_Brief_MRSA_FoodSupply_Feb. – 2011.

8. Vyznachennia chutlyvosti mikroorhanizmiv do antybakterialnykh preparativ: metodychni vkazivky / T. O. Harkavenko, O. M. Nevolko, T. H. Kozytska [iz spivav.] // Kyiv, DNDILDVSE, 2015. – 79 s. [in Ukrainian].

Рецензент – О. С. Гайдей, зав. лабораторії молекулярно-генетичних досліджень харчової безпеки науково-дослідного бактеріологічного відділу ДНДІЛДВСЕ.

УДК 619:615.9:614.3:636.085.3
doi: 10.36359/scivp.2019-20-2.26

ВИВЧЕННЯ ПАТОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ПОЛЬОВОГО ІЗОЛЯТУ *ASPERGILLUS FLAVUS* НА КЛІНІЧНИЙ І БІОХІМІЧНИЙ СТАН ОРГАНІЗМУ ПЕРЕПЕЛІВ ЕСТОНСЬКОЇ ПОРОДИ

О. Орбченко, д-р вет. наук, с. н. с.,

М. Романько, д-р біол. наук, с. н. с.,

М. Ярошенко, канд. вет. наук, с. н. с.,

І. Герілович, канд. вет. наук,

О. Куцан, д-р вет. наук, професор, чл.-кор. НААН

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН,
вул. Пушкінська, 83, Харків, 61023, Україна

*За результатами вивчення патологічної дії польового ізоляту *A. flavus* на організм перепелів доведено, що тривале згодовування контамінованого спорами корму викликає поступові (на 21- і 28-му добу) зміни клінічних і біохімічних показників птиці. Під час визначення коефіцієнтів маси внутрішніх органів перепелів встановлено зменшення відносної маси м'язового шлунку на 21-шу добу досліді у птиці I і II дослідних груп та на 7-му добу після припинення згодовування контамінованого корму – I; II та III груп ($p < 0,01$; $p < 0,05$) відповідно. Зареєстроване зменшення відносної маси печінки на 28-му добу в птиці II дослідної групи та на 7-му добу після закінчення його згодовування – III групи ($p < 0,01$; $p < 0,05$) відповідно. При визначенні ступеня контамінації органів-мішеней встановлено, що кількість спор *A. flavus* у легенях, м'язовому шлунку та товстому кишкоцінику перепелів носить дозозалежний характер. Механізм патологічної дії *A. flavus*, спорами якого було штучно контаміновано корм, в організмі перепелів полягає у поступовому розвитку імунно- (лейкоцитоз, зниження гемоглобіну, надмірне утворення токсичних протеїнів – ЦК і серомукоїдів поряд із гіперензимемією АлАТ; $P < 0,05$) і гепатотоксичних реакцій (підвищення рівня загальних протеїнів і креатиніну, гіпоензимемія АсАТ; $P < 0,05$), вираженість та незворотність яких залежить від кількості спор. Виявлені метаболічні зміни в організмі птиці були значно*

вираженими у випадку контамінації корму *A. flavus* у кількості ~ 300000 спор/г корму (III дослідна група), та не набували відновлення навіть через 7 діб після припинення його задавання.

Ключові слова: *ASPERGILLUS FLAVUS*, ПЕРЕПЕЛИ, КОЕФІЦІЕНТИ МАСИ, КЛІНІКА, МІКОБІОТА, БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ, ТОКСИЧНІСТЬ.

Дослідження щодо регламентації, токсико-гігієнічної оцінки токсичних контамінантів різного походження дуже широко проводяться у країнах Європи, Азії та Америки [1 – 3]. На основі цих досліджень була створена законодавча база контролювання особливо небезпечних токсикантів та їх залишків у кормах та продуктах тваринного походження для біотичних контамінантів – 401/2006/ЕС; 683/2004/ЕС; 856/2005/ЕС; 455/2004/ЕС; 683/2004/ЕС; 1126/2007/ЕС [4], у тому числі мікроскопічних грибів.

Підвищена увага до вивчення мікроскопічних грибів і їх токсинів зумовлена збільшенням чутливості до них високопродуктивних тварин та вимог екологічної безпеки до вітчизняної продукції рослинництва і тваринництва [5]. В Україні на сьогоднішній день напрацьована певна законодавча база – це Закони: «Про безпечність та якість харчових продуктів» від 06.09.2005 № 2809-IV; «Про ветеринарну медицину» від 10.04.2015 № 2498-XII; «Про карантин рослин» від 19.01.2006 № 3369-IV. Вони є гармонізованими до міжнародних вимог. Угоди СОТ про застосування санітарних та фітосанітарних заходів, Санітарного кодексу наземних тварин МЕБ.

Проте дотримання цих стандартів, удосконалення та наповнення підзаконних актів щодо контролювання якості і безпечності сільськогосподарської продукції має базуватися на наукових даних про фактори небезпеки та їх дію на організм продуктивних тварин, аналізі статистичного матеріалу про частоту й вірогідність їх впливу на якість та безпечність харчової продукції. Розрахунок можливих збитків від них є необхідним для подальшого довгострокового соціального прогнозування та оцінки ефективності природоохоронних заходів, які спрямовані на запобігання забруднення навколишнього середовища. Причому, проблеми забруднення навколишнього середовища потребують розробки і реалізації нових ефективних методів визначення токсичних речовин та удосконалення існуючих, які б дали змогу контролювати наявність їх у природі, оцінити ступінь ризику їх дії для організму, а у подальшому – для продукції тваринництва, вивчити особливості метаболізму токсикантів.

Грибкові захворювання у сільськогосподарських рослин залишаються однією з найпоширеніших проблем, з якою стикаються вітчизняні аграрії. В Україні близько (25–40) % кормів щорічно уражуються мікроскопічними грибами. Вивчення токсиноутворюючих мікроміцетів триває майже століття. Результати цих досліджень дозволили диференціювати захворювання сільськогосподарських тварин та людини на дві основні групи: мікози – викликані грибами, які паразитують на живих (ослаблених іншими факторами) тканинах та органах; мікотоксикози – незаразні захворювання, що виникають за умов дії токсичних метаболітів (мікотоксинів) мікроміцетів. Основні шляхи потрапляння до організму аліментарний та респіраторний.

Прикладом паразитування та утворенням токсинів є представники *Aspergillus* – роду вищих аеробних плісневих мікроміцетів класу *Deuteromycetes*, який включає в себе кілька сотень видів, поширених по всьому світу в різних кліматичних умовах. Їх можна виявити майже у всіх багатих на Оксиген та Карбон субстратах (моносахариди (глюкоза) і полісахариди (амілоза), де вони зазвичай ростуть як пліснява поверхонь [6, 7]. Причому превалюючими таксонами виявлено мікроміцети виду *Aspergillus flavus* (аспергіл жовтий), які є основними продуцентами афлатоксинів.

Вид *Aspergillus flavus* – розповсюджений повсюдно, частіше його виявляють у зерні, борошні, на арахісі. За певних умов зовнішнього середовища (вміст вільної води 0,90; температурний оптимум для росту (12–48) °С, рН від 4 до 8, наявність рослинного субстрату)

він здатний продукувати та накопичувати небезпечні для тварин і людини термостабільні екзотоксини – афлатоксини В₁, В₂, G₁, G₂, викликаючи гепато- (ушкодження гепатоцитів), нефро-, генотоксичну та канцерогенну дію або при ослабленні імунітету у людей і тварин здатен викликати аспергільоз із розвитком отитів, уражень нижніх відділів респіраторного тракту, ЦНС, ендокардитів тощо [8 – 11].

Виходячи із вищезазначеного, метою роботи стало вивчення патологічної дії польового ізоляту *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) на організм перепелів естонських, за умов субхронічного дослідю.

Матеріали і методи. Патологічну дію польового ізоляту *A. flavus* вивчали на перепелах породи Естонський перепел за умов субхронічного дослідю (28 діб), шляхом перорального введення з кормом. Для цього повнораціонний комбікорм штучно контамінували зависсю спор *A. flavus*, стандартизованою з використанням камери Горяєва. Зокрема, кількість спор підраховували в 10 великих квадратах в кожній краплі зависі з п'ятикратною повторюваністю, тобто в 50 великих квадратах. Об'єм 50 великих квадратів становить 0,2 мм³. Розведення суспензії спор, які містять 1200000 спор у 0,2 мм³ (це становить ~6000000 спор в 1 см³), було робочим [10, 12, 13].

Дослід було проведено за умов віварію лабораторії токсикологічного моніторингу ННЦ «ІЕКВМ» на 80-ти перепелах віком 145 діб, масою (170-210) г. Спочатку дослідю птицю впродовж тижня витримували в адаптаційному періоді. За принципом аналогів було сформовано три дослідні та одну контрольну групи (n=16). Впродовж 28 діб перепелам I дослідної групи згодовували повнораціонний комбікорм, контамінований спорами *A. flavus* у кількості ~60000 спор в 1 г корму, II групи ~150000 спор в 1 г корму, III групи – корм, що міститив спори у кількості ~300000 спор в 1 г корму відповідно; птиці контрольної групи згодовували не контамінований спорами *A. flavus* корм, тобто птицю утримували на стандартному раціоні (СР) [7].

Контамінацію спорами *A. flavus* проводили шляхом внесення стандартизованої зависі спор до стерильних скляних матрасів об'ємом 1,5 л з комбікормом. Загальний ступінь контамінації та склад фонові мікобіоти комбікорму та повітря приміщення, де утримувались перепели, досліджували кожного тижня упродовж дослідю.

Для визначення клінічних і біохімічних показників крові через 14, 21, 28 діб після початку та через 7 діб після закінчення згодовування контамінованого комбікорму проводили евтаназію птиці по 4 з кожної групи шляхом декапітації.

Маніпуляції над птицею здійснювали відповідно до існуючих нормативних документів [14–16], що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотримання принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях».

Визначення патологічної дії *A. flavus* на організм перепелів ґрунтувалося на реєстрації змін загального стану впродовж відповідних термінів досліджень, клінічних і біохімічних показників крові, результатів патологоанатомічного розтину з використанням макроскопічного суб'єктивного методу досліджень і визначенні коефіцієнтів маси внутрішніх органів [17].

У цільній крові птиці визначали кількість еритроцитів та вміст загального гемоглобіну за загальноприйнятими методами гематологічних досліджень [18, 19]; у сироватці крові – активність аланінамінотрансферази (АлАТ; КФ 2.6.1.2), аспартатамінотрансферази (АсАТ; КФ 2.6.1.1) та лужної фосфатази (ЛФ, КФ 3.1.3.1) та вміст основних метаболітів – загальних протеїнів та їх альбумінової фракції, глюкози, сечової кислоти і креатиніну – загальноприйнятими біохімічними методами [19, 20] спектрофотометрично (SHIMADZU UV-1800, Японія) за використання наборів реактивів виробництва НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Результати досліджень подані відповідно до Міжнародної системи одиниць,

рекомендованої для використання у клінічній та лабораторній практиці, і статистично оброблені з використанням пакету програм Microsoft Excel, вірогідність розходжень одержаних результатів оцінювали за критерієм Стьюдента.

Результати й обговорення. Спочатку кожного тижня досліду за загальноприйнятими методиками мікологічного аналізу проводили визначення загального ступеня контамінації та складу фонові мікобіоти повітря приміщення, де утримувалися перепели (табл. 1).

Установлено, що загальний ступінь забрудненості повітря приміщення збільшувався на кожному дослідному терміні, причому не за рахунок додаткового внесення *A. flavus* з кормом.

Зокрема, спочатку згодовування контамінованого спорами *A. flavus* корму ступінь забрудненості склав $0,408 \times 10^4$ КУО, на 7-му добу – $0,768 \times 10^4$ КУО, на 14-ту – $0,972 \times 10^4$ КУО, на 21-шу – $1,782 \times 10^4$ КУО, на 28-му добу – $2,370 \times 10^4$ КУО та через 7 діб після закінчення згодовування корму – $2,490 \times 10^4$ КУО у 1 м^3 повітря, відповідно.

Склад мікобіоти повітря складався з представників наступних родів: *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp., *Scopulariopsis* spp., *Trichoderma* spp., *Aspergillus* spp. (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. sydowi*, *A. niger*, *A. candidus*), *Penicillium* spp. (*P. lanosum*), *Mucoraceae* (*Mucor racemosus*), *Rhizopus microsporus*, дріжджеподібні гриби.

Отримані результати свідчать, що видовий склад мікроміцетів майже не змінювався, ймовірно це пов'язано з більш-менш стабільними погодними умовами – на момент досліду була суха та спекотна (температура у межах (27 – 30) °С) погода.

Таблиця 1

Таксономія та ступінь контамінації повітря приміщення, де утримувалися перепели

Термін досліджень, доби	Видовий склад та ступінь контамінації приміщення (S=40 м ² , за Омелянським)
Перед початком згодовування контамінованого <i>A. flavus</i> корму	<i>Trichoderma</i> spp., <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Aspergillus candidus</i> , дріжджеподібні гриби. Середня кількість колоній 68, діаметр чашки Петрі =10 см, S =78см ² , коефіцієнт перерахунку за Омелянським 60; ступінь контамінації = $0,408 \times 10^4$ КУО у 1 м^3 повітря
7-ма доба згодовування контамінованого <i>A. flavus</i> корму	<i>Trichoderma</i> spp., <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Penicillium lanosum</i> , <i>Aspergillus candidus</i> , дріжджеподібні гриби. Середня кількість колоній 128; ступінь контамінації = $0,768 \times 10^4$ КУО у 1 м^3 повітря
14-та доба досліду	<i>Trichoderma</i> spp., <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Penicillium lanosum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Cladosporium</i> spp., <i>Aspergillus sydowi</i> , дріжджеподібні гриби. Середня кількість колоній 162; ступінь контамінації = $0,972 \times 10^4$ КУО у 1 м^3 повітря
21-ша доба досліду	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus sydowi</i> , <i>Trichoderma</i> spp., <i>Mucor racemosus</i> , <i>Cladosporium</i> spp., дріжджеподібні гриби. Середня кількість колоній 297; ступінь контамінації $1,782 \times 10^4$ КУО у 1 м^3 повітря
28-ма доба досліду	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium lanosum</i> , <i>Trichoderma</i> spp., <i>Aspergillus candidus</i> , <i>Aspergillus sydowi</i> , дріжджеподібні гриби. Середня кількість колоній 395; ступінь контамінації = $2,370 \times 10^4$ КУО у 1 м^3 повітря
Через 7 діб після закінчення згодовування контамінованого <i>Aspergillus flavus</i> комбікорму	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Penicillium lanosum</i> , <i>Trichoderma</i> spp., <i>Aspergillus candidus</i> , <i>Aspergillus sydowi</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Cladosporium</i> spp., <i>Scopulariopsis bravaiculis</i> , <i>Rhizopus microsporus</i> , дріжджеподібні гриби. Середня кількість колоній 415; ступінь контамінації = $2,490 \times 10^4$ КУО у 1 м^3 повітря

Під час визначення ступеня контамінації та видового складу мікроміцетів корму встановили, що ці показники впродовж дослідного періоду зазнали не значних змін (табл. 2).

Зокрема, фоновий ступінь контамінації мікроміцетами спочатку згодовування контамінованого *A. flavus* корму склав $1,500 \times 10^4$ спор, на 7- та 14-ту добу досліду – $1,525 \times 10^4$ спор, на 21-шу – $1,750 \times 10^4$ спор, на 28-му добу – $2,000 \times 10^4$ спор та через 7 діб після

закінчення згодовування – $2,500 \times 10^4$ спор у 1 г корму відповідно, тобто збільшився у 1,7 разів. Це вказує на те, що додатково корм не був забруднений ззовні мікроскопічними грибами, а збільшення вмісту мікроміцетів відбувалося за рахунок власного складу мікобіоти. Ми вважаємо, що це пов'язано з оптимальними умовами зберігання комбікорму та погодними умовами. Під час видової ідентифікації мікроміцетів у кормі, були виділені види *A. flavus*, *A. candidus*, *Mucor racemosus*, *P. lanosum*, *P. pallidum*, *Sc. brevicaulis*, *Trichoderma* spp., причому *A. flavus* не був домінуючою культурою.

Таблиця 2

Таксономія та ступінь контамінації корму для перепелів

Термін досліджень, доби	Таксономія мікроміцетів та їх фактичний вміст у 1 г корму*
Перед початком згодовування контамінованого <i>A. flavus</i> корму	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Penicillium lanosum</i> ; $1,500 \times 10^4$ спор у 1 грамі корму
7-ма доба досліджу	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Mucor racemosus</i> ; $1,525 \times 10^4$ спор у 1 г корму
14-та доба досліджу	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Penicillium pallidum</i> , <i>Penicillium lanosum</i> ; $1,525 \times 10^4$ спор у 1 г корму
21-ша доба досліджу	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Trichoderma</i> spp., <i>Penicillium lanosum</i> ; $1,750 \times 10^4$ спор у 1 г корму
28-ма доба досліджу	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Trichoderma</i> spp., <i>Aspergillus candidus</i> , <i>Penicillium lanosum</i> , дріжджеподібні гриби; $2,000 \times 10^4$ спор у 1 г корму
Через 7 діб після закінчення згодовування контамінованого <i>Aspergillus flavus</i> комбікорму	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Trichoderma</i> spp., <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Aspergillus candidus</i> , <i>Penicillium lanosum</i> , дріжджеподібні гриби; $2,500 \times 10^4$ спор у 1 г корму
Примітка: *) – підрахунок проводили у розведенні 1:10000	

Наступним етапом досліджень було спостереження за загальним клінічним станом птиці. Встановили, що в усіх дослідних групах перепели були активними, добре споживали корм та воду, адекватно реагували на подразники з навколишнього середовища (звуки, світло), симптоми впливу на центральну нервову систему були відсутні (пригнічення або збудження, тремор, судомний синдром тощо). Гребінь та сережки були еластичними, пір'я гладеньке, щільне, сухе. Видимі слизові оболонки мали природний рожевий колір. Тобто, тривале надходження до організму *A. flavus* з кормом не вплинуло на зміни загального клінічного стану перепелів.

Але тривале згодовування перепелам контамінованого спорами *A. flavus* корму в птиці дослідних груп викликало зміни коефіцієнтів маси внутрішніх органів (табл. 3).

Зокрема, на 21-шу добу досліджу реєстрували вірогідне зменшення відносної маси м'язового шлунку. У птиці I дослідної групи (з кількістю $6,0 \times 10^4$ спор у 1 г корму) показник знижувався на 20 % та II групи (з кількістю $15,0 \times 10^4$ спор у 1 г корму) – на 25 % ($p \leq 0,05$; $p < 0,01$) відносно контрольних значень показника.

На 28-му добу досліджу реєстрували зменшення коефіцієнту маси печінки у птиці II дослідної групи на 15 % та м'язового шлунку – на 20,5 % ($p \leq 0,05$; $p < 0,01$) відносно контрольних значень показника відповідно.

На 7-му добу після припинення згодовування контамінованого корму встановлено зменшення коефіцієнтів маси печінки у птиці III дослідної групи (з кількістю $30,0 \times 10^4$ спор у 1 г корму) на 17 % та м'язового шлунку – I; II та III груп – на 20,3; 15,8 та 15,3 % ($p \leq 0,05$; $p < 0,01$), відповідно відносно контрольних значень показника.

Значення коефіцієнтів маси внутрішніх органів перепелів у динаміці згодовування корму, контамінованого спорами *Aspergillus flavus* у різних концентраціях (M±m, n=4)

Доби	Органи						
	Групи	Мозок	Серце	Легені	Печінка	Селезінка	М'язовий шлунок
14 доба введення	Контроль	0,35±0,03	1,00±0,03	0,84±0,03	1,61±0,15	0,05±0,01	2,09±0,17
	I дослідна група (6,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,34±0,03	0,83±0,13	0,83±0,11	1,39±0,05	0,05±0,01	1,87±0,09
	II дослідна група (15,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,40±0,01	1,06±0,08	0,79±0,06	1,50±0,05	0,05±0,00	2,01±0,09
	III дослідна група (30,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,43±0,01	1,00±0,04	0,87±0,08	1,53±0,11	0,05±0,01	1,92±0,20
21 доба введення	Контроль	0,45±0,05	1,00±0,02	0,73±0,03	1,54±0,07	0,05±0,01	2,38±0,09
	I дослідна група (6,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,47±0,03	0,77±0,14	0,76±0,06	1,43±0,05	0,05±0,01	1,91±0,07 *
	II дослідна група (15,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,40±0,04	1,00±0,05	0,84±0,07	1,67±0,09	0,04±0,00	1,79±0,11 *
	III дослідна група (30,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,43±0,01	0,81±0,13	0,73±0,07	1,43±0,04	0,04±0,00	2,07±0,11
28 доба введення	Контроль	0,42±0,01	0,95±0,03	0,72±0,07	1,83±0,03	0,07±0,02	2,24±0,10
	I дослідна група (6,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,39±0,03	0,97±0,07	0,78±0,05	1,69±0,07	0,05±0,01	2,08±0,14
	II дослідна група (15,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,42±0,05	0,93±0,02	0,66±0,02	1,56±0,09 **	0,06±0,01	1,78±0,10 **
	III дослідна група (30,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,37±0,02	1,00±0,06	0,79±0,03	1,88±0,10	0,05±0,01	2,29±0,21
7 діб після	Контроль	0,40±0,04	0,94±0,03	0,79±0,05	1,85±0,08	0,04±0,02	2,22±0,09
	I дослідна група (6,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,43±0,04	1,02±0,05	0,74±0,05	1,77±0,08	0,04±0,00	1,77±0,08 *
	II дослідна група (15,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,38±0,02	0,91±0,08	0,75±0,04	1,81±0,12	0,06±0,01	1,87±0,03 **
	III дослідна група (30,0×10 ⁴ спор у 1 г корму)	0,37±0,01	1,96±0,12	0,79±0,03	1,54±0,07 **	0,02±0,00	1,88±0,09 **

Примітка: *) – $p \leq 0,05$; **) – $p < 0,01$ – проти контрольної групи.

При патологоанатомічному розтині птиці контрольної групи встановлено (рис. 1): легені, серце та селезінка – без змін, мали фізіологічний колір та розміри; печінка – не збільшена у розмірі, капсула гладка, блискуча, краї загострені, коричневого кольору, пружної консистенції, малюнок на розрізі чіткий, зішкріб помірний; жовчний міхур – продовгуватої форми, заповнений рідиною зеленого кольору; нирки – не збільшені у розмірі, рівномірно забарвлені, світло-вишневого кольору, пружної консистенції. Тонкий і товстий кишечник не здуті, запалення та крововиливи відсутні.



Контроль

II дослідна група

III дослідна група

Рис. 1. Печінка перепелів II та III дослідних груп з нерівномірним забарвленням на 7-му добу після закінчення згодовування корму, контамінованого спорами *A. flavus* у різних концентраціях.

На 21-; 28- та на 7-му добу після закінчення згодовування корму, у перепелів II та III дослідних груп встановлено, що їх печінка була нерівномірно забарвлена, дряблої консистенції, реєстрували здуття тонкого і товстого кишечника (рис. 2).



Рис. 2. Здуття тонкого кишечника перепелів II та III дослідних груп на 7-му добу після закінчення згодовування корму, контамінованого спорами *A. flavus* у різних концентраціях.

За визначення ступеня контамінації органів-мішеней (легені, печінка, шлунок м'язовий та кишечник) встановлено (табл. 4), що висівання *A. flavus*, у якості домінуючої культури, було виявлено з легень, м'язового шлунку та товстого кишечника та всіх термінах досліджень, в печінці – ріст культури був відсутній.

Зокрема, у легенях – на 21-шу добу досліду у птиці I дослідної групи у кількості $0,25 \times 10^4$ спор (при загальному ступені контамінації $0,725 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу), II групи – $0,30 \times 10^4$ спор (при загальному ступені контамінації $0,625 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу) та III групи – $0,375 \times 10^4$ спор у 1 г корму (при загальному ступені контамінації $0,450 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу) відповідно.

На 28-му добу досліду у птиці I дослідної групи спори *A. flavus* визначали у кількості $0,325 \times 10^4$ спор (при загальному ступені контамінації $0,60 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу), II групи – $0,40 \times 10^4$ спор (при загальному ступені контамінації $0,725 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу) і III групи – $0,425 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу (при загальному ступені контамінації $0,775 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу) відповідно.

На 7-му добу після припинення згодовування контамінованого корму встановлено відсутність наявності спор *A. flavus* та зменшення загального ступеня контамінації легень.

У м'язовому шлунку – на 14-ту добу досліду кількість спор *A. flavus* становила у птиці II дослідної групи – $0,70 \times 10^4$ спор (при загальному ступені контамінації $1,00 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу) та III групи – $2,575 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу за росту монокультури.

На 21-шу добу досліду у птиці I дослідної групи кількість спор у легенях складала $0,575 \times 10^4$ спор (при загальному ступені контамінації $0,725 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу), II групи – $0,825 \times 10^4$ спор (при загальному ступені контамінації $1,075 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу) та III групи – $3,225 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу за росту монокультури.

На 28-му добу досліду у птиці I дослідної групи кількість спор складала $0,725 \times 10^4$ спор (при загальному ступені контамінації $3,050 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу), II групи – $2,35 \times 10^4$ спор (при загальному ступені контамінації $3,525 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу) та III групи – $3,95 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу за росту монокультури відповідно.

Таблиця 4

Ступінь контамінації та таксономічна належність ізолятів, виділених з органів-мішеней за тривалого згодовування корму, контамінованого спорами *Aspergillus flavus* у різних концентраціях

Органи-мішені	Групи птиці			
	Контроль	I дослідна група ($6,0 \times 10^4$ спор в 1 г корму)	II дослідна група ($15,0 \times 10^4$ спор в 1 г корму)	III дослідна група ($30,0 \times 10^4$ спор в 1 г корму)
Загальний ступінь контамінації (у розведенні 1:1000) та таксономія ізолятів				
Легені	14-та доба дослідіду			
	<i>Mucor racemosus</i> , <i>Penicillium lanosum</i> , <i>Aspergillus sydowi</i> , <i>Penicillium casei</i> , <i>Cladosporium</i> spp., дріжджеподібні гриби $0,825 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	<i>Penicillium lanosum</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Aspergillus sydowi</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , дріжджеподібні гриби. $0,725 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus sydowi</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , дріжджеподібні гриби. $0,925 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Penicillium lanosum</i> , <i>Aspergillus sydowi</i> , $0,575 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу
	21-ша доба дослідіду			
	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , дріжджеподібні гриби $0,625 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> ($0,250 \times 10^4$), <i>Penicillium lanosum</i> , <i>Trichoderma</i> spp., дріжджеподібні гриби. $0,725 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> ($0,300 \times 10^4$), <i>Trichoderma</i> spp., <i>Mucor racemosus</i> , <i>Penicillium lanosum</i> , $0,625 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> ($0,375 \times 10^4$), <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Mucor racemosus</i> , $0,450 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу
Легені	28-ма доба дослідіду			
	<i>Trichoderma</i> spp., <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus sydowi</i> <i>Mycelia sterilia</i> , дріжджеподібні гриби $0,600 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> ($0,325 \times 10^4$) дріжджеподібні гриби. $0,600 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> ($0,400 \times 10^4$), <i>Trichoderma</i> spp., дріжджеподібні гриби. $0,725 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> ($0,425 \times 10^4$), <i>Trichoderma</i> spp., $0,775 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу
	через 7 діб після закінчення згодовування контамінованого <i>Aspergillus flavus</i> комбікорму			
	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Aspergillus sydowi</i> <i>Penicillium lanosum</i> , дріжджеподібні гриби $0,575 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	<i>Trichoderma</i> spp., <i>Aspergillus sydowi</i> <i>Alternaria alternata</i> , <i>Mucor</i> spp., дріжджеподібні гриби. $0,525 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Mucor</i> spp., дріжджеподібні гриби $0,450 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	
Печінка	14-та доба дослідіду			
	дріжджеподібні гриби $0,125 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	дріжджеподібні гриби, $0,150 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	дріжджеподібні гриби $0,175 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	дріжджеподібні гриби, $0,075 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу
	21-ша доба дослідіду			
	дріжджеподібні гриби $0,200 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	дріжджеподібні гриби, $0,125 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	дріжджеподібні гриби $0,050 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	дріжджеподібні гриби, $0,125 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу
Печінка	28-ма доба дослідіду			
	дріжджеподібні гриби $0,250 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	дріжджеподібні гриби, $0,275 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	дріжджеподібні гриби $2,450 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	дріжджеподібні гриби, $3,950 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу
	через 7 діб після закінчення згодовування контамінованого <i>Aspergillus flavus</i> комбікорму			
	<i>Aureobazidium pullulans</i> , дріжджеподібні гриби	дріжджеподібні гриби, $0,175 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	дріжджеподібні гриби $0,275 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу	дріжджеподібні гриби, $0,125 \times 10^4$ в 1 г патматеріалу

	0,200×10⁴ в 1 г патматеріалу			
М'язо-вий шлунок	14-та доба дослідю			
	<i>Penicillium lanosum</i> , 0,575×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Penicillium lanosum</i> , <i>Aspergillus flavus</i> 0,625×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> (0,70×10⁴) <i>Penicillium lanosum</i> , дріжджеподібні гриби 1,000×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 2,575×10⁴ в 1 г патматеріалу
	21-ша доба дослідю			
	<i>Aspergillus flavus</i> , дріжджеподібні гриби 0,300×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> (0,575×10⁴) <i>Penicillium lanosum</i> , 0,725×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> (0,825×10⁴) <i>Penicillium lanosum</i> , дріжджеподібні гриби 1,075×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 3,225×10⁴ в 1 г патматеріалу
	28-ма доба дослідю			
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus sydowi</i> дріжджеподібні гриби 1,850×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> (0,725×10⁴) дріжджеподібні гриби 3,050×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> (2,35×10⁴) дріжджеподібні гриби 3,525×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 3,95×10⁴ в 1 г патматеріалу	
М'язо-вий шлунок	через 7 діб після закінчення згодовування контамінованого <i>Aspergillus flavus</i> комбікорму			
	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , дріжджеподібні гриби , 0,825×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> (0,30×10⁴) <i>Penicillium lanosum</i> , дріжджеподібні гриби 0,750×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> (0,85×10⁴) дріжджеподібні гриби 1,525×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> (1,95×10⁴) дріжджеподібні гриби, 2,425×10⁴ в 1 г патматеріалу
Товстий кишечник	14-та доба дослідю			
	дріжджеподібні гриби 2,325×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> (2,975×10⁴) <i>Penicillium lanosum</i> , колонії-29750) 3,100×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 4,775×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 5,575×10⁴ в 1 г патматеріалу
	21-ша доба дослідю			
	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> дріжджеподібні гриби 1,375×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 3,900×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 5,025×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 7,450×10⁴ в 1 г патматеріалу
	28-ма доба дослідю			
	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus sydowi</i> дріжджеподібні гриби 4,500×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 4,675×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 7,175×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 8,350×10⁴ в 1 г патматеріалу
через 7 діб після закінчення згодовування контамінованого <i>Aspergillus flavus</i> комбікорму				
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus sydowi</i> дріжджеподібні гриби , 1,700×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 2,175×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 3,025×10⁴ в 1 г патматеріалу	<i>Aspergillus flavus</i> 5,100×10⁴ в 1 г патматеріалу	

На 7-му добу після закінчення згодовування контамінованого *A. flavus* корму у легнях птиці I дослідної групи кількість спор дорівнювала 0,30×10⁴ спор (при загальному ступені

контамінації $0,750 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу), II групи – $0,850 \times 10^4$ спор (при загальному ступені контамінації $1,525 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу) та III групи – $1,95 \times 10^4$ спор (при загальному ступені контамінації $2,425 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу) відповідно.

У товстому кишечнику птиці на 14-ту добу досліду кількість спор *A. flavus* становила у I групі – $3,10 \times 10^4$ спор, у II групі – $4,775 \times 10^4$ спор та у III групі – $5,575 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу за росту монокультури відповідно. На 21-шу добу досліду у товстому кишечнику птиці I групі показник складав $3,90 \times 10^4$ спор, II групі – $5,025 \times 10^4$ спор та III групі – $7,450 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу за росту монокультури відповідно. На 28-му добу досліду у товстому кишечнику птиці I групі показник складав $4,675 \times 10^4$ спор, II групі – $7,175 \times 10^4$ спор та III групі – $8,350 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу за росту монокультури відповідно. На 7-му добу після закінчення згодовування контамінованого корму кількість спор *A. flavus* становила у товстому кишечнику птиці I групі – $2,175 \times 10^4$ спор, II групі – $3,025 \times 10^4$ спор та у III групі – $5,10 \times 10^4$ спор у 1 г патматеріалу за росту монокультури відповідно.

Метаболічні зміни в організмі перепелів породи Естонський перепел вивчали за рівнем гематологічних і біохімічних показників крові у динаміці 28-добового впливу корму, контамінованого спорами *A. flavus* у різних концентраціях. У таблиці 5 наведені результати дослідження рівня гематологічних показників перепелів на різних термінах експерименту.

Таблиця 5

Рівень гематологічних показників крові перепелів у динаміці впливу корму, контамінованого спорами *Aspergillus flavus* у різних концентраціях ($M \pm m$, $n=4$)

Групи птиці	Термін досліджень, доби			
	14-та	21-ша	28-ма	через 7 діб після припинення
Загальний гемоглобін, г/л				
Контроль	108,42±8,16	110,85±8,32	109,14±10,24	110,46 ±8,02
I дослідна група	109,16±6,12	108,46±9,38	110,14±8,35	111,08±8,44
II дослідна група	110,66±10,47	109,92±7,64	110,11±6,53	108,92±5,15
III дослідна група	109,22±8,34	106,23±9,31	100,85±6,62	99,54±6,05*
Еритроцити, $10^{12}/л$				
Контроль	3,71±0,20	3,74±0,08	3,71±0,11	3,71±0,31
I дослідна група	3,66±0,25	3,73±0,16	3,72±0,16	3,73±0,08
II дослідна група	3,64±0,18	3,69±0,20	3,74±0,06	3,70±0,23
III дослідна група	3,73±0,28	3,70±0,12	3,68±0,31	3,71±0,20
Лейкоцити, $10^9/л$				
Контроль	25,40±0,30	24,81±0,68	24,98±0,92	25,20±1,53
I дослідна група	24,72±0,56	25,17±0,90	24,93±0,73	25,10±1,47
II дослідна група	25,36±0,80	26,05±1,28	26,82±0,85	27,16±0,90
III дослідна група	27,21±0,92	28,11±0,65*	30,20±0,90*	30,83±0,93*

Примітка: *) $P < 0,05$ – різниця значень показника вірогідна відносно контролю.

Отже, оцінюючи динаміку гематологічних показників крові перепелів I та II дослідних груп (*A. flavus* у кількості ~60000 і ~150000 спор в 1 г корму відповідно), патологічних змін, що свідчать про негативний вплив контамінованого комбікорму на птицю не виявлено.

Однак, у крові перепелів III дослідної групи вміст загального гемоглобіну мав лише тенденцію до зниження на 28-му добу після початку та вірогідно знижувався у середньому на 9,9 % через 7 діб після припинення надходження. При цьому, кількість лейкоцитів у крові птиці цієї групи поступово зростала впродовж експерименту, що у середньому складало 17,8 % ($P < 0,05$) відносно контролю.

Результати дослідження основних метаболітів та ензиматичної активності у сироватці крові птиці на різних термінах експерименту наведено в таблицях 6 і 7 та на рисунку 3.

З результатів таблиці 6 виявляється, що згодовування контамінованого спорами корму не чинило впливу на вміст глюкози у сироватці крові перепелів дослідних груп.

Динаміка біохімічних показників у сироватці крові перепелів у динаміці впливу корму, контамінованого спорами *Aspergillus flavus* у різних концентраціях (M±m, n=4)

Групи птиці	Термін досліджень, доби			
	14-та	21-ша	28-ма	через 7 діб після припинення
Глюкоза, ммоль/л				
Контроль	7,13±0,43	7,22±0,36	7,25±0,18	7,26±0,46
I дослідна група	6,95±0,18	7,17±0,33	7,23±0,24	7,25±0,35
II дослідна група	7,18±0,31	7,20±0,15	7,19±0,32	7,26±0,17
III дослідна група	7,21±0,16	7,24±0,19	7,27±0,55	7,24±0,28
Креатинін, мкмоль/л				
Контроль	166,30±10,85	158,48±13,05	161,86±10,25	168,12±12,05
I дослідна група	135,40±10,58*	132,85±5,24*	137,85±9,09*	146,31±8,25*
II дослідна група	139,80±11,05*	124,51±8,15*	126,05±14,05*	135,58±9,05*
III дослідна група	130,94±8,09*	126,52±9,13*	126,90±8,22*	131,17±7,05*
Сечова кислота, мкмоль/л				
Контроль	325,18±13,15	329,20±10,05	330,24±21,08	332,12±9,07
I дослідна група	318,32±10,05	330,99±12,25	335,15±20,01	329,59±15,05
II дослідна група	319,98±9,55	327,18±8,01	332,89±10,27	330,04±17,02
III дослідна група	326,20±11,07	338,01±10,25	348,12±16,18	350,50±10,73

Примітка: *) P<0,05 – різниця значень показника вірогідна відносно контролю.

Установлено, що рівень креатиніну в сироватці крові перепелів I; II і III дослідних груп впродовж експерименту вірогідно знижувався, що на 28-му добу після початку задавання корму за СР у середньому складало 24,8; 22,1 і 21,6 % (P<0,05) відповідно.

Через 7 діб після припинення задавання корму за СР значення показника починали зростати, але залишались вірогідно нижчими ніж у контрольній птиці.

У сироватці крові перепелів, які одержували корм з найвищою кількістю спор (III дослідна група), вміст сечової кислоти впродовж експерименту за значенням поступово зростав, але не вірогідно.

Але, слід відзначити, що на 28-му добу спочатку та через 7 діб після припинення згодовування контамінованого корму у сироватці крові птиці усіх дослідних груп встановлено вірогідне збільшення рівня ензиматичної активності АлАТ (рис. 3, а). Так, наприкінці експерименту (7-ма доба після припинення) у сироватці крові перепелів I; II і III дослідних груп ензиматична активність залишалась підвищеною відносно її контрольних значень у середньому на 34,9; 40,2 і 61,4 % (P<0,05) відповідно.

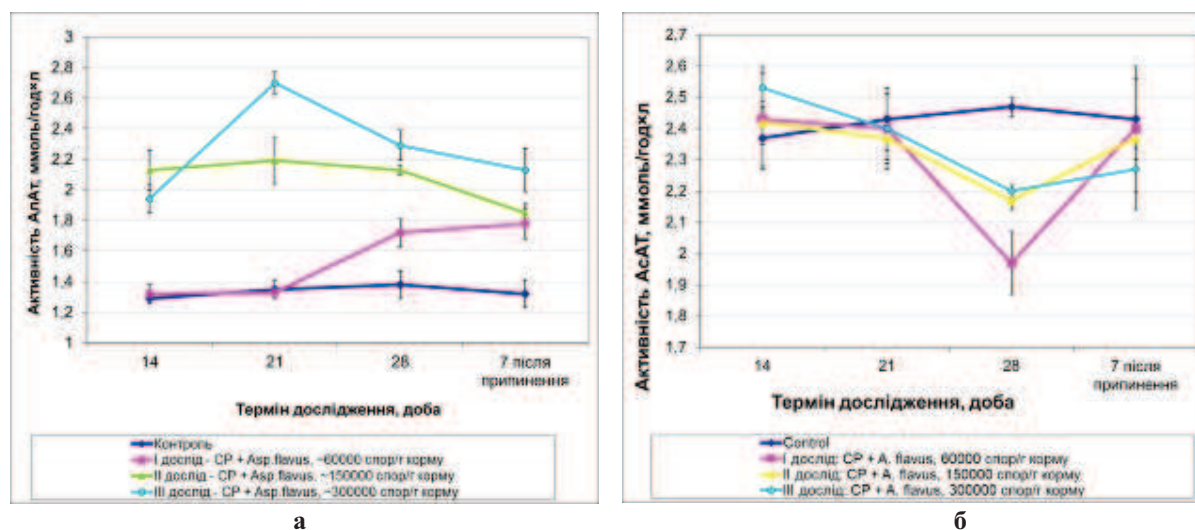


Рис. 3. Активність АлАТ (а) і АсАТ (б) у сироватці крові перепелів у динаміці субхронічного впливу корму, контамінованого спорами *A. flavus* у різних концентраціях (n = 4; P < 0.05 - у порівнянні з контролем).

Активність іншого ензиму – АсАТ – впродовж експерименту змінювалась наступним чином (рис. 3, б). У сироватці крові перепелів I; II і III дослідних груп на 28-му добу спочатку згодовування контамінованого корму ензиматична активність, навпаки, вірогідно знижувалась відносно її контрольних значень, що у середньому складало 20,2; 12,1 і 10,9 % ($P<0,05$) відповідно.

З даних таблиці 7 видно, що рівень утворення ЦК середньої молекулярної маси у сироватці крові перепелів I дослідної групи, які одержували контамінований корм з низьким вмістом спор, вірогідно збільшувався лише через 28 днів спочатку його задавання.

Таблиця 7

Динаміка показників неспецифічної резистентності у сироватці крові перепелів у динаміці впливу корму, контамінованого спорами *Aspergillus flavus* у різних концентраціях ($M\pm m$, $n=4$)

Групи птиці	Термін досліджень, доби			
	14-та	21-ша	28-ма	через 7 днів після припинення
ЦК середньої молекулярної маси, мг/мл				
Контроль	0,070±0,004	0,072±0,002	0,080±0,006	0,086±0,008
I дослідна група	0,075±0,005	0,077±0,006	0,105±0,004*	0,115±0,005*
II дослідна група	0,085±0,002*	0,100±0,005*	0,099±0,002*	0,096±0,007*
III дослідна група	0,080±0,002*	0,094±0,003*	0,100±0,007*	0,106±0,004*
Серомукоїди, мг/мл				
Контроль	0,165±0,040	0,17±0,02	0,167±0,020	0,161±0,004
I дослідна група	0,083±0,005*	0,090±0,005*	0,097±0,006*	0,096±0,005*
II дослідна група	0,171±0,050	0,168±0,003	0,170±0,008	0,165±0,008
III дослідна група	0,170±0,030	0,172±0,005	0,167±0,005	0,162±0,020
Загальні протеїни, г/мл				
Контроль	56,73±1,23	60,43±1,23	56,13±0,68	57,87±1,28
I дослідна група	58,60±0,60	53,67±1,25*	49,33±1,25*	53,67±1,23
II дослідна група	53,07±0,83	48,10±2,47*	48,73±0,65*	52,43±0,85*
III дослідна група	55,53±1,23	49,97±1,23*	47,94±2,09*	50,57±1,25*
Альбуміни, г/мл				
Контроль	26,72±2,25	27,06±2,25	27,01±3,05	27,07±2,08
I дослідна група	26,88±1,095	27,01±1,84	27,05±1,05	26,87±2,05
II дослідна група	27,02±3,03	26,95±1,12	27,08±2,06	26,81±2,06
III дослідна група	26,71±1,05	27,15±2,05	26,99±2,05	27,05±1,25

Примітка: *) $P<0,05$ – різниця значень показника вірогідна відносно контролю.

У перепелів II і III дослідних груп вірогідне підвищення кількості ЦК у сироватці крові реєстрували вже починаючи з 14-ї доби експерименту.

Рівень показника ЦК середньої молекулярної маси у сироватці крові птиці усіх дослідних груп залишався збільшеним навіть через 7 днів після припинення задавання СР, що в середньому складало 33,7; 11,6 і 23,3 % ($P<0,05$) відповідно відносно контролю.

Встановлено, що внаслідок задавання корму із більшою кількістю спор (III дослідна група) в сироватці крові перепелів, починаючи з 21-ї доби експерименту, реєстрували високий рівень серомукоїдів. Так, у сироватці крові птиці цієї групи вміст серомукоїдів підвищувався у середньому на 9,4 % ($P<0,05$) відносно контролю. Така тенденція залишалась навіть після припинення задавання контамінованого корму, при цьому рівень серомукоїдів залишався підвищений у порівнянні з контролем у середньому на 14,9 % ($P<0,05$) відповідно.

Поряд із встановленим зниженням кінцевого продукту розкладу протеїнів – креатиніну, на 21- і 28-му добу спочатку задавання СР також реєстрували низькі значення загальних протеїнів у сироватці крові перепелів усіх дослідних груп (табл. 7). Так, на 28-му добу експерименту рівень показника у сироватці крові перепелів I; II і III дослідних груп був вірогідно нижчим за контрольні значення в середньому на 12,1; 13,2 і 14,6 % ($P<0,05$) відповідно. Слід зазначити, що через 7 днів після припинення задавання контамінованого

спорами корму рівень показника відновлювався до його контрольних значень лише в сироватці крові перепелів I дослідної групи.

Встановлено, що впродовж експерименту в сироватці крові птиці усіх дослідних груп вміст альбумінової фракції загальних протеїнів статистично не змінювався відносно контрольних значень показника (табл. 7).

Отже, за підсумком отриманих результатів згодовування контамінованого спорами *A. flavus* корму значно впливало на динаміку гематологічних та біохімічних показників дослідних перепелів. Зміни клініко-біохімічних показників крові дослідної птиці у цілому реєстрували поступово з часом (на 21- і 28-му добу експерименту), вираженість прояву яких залежить від ступеня ураженості корму (за кількістю спор *A. flavus*).

Таким чином, за впливу різної кількості спор *A. flavus*, внесеної з кормом, на організм перепелів, визначали розвиток запальних процесів (лейкоцитоз, зниження гемоглобіну, надмірне утворення токсичних протеїнів – ЦК і серомукоїдів поряд із гіперензимемією АлАТ; $P < 0,05$), що є ознакою імунотоксичного впливу *A. flavus*. На гепатотоксичну дію контамінованого корму вказує визначена гіпопротеїнемія та зміни у інтенсивності пуринового обміну поряд із гіпоензимемією АсАТ ($P < 0,05$) в організмі дослідних перепелів.

Виявлені зміни клініко-біохімічних показників у крові експериментальних перепелів були більш вираженими у випадку контамінації корму *A. flavus* у кількості ~300000 спор в 1 г корму (III дослідна група), та не набували відновлення навіть через 7 діб після припинення його задавання відповідно.

ВИСНОВКИ

1. За результатами вивчення патологічної дії польового ізоляту *A. flavus* на організм перепелів доведено, що тривале згодовування контамінованого спорами мікроскопічних грибів корму викликає поступові (на 21- і 28-му добу) зміни клінічних і біохімічних показників птиці.

2. Під час визначення коефіцієнтів маси внутрішніх органів перепелів встановлено зменшення відносної маси м'язового шлунку на 21-шу добу досліду у птиці I і II дослідних груп та на 7-му добу після припинення згодовування контамінованого спорами корму – I; II та III дослідних груп ($p < 0,01$; $p < 0,05$) відповідно. Зареєстроване зменшення відносної маси печінки на 28-му добу в птиці II дослідної групи та на 7-му добу після закінчення задавання контамінованого спорами корму – III групи ($p < 0,01$; $p < 0,05$) відповідно. При визначенні ступеня контамінації органів-мішеней встановлено, що кількість спор *A. flavus* у легенях, м'язовому шлунку та товстому кишечнику перепелів носить дозозалежний характер.

3. Механізм патологічної дії польового ізоляту *A. flavus*, спорами якого було штучно контаміновано корм, в організмі перепелів полягає у поступовому розвитку імуно- (лейкоцитоз, зниження гемоглобіну, надмірне утворення токсичних протеїнів – ЦК і серомукоїдів поряд із гіперензимемією АлАТ; $P < 0,05$) і гепатотоксичних реакцій (підвищення рівня загальних протеїнів і креатиніну, гіпоензимемія АсАТ; $P < 0,05$), вираженість та незворотність яких залежить від кількості спор у кормі. Виявлені метаболічні зміни в організмі птиці були значно вираженими у випадку контамінації корму *A. flavus* у кількості ~ 300000 спор/г корму (III дослідна група), та не набували відновлення навіть через 7 діб після припинення задавання контамінованого спорами корму.

Перспективи досліджень. В подальшому плануємо дослідити вплив контамінованого спорами *A. flavus* корму на показники якості продукції перепелівництва (яйця, м'ясо).

THE STUDY OF PATHOLOGICAL EFFECTS OF *ASPERGILLUS FLAVUS* FIELD ISOLATE ON CLINICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF THE ESTONIAN QUAIL ORGANISM

O. Orobchenko, M. Romanko, M. Yaroshenko, I. Gerilovich, O. Kutsan

National Scientific Center
"Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine",
83, Pushkinska str., Kharkiv, 61023, Ukraine

S U M M A R Y

The purpose of the work was to determine the pathological effects of *Aspergillus flavus* field isolate on the clinical and biochemical state of the organism of quail of an Estonian breed 145 days age in the subchronic oral intake with feed. By analogy principle, birds were divided into 4 groups (n=16): one control and 3 experimental ones. The birds of the control group got full-fodder feed; I, II and III experimental groups – feeds, artificially contaminated by the suspension of *A. flavus* spores in the amount of ~ 60,000, ~ 150,000 and ~ 300,000 spores per 1 gram of feed for 28 days, respectively. On the 14th, 21th, 28th days after the start and on the 7th day after completing the treatment, bird euthanasia and the selection of poultry organs and blood were carried out for further mycological and biochemical studies.

According to the results of the research, it has been established that prolonged treatment by spores of *A. flavus* with contaminated feed causes a gradual (on the 21st and 28th day) changes in the clinical and biochemical parameters of the bird. The coefficients of the weight of the internals of quail were determined. A decrease in the relative weight of the muscular stomach was established on the 21th days of the experiment in the birds of the experimental groups I and II and on the 7th day after completing the treatment by the contaminated feed – I; II and III groups ($p < 0.01$; $p < 0.05$) respectively. The registered decrease in the relative weight of the liver on the 28th day in the bird of the experimental group II and on the 7th day after the end of its feeding is III group ($p < 0.01$; $p < 0.05$), respectively. In determining the degree of contamination of target organs, it has been established that *A. flavus* growth in the lungs, muscular stomach and colon of quail is dose-dependent. Mechanism of pathological action *A. flavus*, the spores of which were artificially contaminated with food, in the quail organism is the gradual development of immune (leukocytosis, reduction of hemoglobin, excessive formation of toxic proteins – CIC and serumukoids, along with hypertension of ALT, $P < 0,05$) and hepatotoxic reactions (raising the level of total proteins and creatinine, hypotensive of AST; $P < 0.05$), the severity and irreversibility of which depends on the number of spores. The revealed metabolic changes in the bird organism were significantly expressed in the case of *A. flavus* contamination in the amount of ~ 300,000 spores per gram of feed (III experimental group), and did not recover even 7 days after the termination of its treatment.

Keywords: ASPERGILLUS FLAVUS, QUAIL, WEIGHT COEFFICIENTS, CLINIC, MICOBIOT, BIOCHEMICAL PARAMETERS, TOXICITY.

ИЗУЧЕНИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛЕВОГО ИЗОЛЯТА *ASPERGILLUS FLAVUS* НА КЛИНИЧЕСКОЕ И БИОХИМИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЗМА ПЕРЕПЕЛОВ ЭСТОНСКОЙ ПОРОДЫ

А. Оробченко, М. Романько, М. Ярошенко, И. Герилевич, А. Куцан

ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины» НААН,
ул. Пушкинская, 83, г. Харьков, 61023, Украина

АННОТАЦИЯ

По результатам изучения патологического действия полевого изолята *A. flavus* на организм перепелов доказано, что длительное скармливание контаминированного спорами корма вызывает постепенные (на 21-и 28-е сутки) изменения клинических и биохимических показателей птицы. При определении коэффициентов массы внутренних органов перепелов установлено уменьшение относительной массы мышечного желудка на 21-е сутки опыта у птицы I и II опытных групп и на 7-е сутки после прекращения скармливания контаминированного корма – I, II и III групп ($p < 0,01$; $p < 0,05$) соответственно. Зарегистрировано уменьшение относительной массы печени на 28-е сутки у птицы II группы и на 7-е сутки после окончания его скармливания – III группы ($p < 0,01$; $p < 0,05$) соответственно. При определении степени загрязнения органов-мишеней установлено, что количество спор *A. flavus* в легких, мышечном желудке и толстом кишечнике перепелов носит дозозависимый характер. Механизм патологического действия *A. flavus*, спорами которого было искусственно контаминированные корм, в организме перепелов заключается в постепенном развитии иммуно- (лейкоцитоз, снижение гемоглобина, избыточное образование токсичных протеинов – ЦИК и серомукоид наряду с гиперэнзимемией АЛТ; $P < 0,05$) и гепатотоксических реакций (повышение уровня общих протеинов и креатинина, гипоэнзимемия АсАТ; $P < 0,05$), выраженность и необратимость которых зависит от количества спор. Обнаруженные метаболические изменения в организме птицы были более значительно выраженными в случае контаминации корма *A. flavus* в количестве ~ 300000 спор / г корма (III опытная группа), но не восстанавливались даже через 7 суток после прекращения его задания.

Ключевые слова: *ASPERGILLUS FLAVUS*, ПЕРЕПЕЛА, КОЭФФИЦИЕНТЫ МАССЫ, КЛИНИКА, МИКОБИОТЫ, БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ТОКСИЧНОСТЬ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Arroyo-Manzanares N. Mycotoxin Analysis: New Proposals for Sample Treatment // *Advances in Chemistry*. 2014 (2014), Article ID 547506, 12 p. Режим доступа : www.hindawi.com/journals/ac/2014/547506/
2. Martins T. Determination of quinolones and fluoroquinolones, tetracyclines and sulfonamides in bovine, swine and poultry liver using LC-MS/MS // *Food Additives and Contaminants – Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*. 2015. Vol. 32(3). P. 1-9.
3. Liquid chromatographic determination of aflatoxins in feedstuffs containing citrus pulp : научное издание / Paulsch W. E., Paulsch E. A., Egmond H. P. Walter E. // *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 1988. Vol. 71, № 5. P. 957-961.
4. Законодательно-нормативные акты Европейского Союза (ЕС) в отношении пищевой промышленности. 97 с. Режим доступа : http://www.icc-iso.ru/upload/information_system_27/6/1/0/item_610/Zakonodatelno_normat_aktu_ES.pdf
5. Ярошенко М. О. Моніторинг кормів для ВРХ молочного напряму продуктивності на наявність плісневих мікроміцетів у господарствах північно-східного регіону України / Ярошенко М. О., Куцан О. Т., Оробченко О. Л // *Ветеринарна біотехнологія*. 2018. 32 (2). С. 602-610.
6. Ахмадышен Р. А. Микотоксины – контаминанты кормов / Ахмадышен Р. А., Канарский А. В. // *Вестник Казанского технологического университета*. 2007. № 2. С.88-103.
7. Саттон Д. Определитель патогенных и условно патогенных грибов: Пер. с англ. Учеб. пособие для вузов / О. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди; под общ. ред. Д.Г. Звягинцев. М.: Мир, 2001. 487 с.
8. *Aspergillus flavus* // *Mycobank.org*. – CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center Utrecht,

2016.

9. *Tell L. A.* Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine. *Med Mycol.* 2005 May. 43 Suppl. 1. S 71-73.
10. *Билай В. И.* Аспергиллы: определитель / В. И. Билай, Э. З. Коваль. К.: Наукова думка, 1988. 204 с.
11. *Кашкин П. Н.* Определитель патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов / П. Н. Кашкин, М. К. Хохряков, А. П. Кашкин. Ленинград: Медицина, 1979. 270 с.
12. Большой практикум по микробиологии. / Под ред. проф. Г. Л. Симбера. М. Высшая школа. 1962. С.106-112.
13. *Ображей А. Ф., Погребняк Л. И., Корзуненко О. Ф.* Методичні вказівки по санітарно-мікологічній оцінці та поліпшенню якості кормів: метод. вказівки, затверджені Держ. департаментом вет. медицини Міністерства АПК України № 15-14/73 від 06 березня 1998 р. Київ, 1998. 107 с.
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg, 1986. 53 p.
15. Стаття 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 5456-VI від 16.10.2012 р.
16. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // Official Journal of the European Communities L 358. 1986. P. 1-29.
17. *Жаров А.В.* Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных / Жаров А. В., Иванов И. В., Стрельников А. П. М.: Колос, 2003. 400 с.
18. *Меньшиков В. В.* Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. М.: Медицина, 1987. 386 с.
19. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник. / Під ред. Влізла В. В. Львів, СПОЛОМ, 2012. 764 с.
20. *Левченко В. І.* Ветеринарна клінічна біохімія. Біла Церква, Білоцерківський державний аграрний університет, 2002. 400 с.

References

1. Arroyo-Manzanares N. Mycotoxin Analysis: New Proposals for Sample Treatment // *Advances in Chemistry.* 2014 (2014), Article ID 547506, 12 p. Режим доступу : www.hindawi.com/journals/ac/2014/547506/
2. Martins T. Determination of quinolones and fluoroquinolones, tetracyclines and sulfonamides in bovine, swine and poultry liver using LC-MS/MS // *Food Additives and Contaminants – Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment.* 2015. Vol. 32(3). P. 1-9.
3. Paulsch W. E., Paulsch E. A., Egmond H. P. Van Liquid chromatographic determination of aflatoxins in feedstuffs containing citrus pulp : научное издание / Walter E. // *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 1988. Vol. 71, № 5. P. 957-961.
4. Zakonodatel'no-normativnue akty Evropejskogo Soyuza (ES) v otnosheny`y` py`shhevoj promushlennosty`. 97 s. Rezhy`m dostupu: http://www.icc-iso.ru/upload/information_system_27/6/1/0/item_610/Zakonodatelno_normat_akty_ES.pdf [in Russian].
5. Yaroshenko, M. O., Kuczyn, O. T. & Orobchenko, O. L. (2018) *Monitory`ng kormiv dlya VRX molochnogo napryamu produkty`vnosti na nayavnist` plisenevy`x mikromicetiv u gospodarstvax pivnichno-sxidnogo regionu Ukrayiny`.* *Vetery`narna biotexnologiya.* 32 (2). S. 602-610. [in Ukrainian].

6. Axmadushen, R. A. & Kanarsky`j, A. V. (2007) *My`kotoksy`nu – kontamy`nanu kormov*. Vestny`k Kazanskogo texnologiy`cheskogo uny`versy`teta. N2. S.88-103. [in Russian].
7. Sutton, D., Fotergill, M. & Rinaldi, M. (2001). *Opredelitel patogennykh i uslovno patogennykh gribov [The determinant of pathogenic and conditionally pathogenic fungi]*. Moscow: Mir [in Russian].
8. *Aspergillus flavus* // Mycobank.org. – CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center Utrecht, 2016.
9. Tell L. A. Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine. Med Mycol. 2005 May. 43 Suppl. 1. S 71-73.
10. Bilay, V.I. & Koval, E.Z. (1988). *Aspergilly: opredelitel [Aspergillus: determinant]*. Kiev: Naukova Dumka [in Russian].
11. Kashky`n, P. N. (1979) *Opredely`tel` patogennuch, toksy`gennuch y` vrednuch dlya cheloveka gry`bov* / P. N. Kashky`n, M. K. Xoxryakov, A. P. Kashky`n. Leny`ngrad: Medy`cy`na, 270 s. [in Russian].
12. *Bolshoj praktikum po mykrobiologiyi*. (1962). Pod red. prof. G. L. Sy`mbera. M. Vusshaya shkola. S.106-112. [in Russian].
13. Obrazhej, A. F., Pogrebnyak, L. I. & Korzunenko O. F. (1998) *Metody`chni vkazivky` po sanitarno-mikologichnij ocinci ta polipshennyu yakosti kormiv* : metod. vkazivky`, zatverdzheni Derzh. departamentom vet. medy`cy`ny` Ministerstva APK Ukrainy` N15-14/73 vid 06 bereznia 1998. Ky`yiv. 107 s. [in Ukrainian].
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg, 1986. 53 p.
15. *Stattya 26 Zakonu Ukrainy` N5456-VI vid 16.10.2012 r.* (2012) «Pro zaxy`st tvary`n vid zhorstokogo povodzhennya». [in Ukrainian].
16. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // Official Journal of the European Communities L 358. 1986. P. 1-29.
17. Zharov, A. V., Strelnikov A. P. & Ivanov I. V (2003) *Vskrytiye i patomorfologicheskaya diagnostika bolezney zhivotnykh* [Autopsy and pathological diagnosis of animal diseases]. Moscow: KolosS [in Russian].
18. Men`shy`kov, V. V. (1987) *Laboratornue metody issledovaniya v klinike: Spravochny`k*. M.: Medy`cy`na. 386 s. [in Russian].
19. Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S. & Raty`ch, I. B. (2012) *Laboratorni metody` doslidzhen` u biologiyi, tvary`nny`cztvi ta vetery`narnij medy`cy`ni* : dovidny`k. / Pid red. Vlizla V. V. L`viv, SPOLOM. 764 s. [in Ukrainian].
20. Levchenko, V. I. ta in. (2002) *Vetery`narna klinichna bioximiya*. / Pid red. Levchenka V. I. Bila Cerkva. BDAU. 400 s. [in Ukrainian].

Рецензент – О. Ю. Лиманська, д. б. н., старший науковий співробітник, ННЦ «ІЕКВМ» НААН.