

МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

Факультет ветеринарної медицини

Спеціальність 7.130501 –

“ Ветеринарна медицина “

Допускається до захисту

Зав. кафедри ветсанекспертизи, мікробіології,
зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва

доктор ветеринарних наук, професор

Т.І. Фотіна

” ” 2013р

ДИПЛОМНА РОБОТА

На тему: „ Профілактика мікотоксикозів в умовах свинарських господарств
Сумської області ”.

Студента-дипломника: **Чирва Олександр Володимирович**

Керівник дипломної роботи: д.в.н., професор **Фотіна Тетяна Іванівна**

Консультанти:

1.3 охороні праці _____ ст. викладач О.В. Семерня

2.3 екологічної експертизи

ветеринарних заходів _____ д.в.н., професор Т.І.Фотіна

3.3 економічної ефективності

ветеринарних заходів _____ доцент, к.в.н. А.І.Фотін

Рецензент _____ д.в.н., професор М.Д.Камбург

Суми – 2013 р
ЗМІСТ

Завдання на виконання дипломної роботи.....	3
РЕФЕРАТ	5
1. ВСТУП.....	7
2. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
2.1.Сучасні поняття про мікотоксикози.....	8
2.2.Характеристика господарства.....	10
2.3. Основні види мікотоксинів.....	11
2.4. Методи визначення мікотоксинів у кормах та діагностика.....	16
2.5. Профілактика та лікування свиней за виникнення мікотоксикозів.....	19
2.6. Висновок з огляду літератури.....	25
3. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ	
3.1. Матеріали і методи досліджень.....	27
3.2. Моніторинг вітчизняного ринку протимікотиксокозних засобів.....	42
3.3. Розробка методів контролю інгредієнтів «Кормосану™».....	45
3.4. Вплив „ Кормосану™ ” на організм поросят при експериментальному Т-2 токсикозі.....	53
3.5. Встановлення параметрів токсичності «Кормосану™».....	55
3.6.Обґрунтування оптимальної профілактичної і лікувальної дози «Кормосану™» при мікотоксикозах свиней.....	60
3.7.Ефективності мікосорбентів «Кормосан™» та «Мікосорб» при експериментальному змішаному токсикозі поросят.....	65
3.8. Обговорення власних досліджень.....	68
4. РОЗРАХУНОК ЕКОНОМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ.....	80
5. ОХОРОНА ПРАЦІ	82
6. ЕКОЛОГІЧНА ЕКСПЕРТИЗА ВЕТЕРИНАРНИХ ЗАХОДІВ.....	87
7.ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	92
8.СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	96
9. ДОДАТКИ.....	102

РЕФЕРАТ

Дипломна робота присвячена актуальній проблемі – профілактика мікотоксикозів свиней.

В Україні також проходить стабілізація розвитку галузі тваринництва. За останні п'ять років виробництво м'яса зросло 14,5 разів. Те що за 2006 рік кількість спеціалізованих господарств зросла на 34% дає підстави сподіватись, що тваринництво має можливість подальшого нарощування виготовлення продукції. Проте, незалежно від розмірів господарств, значних збитків галузі наносять заразні хвороби спричинені: бактеріями, вірусами, а також мікози та мікотоксикози .

Нині проблема мікотоксинів набула глобального характеру. Внаслідок підвищення вмісту фотооксидантів в атмосфері (повітряного забруднення) та порушення екологічної рівноваги (у мікоценозах) за інтенсивних технологій обробітку сільськогосподарських культур рослини втрачають стійкість проти фітопатогенів. Зростання мікотоксикозу сільськогосподарських продуктів пов'язане також із широким застосуванням незбалансованих азотних добрив і пестицидів.

З кожним роком проблема мікотоксикозу загострюється. Токсикогени (гриби, що утворюють токсини) швидко пристосовуються до нових

технологій і сучасних пестицидів, при цьому збільшують утворення мікотоксинів у сотні разів.

Від економічного збитку, заподіяного мікотоксинами, застрахуватися практично неможливо. На перший погляд, мінімальні, здавалося б, непомітні втрати в прирості живої маси та інших показниках, а також порушення імунітету, спричинені вживанням із кормом незначних кількостей мікотоксинів, зрештою складаються у величезні збитки. Мікотоксикози свиней проявляються переважно восени і взимку, що пояснюється згодовуванням у цей період зернових, зокрема кукурудзи, пошкоджених токсигенними грибами в полі або на складах.

Особливістю мікотоксинів є їхня стійкість до термічної та хімічної дії, тому вони й переходять у готову продукцію. Мікотоксини можуть спровокувати важкі захворювання в сільськогосподарських тварин, що потім знизить їхню продуктивність або й призведе до загибелі.

В зв'язку з цим метою досліджень було провести удосконалення застосування адсорбентів в умовах свинарських господарств Сумської області.

Метою роботи був пошук найбільш екологічно безпечних діючих речовин і створення на їх основі кормової добавки - детоксикатора та обґрунтування включення його в технологічні схеми годівлі.

Для досягнення мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- провести моніторинг існуючих кормових добавок – детоксикаторів (адсорбентів), що застосовують в Україні;
- провести випробування кормової добавки Кормосан;
- *in vitro* з'ясувати детоксикуючий ефект експериментального препарату;
- визначити оптимально ефективну концентрацію Кормосану відносно основних мікотоксинів;
- обґрунтувати пропозиції щодо рекомендації застосування ефективних адсорбентів при мікозах та мікотоксикозах.

Об'єкт досліджень: фармакологічно-токсикологічні, адсорбтивні та детоксикуючі властивості кормової добавки Кормосан.

Предмет досліджень: кормова добавка Кормосан, адсорбуючі та детоксикуючі властивості кормової добавки, та її ефективність при мітотичному забрудненні кормів.

Методи досліджень: фармакологічні, токсикологічні, мікробіологічні, клінічні, статистичні.

Дипломна робота викладена на 101 аркушному листі і містить всі необхідні розділи, ілюстрована 15-тю таблицями, 4-ма малюнками, в списку використаної літератури наведено 58 джерел.

ВСТУП

На сьогодні розроблено нові, досконаліші, способи заготівлі й переробки кормів, які, за дотримання всіх технологічних вимог, забезпечують тваринництво якісними кормами, не лише збалансованими за вмістом усіх потрібних поживних речовин, а й безпечними в санітарному відношенні. Водночас несприятливі погодні умови, порушення санітарно-гігієнічних вимог збирання, заготівлі та збереження кормових субстратів створюють середовище для розвитку численних мікроорганізмів та грибів, зокрема плісневих, які виділяють токсичні продукти життєдіяльності — мікотоксини.

Основою профілактики мікотоксикозів сільськогосподарських тварин має бути комплекс заходів, спрямованих на запобігання ураженню кормів мікроскопічними грибами на всіх етапах їхньої заготівлі, транспортування, зберігання та використання. Найважливішим елементом у системі профілактичних заходів мікотоксикозів тварин є організація постійного контролю за вмістом метаболітів плісневих грибів у кормах, а в разі виявлення в них грибного ураження — своєчасного та ефективного знешкодження мікотоксинів.

Забруднення рослинної сировини мікотоксинами можливе на всіх стадіях його виробництва, зберігання, переробки та транспортування. Розвитку грибів у кормах сприяє низка чинників: недотримання правильної сівозміни, нехтування агротехнічними прийомами, що сприяють ліквідації збудників захворювань та широке розповсюдження рослинних культур які недостатньо резистентні до фітопатогенів.

Нашою метою було провести пошук найбільш ефективних препаратів – детоксикаторів при використанні кормів вражених грибами та їх токсинами.

Очікуваним результатом було – впровадження в господарстві кормової добавки Кормосан™ для запобігання враження тварин мікотоксинами.

2.ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

2.1. Сучасні поняття про мікотоксикози

Мікотоксикози — отруєння тварин мікотоксинами, що виникають після поїдання кормів контамінованих токсичними грибами родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* тощо.

Серед природних екотоксинів (забруднювачів сільськогосподарської продукції та продуктів харчування) найбільшу небезпеку становлять мікотоксини — низькомолекулярні сполуки, продукти життєдіяльності мікроскопічних грибів [6]. Існує загальносвітова проблема, яка вимагає нагального вирішення, оскільки, багато вчених прийшли до висновку, що безпечних мікотоксинів не існує, а уникнути контамінації кормів токсичними грибами практично неможливо. Найменші їх кількості при надходженні в організм поступово акумулюються і викликають мікотоксикози [16].

Гострі мікотоксикози у сучасному тваринництві виявляються рідко, але мікотоксини в низьких дозах, часто нижче границі визначення, як правило, є причиною низької продуктивності та зниження резистентності організму тварин та птиці [27, 28].

Уже досягнуто вагомих успіхів у встановленні хімічної структури, вивченні фізико-хімічних властивостей, розроблені чутливі методи ідентифікації багатьох мікотоксинів [10]. Найважливішим завданням ветеринарних спеціалістів є своєчасне попередження мікотоксикозів: швидка діагностика, встановлення джерела надходження, ідентифікація мікотоксину, його профілактика та лікування [11].

Найпоширенішими мікотоксикозами тварин є: аспергілотоксикози; пеніцилотоксикози; фузаріотоксикози.

Прояв клінічних симптомів і ступінь впливу токсичності в значній мірі залежить як від типу мікотоксину і його кількості в кормі, так і від віку й фази продуктивності свиней. Молодняк і батьківське поголів'я найбільш чутливі до мікотоксинів.[30, 31]

Розвиток нових систем годівлі й утримання тварин і птиці додає нові аспекти в плані контролю мікотоксинів. Вплив останніх може проявлятися як при сухому типі годівлі, так і при вологому, особливо в останньому випадку, а також при наявності довгого ланцюга кормороздавача, який важко піддається очищенню [33]. Системи утримання, при яких використовується солом'яна підстилка, є додатковим ризиком, особливо, відносно групового утримання свиней. Мікотоксини пригнічують імунну функцію свиней і в остаточному підсумку це може знизити резистентність їх до інфекційних захворювань, реактивувати хронічні інфекції або знизити ефективність вакцин чи дії ліків [34].

Загальні клінічні симптоми, пов'язані з дією мікотоксинів, що ведуть до зниження:

- споживання корму;
- темпів росту;
- імунітету;
- частіше виникають випадки захворювань;
- блювота;

- випадання прямої кишки або піхви;
- нервові явища;
- раптова смерть;
- свині блілого кольору, слабкі;
- фекалії з домішками крові;
- продуктивності свиней;
- аборти;
- невідповідність стандартам вгодованості;
- затримка статевого дозрівання у свинок і хрячків;
- низька якість сперми, зниження фертильності;
- знижене лібідо;
- частіше настають випадки хвороб печінки або нирок [4].

Підсумовуючи огляд літератури про сучасні поняття про мікотоксикози робимо висновок, що дослідження проводились в основному, в напрямку розкриття та з'ясування хімічної будови різноманітних мікотоксинів, їх походження та дії на організм. В подальшому проводилася розробка методів визначення мікотоксинів у кормах та їх діагностика у тварин.

2.2. Характеристика господарства

Сумська область розташована на північному сході України. Відстань від обласного центра до столиці України м. Києва 350 км.

Річки Сумської області належать до басейну Дніпра і здебільшого є його лівими притоками. У долинах річок — численні озера-стариці і болота; багато штучних ставків. Клімат: помірно континентальний. Зима прохолодна, літо не спекотне. Середня температура липня +19 °С, січня -7,5 °С. Максимум опадів випадає влітку у вигляді дощів. У області функціонує велика кількість сільгосп підприємств різних форм власності. Серед найбільших – ТОВ «Псел», ЗАТ «Вікторія», ВСК «Зоря», ТОВ «ім. Тельмана», АФ «ім. Чапаєва» та інші. Агрофірма «ім. Чапаєва» (скорочено

АФ «ім. Чапаєва») створена в 1998 році в результаті реформування колективного сільськогосподарського підприємства «ім. Чапаєва».

Свою господарську діяльність господарство здійснює на території села Слоут яке розташоване біля м. Глухова. Центральний офіс знаходиться в центрі с. Слоут . Господарство знаходиться на відстані 146 км від обласного центру м. Суми.

Дороги на території ферми асфальтовані. Рівень шумів на фермі значно менший за гранично допустимий, що сприятливо впливає на здоров'я тварин. На території господарства періодично проводиться прибирання приміщення та навколишньої території від забруднень, які залишаються після тварин (сеча, кал, кров, гній) механічним способом (вручну): підмітається сміття та миється і чиститься за допомогою щітки, мила, миючих та дезинфікуючих засобів. Гній видаляється за допомогою гноєзбірників. Обробку та знезараження продуктів життєдіяльності тварин (сеча, кал, кров та гній) проводять хімічним способом: рідкі виділення (сеча, мокроти промивні води, змиви з ротової порожнини,) знезаражують за допомогою сухого хлорного вапна (1:2 або 1:5, експозиція 1 година); до твердих виділень (кал) додають воду та препарат у співвідношенні 1:5, експозиція 1 година.

Розтин трупів тварин проводять у спеціально відведеному для цього приміщенні. Розтин проводиться на залізному столі; використовуються такі інструменти : скальпель, ножиці, пінцети, хірургічна пилка. Після проведених маніпуляцій інструменти знезаражують у 2%-му розчині хлорного вапна, потім миють і піддають обробці сухим жаром (виконують у спеціальних одноразових рукавичках, які потім знищують) . Трупи тварин захороняють на скотомогильнику.

Розповсюдження мікотоксикозів в Сумській області є повсюдним, не залежно від географічного розташування регіону. Тому проблема контамінації кормів

мікотоксикозами постає наразі досить гостро і потребує якомога швидшого вирішення.

2.3. Основні види мікотоксинів, що проявляють вплив на організм свиней

Афлатоксини. Афлатоксини продукуються головним чином грибами *Aspergillus flavus* і *Aspergillus parasitium*. Вони проростають в умовах теплого й вологого клімату. [55].

При вологості зерна від 22 до 26% створюються ідеальні умови для продукування афлатоксинів на таких зернових як кукурудза, пшениця, ячмінь і овес [29].

Афлатоксини є канцерогенами, і тому вони розглядаються в ланцюгу продуктів харчування людини. Для свиней вони є найбільш актуальними, тому що викликають екстенсивну патологію печінки.[55].

Отже, незаперечним фактом є надзвичайна небезпечність наявності навіть незначних кількостей афлатоксину в кормах.

Клінічні симптоми: Вони включають в себе зниження швидкості росту тварин й ефективності корму, при високих рівнях вмісту – ураження печінки типу жирового переродження, лобулярний некроз із підвищенням кількості базофілів на периферії печінкової частки й жовчевих протоках [9]. У деяких хронічних випадках може розвиватися цироз і як наслідок – летальний випадок.

Індикаторами, що показують ураження печінки, є підвищена активність гама-глутамілтрансферази (UUN) і лужної фосфатази, також підвищений вміст альбумінів і загального білка [32].

Згодовування тваринам раціонів, що містять афлатоксин може загострити недостатність у свиней вітамінів А і Е поряд з ослабленням імунної функції. Ці тварини сприйнятливіші до будь-яких конкурентних хвороб, таких як грип і мікоплазменна пневмонія й секундарна інфекція [41].

Підвищення рівня афлатоксину до 800 мкг/кг корму призводить до зменшення життєздатного виводку [8].

Ефект від різних типів афлатоксинів на репродукцію свиней кумулятивний. Клінічні ознаки афлатоксикозу: зниження споживання корму; зниження інтенсивності росту; погана конверсія корму; низька продуктивність свиноматок до відтворення; зниження переварювання ліпідів; зміни функції нирок.

Ураження печінки: підвищений рівень гама-глутамілтрансферази; підвищена сироваткова лужна фосфатаза; знижена концентрація сироваткового альбуміну й загального білку; знижена концентрація ретинолу й токоферолу в сироватці крові; дефіцит вітаміну А и Е; ослаблення імунітет.

Допустимий рівень: Передбачається, що рівень афлатоксину в 50 мкг/кг слід вважати рівнем, при якому треба починати вживати які-небудь дії з попередження негативної дії афлатоксинів на продуктивність свиней. Береться до уваги можливість кумулятивної або синергичної дії з боку інших мікотоксинів, які можуть впливати на іммунокомпетентні органи й мінімально відкладатися в м'ясі свиней, що може впливати на здоров'я й безпеку продукції свинарства [35].

Отже, слід зазначити про надзвичайно руйнівну дію афлатоксину на функціональний стан всього організму тварин, особливо нирок та печінки.

Охратоксин. Охратоксин А є найважливішим серед інших охратоксинів, які продукуються деякими видами *Aspergillus (ochraceus)* і *Penicillium (verrucosum)*. Цитринін і щавлева кислота також утворюються цими грибами. Охратоксини поширені повсюдно, й головним чином виявляються у вівсі, ячмені, пшениці й кукурудзі. [26].

Гострий охратоксикоз (концентрація більше, чим 5 мг/кг раціону) характеризується нефропатією (порушена функція нирок), ентеритом жирної печінки, некроз лімфатичних вузлів, імуносупресія разом з іншими

патологічними станами. У гострих випадках смерть може бути викликана гострою нирковою недостатністю. Цікавість до цього мікотоксину була зосереджена на канцерогенній його природі, тому що він може кумулюватися в м'ясі тварин, приводячи до загрози здоров'я людини. У Данії в свинарстві використовують концентрацію охратоксину в нирках, як індикатор для оцінки потенційно небезпечних залишків у свинопродуктах. Клінічні ознаки й посмертні зміни вказують на охратоксикоз, який може бути підтверджений ідентифікацією токсину в кормі або в нирках на при забої [33].

Отже, для галузі свинарства небезпечним також є і охратоксин, що являється одним із індикаторів чистоти продукції свинарства.

Клінічні ознаки: Основні головні симптоми отруєння охратоксином включають зниження інтенсивності росту. Може виникати ураження печінки, але головна дія припадає на нирки, що призводить до інтерстиціального фіброзу. Підвищене споживання води (полідіпсія), і як результат – цей синдром супроводжується підвищеним сечовиділенням (поліурія) [52].

Клінічні ознаки охратоксикозу: знижена продуктивність (споживання корму, інтенсивність росту, конверсія корму); бліді й збільшені нирки – дегенерація канальців, інтерстиціальний фіброз; порушена ниркова функція – гіперпротеїнемія, азотемія; ураження нирок – смертність; підвищене споживання води (полідіпсія) і сечовиділення (поліурія); супресія клітинного імунітету – більша сприйнятливість до інфекцій; знижена якість сперми – зниження запліднюючої здатності – репродуктивна продуктивність; набряк у поросят – зміна руху тварини; виразки травного каналу.

Допустимий рівень: вміст охратоксину в кормах для свиней не повинний перевищувати 50 мкг/кг. Залишкові кількості в м'ясі становлять загрозу для здоров'я людини, але при такому рівні проблеми будуть мінімальні. У комбінації з іншими токсинами охратоксин може пригнічувати у свиней імунітет [55].

Отже, на противагу афлатоксину – охратоксин виявляє вищу тропність до сечовидільної системи, викликаючи надзвичайно тяжкі ураження нирок.

Зеараленон. Зеараленон (F2) продукується в теплих і вологих умовах на різних кормах, а особливо на кукурудзі, штамми грибів *Fusarium graminearum* і *proliferatus*. Це естрогенний токсин, який впливає на репродукцію [31].

Випадання прямої кишки також є загальним симптомом для тварин на відгодівлі. Зеараленон абсорбується з раціону протягом 5 діб після останнього прийому його можна виявити в плазмі крові. [37].

Відбуваються втрати не тільки у виводку, але часто еструс у самок не відновлюється протягом декількох місяців.

Допустимий рівень: Як і ДОН, зеараленон виявлений у прихованій формі, що утрудняє аналіз. Пропонований допустимий рівень зеараленону становить 200 мкг/кг [48].

Зеараленонтоксикоз спричиняє значні патології при надходженні в організм тварин, особливо чітко клінічна картина виявляється на репродуктивних органах та здатності тварин до відтворення.

Фумонізін. Фумонізини продукуються головним чином тільки *Fusarium moniliformae*. Їхня хімічна структура дозволяє їм інгібувати синтез ліпідів. Історично вважалося, що фумонізини становлять небезпеку тільки для коней, але недавно було встановлено, що цей мікотоксин також впливає на свиней [49].

Неприпустимо високий рівень фумонізинів може викликати надмірне потрапляння рідини в тканини легень і обумовити набряк легенів. Згадані вище токсиканти також діють на печінку, викликають жовтяницю й жовто-жовтогаряче фарбування, що виявляється при посмертному огляді [41].

Клінічні симптоми: При токсичних рівнях розвивається набряк легенів і

зниження продуктивності свиней. Може виникати ураження плода й зниження імунітету [36]. Крім того, проявляються наступні клінічні ознаки: зниження продуктивності; ураження плода; гострий респіраторний розлад; набряк легенів; ціанози шкіри; жовтяниця; підвищене співвідношення сфінгамін:сфінгозин (біомаркер; зниження імунного статусу – підвищена сприйнятливність до інфекцій, зниження ефективності вакцинації).

Допустимий рівень: У відношенні до фумонізину в якості граничної концентрації пропонується 200 мкг/кг, тому що при цьому рівні спостерігається імуносупресія. Залишкові кількості в продукції не представляють такої небезпеки, як в інших мікотоксинах [10].

Отже, всі вищепераховані мікотоксини в різній ступені чинять токсичний ефект при надходженні до організму тварин. Навіть за мінімальних кількостей вони викликають порушення та розлади у всіх без виключення органах та системах організму тварин, викликаючи в них тяжкі функціональні та морфологічні зміни. Тому, досконале вивчення впливів токсикантів мікологічного походження на організм тварин та розробка шляхів зниження їх токсичної дії – надзвичайно нагальне завдання сучасної фармакотоксикології.

1.4. Методи визначення мікотоксинів у кормах та діагностика мікотоксикозів у свиней

При підозрі на мікотоксикоз або для виключення ймовірності його прояву, проводять мікотоксикологічні дослідження кормів, що включає 2 групи методів.

Мікологічні методи передбачають виділення з корму мікроскопічних грибів й подальше виділення штамів, які мають токсигенні властивості й продукують мікотксини [14].

Токсикологічні методи направлені на виділення з кормів мікотоксинів, їх ідентифікацію, визначення концентрації й ступеня небезпеки забрудненого корму для тварин.

Відповідно до схеми досліджень санітарно - мікологічний контроль кормів включає відбір проб для досліджень, органолептичний аналіз, мікологічні дослідження, визначення токсичності кормів, а також токсигеності виділених культур міксоміцетів [19].

У випадках проведення діагностичних досліджень, проби відбирають із годівниць (залишки корму, що не з'їли тварини), а також із місць зберігання з поганими органолептичними показниками.

При надходженні в лабораторію корму проводять, перш за все, органолептичний аналіз, видимі клінічні ознаки враження грибами. Корми, що уражені грибами, можуть мати наступні ознаки: потемніння, грибний наліт (чорний або зелений), утворення злежаних шарів [33].

Мікологічні дослідження кормів включають: первинний аналіз, мікроскопію змиву, метод накопичення, виділення грибів із зерна (силосу й т.ін.), кількісне визначення грибів [41].

Найпростішим методом визначення дії токсинів у кормах є дослідження на обмежених групах не племінних тварин або птиці, для яких було виготовлено корми. Втім, цей метод дорогий і тривалий. Власне тому з цією метою використовують модельні біологічні об'єкти (тест-організми), якими можуть бути кролики, білі миші, риби гуппі, інфузорії. Для кожного тест-організму розроблено свою методику біоаналізу [29].

Одним із основних арбітражних методів визначення подразнювальної дії мікотоксинів є шкірна проба на кролях. Сутність методу полягає у виникненні запальної реакції шкіри під дією токсинів, однак таку реакцію викликають тільки мікотоксини дерматонекротичної дії. Недоліками методу є також наявність шкірних алергічних реакцій, не пов'язаних із токсичністю, широкий розкид одержаних результатів, що ускладнює статистичну оцінку.

Тривалість біоаналізу протягом 5-7 діб не дозволяє оперативно видавати інформацію про токсичність проби [54].

Метод визначення мікотоксинів на рибах гуппі полягає в отруєнні риб токсинами, що надходять через зябра безпосередньо у кров, минаючи захисні механізми травної системи, внаслідок чого настає їх загибель. Можливості цього методу набагато ширші, ніж шкірної проби. В даному випадку токсини впливають не тільки на епідермальні клітини шкіри, які мають свою специфіку реагування, а й на організм у цілому. Надходження їх безпосередньо у кров прискорює реакцію відповіді, що дозволяє одержати результати протягом 24 год [27].

Метод визначення токсичності на білих мишах ґрунтується на ентеральному введенні їм екстрактів кормів. При наявності в останніх токсинів відбувається геморагічне запалення травного каналу або загибель мишей. Проба на мишах дозволяє ввести визначену кількість корму через зонд у шлунок і простежити його вплив на весь організм у процесі травлення [18].

Інфузорії також успішно використовуються як тест-системи для визначення токсичності. Вони прості в застосуванні і не вимагають особливих затрат на підтримання культури та проведення досліджень. Даний метод є швидким, вірогідним і доступним, однак дану методику можна використовувати тільки для визначення водорозчинних мікотоксинів [16].

Хіміко-аналітичні методи визначення мікотоксинів поділяються на скринінг методи та кількісні аналітичні методи [37].

Скринінг методи відрізняються відносною простотою і дають можливість швидко і надійно виключати негативні зразки. Найбільш перспективні в цьому варіанті методи мультидетекції мікотоксинів, тобто визначення групи мікотоксинів [55].

Кількісні аналітичні методи визначення мікотоксинів діляться на хімічні, імунологічні й імуноферментні. До цієї групи методик пред'являють відповідні вимоги, щодо специфічності відтворюваності й точності аналізу.

Практично всі системи досліджень з визначення мікотоксинів включають три основні етапи: відбір зразка для дослідження; стадія виділення; стадія ідентифікації й кількісного визначення; аналіз отриманих результатів й підготовка висновку [12].

Відбір матеріалу для досліджень проводиться у відповідності до загальноновизнаних правил, ДСТів та інших нормативних документів.[56].

Стадія виділення складається з 2 етапів: екстракції, тобто відокремлення мікотоксину від субстрату, й очищення, тобто відокремлення мікотоксину від сполук з близькими фізико-хімічними властивостями.

Екстракція мікотоксинів здійснюється, зазвичай, шляхом змішування зразка з полярними й неполярними органічними розчинниками (залежно від властивостей передбачуваного мікотоксину). Для очищення екстрактів використовують різноманітні методичні прийоми: перерозподілення у системі рідина-рідина, виморожування й осадження, колончасте очищення, ультрафільтрація [31].

Щодо наявності методів діагностики мікотоксинів у світі, слід зазначити, що повідомлення в літературі свідчать про те, що в основному використовуються метод тонкошарової, газової і рідинної хроматографії, а також метод ІФА або ELISA [12].

Широко також розповсюджені експрес-тести з візуальною оцінкою. Наприклад: тест-набори FluoroQuant і експрес-тести ALFA CUP, австрійської фірми "ROMER LABS", що призначені для визначення мікотоксинів у польових умовах з візуальною оцінкою (<ε – нема >) з 2 межами визначення: 10 і 20 мкг/кг [13].

Отже, повсюдне розповсюдження мікотоксикозів спонукало до розробки та впровадження різноманітних методик визначення мікотоксинів у

різноманітних продуктах кормового походження. Ефективність кожного з них різна, проте в сукупності вони досить високоефективні, хоча і потребують для їх проведення значних коштів.

2.5. Профілактика та лікування свиней за виникнення мікотоксикозів

На сьогодні розроблено нові, досконаліші, способи заготівлі й переробки кормів, які, за дотриманням усіх технологічних вимог, забезпечують тваринництво якісними кормами, не лише збалансованими за вмістом усіх потрібних поживних речовин, а й безпечними в санітарному відношенні. Водночас несприятливі погодні умови, порушення санітарно-гігієнічних вимог збирання, заготівлі та збереження кормових субстратів створюють середовище для розвитку численних мікроорганізмів та грибів, зокрема плісневих, які виділяють токсичні продукти життєдіяльності – мікотоксини [48].

Вирішальний вплив на стан кормів і ступінь ураження їх мікроорганізмами мають і умови зберігання: вологість, температура навколишнього середовища, тривалість зберігання до висушування. [14].

Зерно після збирання врожаю слід негайно висушити до вмісту вологи 13–15% для припинення життєдіяльності грибів, а потім охолодити вентиляванням до температури зберігання. Особливе значення в профілактиці отруєнь сільськогосподарських тварин належить санітарній оцінці зерна кукурудзи. Зазвичай, на зберігання надходить кукурудза з підвищеною вологістю, тому її зерно найчастіше уражується плісневими грибами, особливо до такого ураження сприйнятливі гібриди кукурудзи [49].

Одночасно, під час виробництва кормів треба систематично дотримуватися чистоти технологічних ліній, устаткування, своєчасно усувати

джерела вологи, проводити регулярну аерацію зерна, запобігати заселенню гризунами [49].

Найважливішим елементом профілактики мікотоксикозів тварин є постійний контроль за вмістом мікотоксинів у кормах на всіх етапах виробництва. Одним із показників санітарного стану кормів, зокрема зерна, є дані про кількість спор грибів у 1 г корму [150]. Згідно з методичними вказівками щодо санітарно-мікологічного дослідження кормів, фуражне зерно, у 1 г якого виявлено 500 тис. спор і більше можуть спричинити отруєння свиней на відгодівлі [51].

Солому й полу, уражені токсичними грибами, категорично забороняється згодовувати й використовувати для підстилки. Таку соломку спалюють [52]. Для знешкодження зерна й зернофуражу, ураженого плісневими грибами, використовують хімічні препарати: піросульфід натрію, піросульфід калію, соду кальциновану, аміачну воду та ін. [54].

Слід виділити, що донині як технології своєчасного висушування корму та зберігання його в модифікованому газовому середовищі, так і більшість методів детоксикації уражених грибами кормів, залишаються практично важкодоступними та дорогими. До найбільш поширених практичних засобів обробки корму для руйнування токсинів належать вуглеамонійні солі (ВАС). Обробку зерна ВАС проводять протягом чотирьох-дев'яти тижнів, а в разі сильнішого забруднення й довше. Токсичність зерна за цих умов зменшується протягом 25 діб. ВАС, до того ж, відлякує гризунів, згубно діє на комах, що важливо для профілактики ураження корму грибами. Водночас обробка корму ВАС сприяє покращанню його поживної якості за загальним, небілковим, азотом та не впливає негативно на смак. [58].

Заходи профілактики та лікування тварин на мікотоксикози мають бути комплексними та базуватися на мікотоксикологічному контролі кормів на всіх стадіях виробництва, зберігання, переробки, транспортування і згодовування

тваринам та птиці. При підтвердженні мікотоксикозу необхідно виключити з раціону корм, який викликав захворювання [20].

Застосовують симптоматичне лікування та сорбенти. Дія сорбентів базується на властивості виводити мікотоксини із травного каналу. Недоліком матеріалів, що мають властивість сорбувати, є невисока специфічність, а тому можуть зв'язуватись поживні речовини корму (незамінні жирні кислоти, вітаміни, амінокислоти) й лікарські препарати [18].

Для відновлення поживної цінності ураженого грибами корму вводять у раціон соняшникову олію 0,5-1 %, оксид магнію або оксид алюмінію. Додавання в корм цих компонентів попереджує всмоктування мікотоксинів, що містяться в кормі, і тим самим зменшує отруєння [21].

Отже, для недопущення мікологічного ураження кормів та детоксикації уражених токсинами – розроблена низка методів санітарного контролю та знешодження. Нажаль, методи детоксикації сприяють лише частковому знезараженню уражених токсинами кормів, тому надзвичайно важливим є дотримання комплексу заходів щодо попередження ураження мікотоксикозами кормів.

Профілактика мікотоксикозів може здійснюватись в таких основних напрямках: механічна обробка, обробка зерна хімічними та біологічними методами.

Механічна обробка включає в себе висушування зерна до вмісту вологи 13-15 %, та зберігання зерна в провітрюваних вітром сапетках під дахом [44].

Значне зниження рівня забрудненості зерна мікотоксинами може бути досягнуте за допомогою просіювання та провіювання. Видаленню великої частини мікотоксинів сприяє шелушіння та видалення покривного шару зерна. Зерна, забруднені афлатоксином, можливо видалити за допомогою електронної кольоросортировки завдяки властивості афлатоксину флуоресціювати в ультрафіолетових променях. Висока концентрація афлатоксину значно корелює з низькою щільністю зерна, тому рівень

забрудненості можна знизити шляхом розділення на фракції по щільності або флотацією [2].

Іноді концентрацію мікотоксинів в кормі зменшують шляхом змішування партій зерна контамінованого мікотоксинами та партій доброякісного зерна. В роки з великим рівнем забруднення мікотоксинами зерна це не справляло ефекту та було небезпечним для здоров'я людини, тварин та птиці [4].

За допомогою хімічних речовин також проводять профілактику мікотоксикозів. Зруйнування мікотоксинів досягається після обробки кормів розчинами кислот та лугів, однак використання таких методів ускладнено в наслідок агресивності середовищ. Було випробувано велику кількість різних хімічних речовин відносно їх можливості викликати деконтамінацію зерна або корму, і декілька речовин виявились ефективними, однак усі вони – за виключенням аміаку та бісульфіту – виявились непрактичними або викликали утворення в зерні токсичних залишків [55].

Більша частина досліджень з визначення мікотоксинів та протеїну (амінокислот) проведена з афлатоксинами, які, як відомо, інгібують синтез ДНК та протеїну в печінці, що позначається на усіх функціях організму птиці. Razzazi-Fazeli E. et al [9] повідомили, що збільшення в раціоні протеїну до 30% забезпечує захист проти афлатоксину.

Виходячи з вищенаведеного робимо висновок, що для профілактики мікотоксикозів розроблено багато методів, але, нажаль, більшість з них малоефективні. На сьогоднішній день найбільш перспективними є біологічні методи, які потребують подальшого вивчення .

Використання сорбентів. Розробка препаратів, які містять сорбуючі матеріали, складається із трьох етапів: 1) дослідження сорбційної властивості, щодо мікотоксинів й поживних речовин *in vitro*; 2) досліди на тваринах з вивчення профілактичної дії препарату при введенні в корм визначеного токсину в різних концентраціях; 3) вивчення профілактичних властивостей

при згодовуванні тваринам корму, що був контамінований природно. В останньому випадку необхідно провести максимально повний аналіз корму на вміст мікотоксинів [18].

Запропонована кормова добавка «Кормосан™» містить у своєму складі наступні активні компоненти: двоокис кремнію – 58,5 %, оксид алюмінію – 14,25 %, оксид калію – 2,28 %, оксид кальцію – 1,76 %, оксид заліза – 1,16 %, оксид натрію – 0,85 %, карбонат магнію – 0,85 %, оксид магнію – 0,55%, двоокис титану – 0,21%, селен – 0,2 %, інактивовані дріжджі (*Saccharomyces cerevisiae*) – 5 %, сухі пивні дріжджі – 5 % .

Наявна композиція лужних алюмосилікатів та слоєваних силікатів в харчовому каналі тварин на молекулярному рівні адсорбує незворотнім шляхом наявні в кормах мікотоксини, що перешкоджає всмоктування їх стінками травного каналу та забезпечує подальше виведення з організму в складі калових мас. Елементи дріжджових культур, що несуть біологічно-активні речовини, сприяють нормалізації роботи печінки, травного каналу та підвищенню неспецифічного імунітету організму тварин [11].

При проведенні експериментів на тваринах необхідно приділяти увагу не тільки позитивним, але й негативним ефектам дії сорбентів. Відомо, що для оптимального вибору сорбенту потрібно враховувати його полярність. Наприклад, алюмосилікати активні тільки у відношенні до полярних мікотоксинів, насамперед, афлатоксинів. Мікотоксини, які не містять полярних груп, наприклад Т-2 токсин, фумонізиди й зеараленон, адсорбуються полярними сорбентами менш ефективно. Наприклад, не вдалося запобігти токсикозів, які спричиняють трихотецени типу "А" (Т-2 токсин й діацетоксіцирпенол), за допомогою алюмосилікатів [12].

Для зв'язування гідрофобних мікотоксинів доцільно застосовувати неполярні сорбенти, такі як активоване вугілля. Здатність активованого вугілля адсорбувати охратоксин А й Т-2 токсин достатньо ефективно проявляється при внесенні його в корм у концентрації 5-10 %. [15].

Застосування пробіотиків. Профілактична дія пробіотиків при мікотоксикозах базується на двох основних принципах: синтез ферментів, які трансформують мікотоксини в безпечніші продукти, та сорбція мікотоксинів компонентами бактеріальної клітинної стінки. Крім того, пробіотичні мікроорганізми мають властивість синтезувати деякі речовини, які сприяють покращенню фізіологічного стану організму тварини й підвищенню продуктивних якостей. До таких речовин відносяться органічні кислоти, які нормалізують рН середовища травного каналу, антибіотики - пригнічують життєдіяльність патогенних мікроорганізмів, гідролітичні ферменти - підвищують біологічну доступність поживних речовин корму, й вітаміни [16].

2.6. Висновок з огляду літератури

Мікотоксини поширені на всіх континентах та можуть розвиватися в різних кліматичних зонах й завдавати проблем в усіх галузях сільського господарства й в подальшому впливати на здоров'я людини. Саме тому розробка методів профілактики, діагностики та лікування мікотоксикозів досить важлива. Літературні дані свідчать про те, що проблема поширення мікотоксинів у світі, їхнього негативного впливу на сільське господарство та розробки ефективної боротьби з мікотоксикозами є надзвичайно актуальною та невирішеною в повному обсязі і досі [56].

Слід зазначити, що в наш час вироблено досить велику кількість лікувальних та профілактичних препаратів. Виділяємо, що розробка методів профілактики і лікування за допомогою ентеросорбентів також вимагає постійного вдосконалення. Адже на сьогоднішній день не існує ідеального сорбенту, який би відповідав наступним вимогам: мати комплекс з'єднань:

мінерали, природній адсорбент; здатність адсорбувати широкий спектр мікотоксинів особливо тих, які часто трапляються у кормах: афлотоксини, охратоксини, трихоцени, Т-2 токсин, зеараленон; комплекс адсорбент+мікотоксин повинен повністю виводитись із організму; мати низькі норми введення в раціон; технологічність: рівномірно розподілення в кормі в процесі змішування, відсутність розшаровування; мати високу термостабільність при виготовленні кормів; зберігати активність при довгостроковому зберіганні кормів; не зв'язувати вітаміни, мікроелементи, лікарські та інші біологічно активні речовини; мати високу адсорбуючу активність в широкому діапазоні рН середовища; бути не токсичним для організму.

Мікотоксикози свиней це доволі складна і актуальна проблема не тільки в Україні, а і в усьому світі. Нажаль на ринку зареєстрованих сорбентів та кормових добавок проти мікотоксикозів немає вітчизняного препарату. Всі вони дорогі, й не проявляють бездоганної сорбційної дії, щодо мікотоксинів поширених на території України, тому питання розробки вітчизняного мікосорбенту потребує нагального вирішення.

На основі цього слід зауважити, що вибрані нами напрямки дослідження, щодо розробки вітчизняного мікосорбенту є перспективними і актуальними на сьогодні.

Вище викладене дозволило нам визначити наступні напрямки власних досліджень: визначити *in vitro* оптимальне відсоткове співвідношення складників нового мікосорбенту; встановити параметри токсичності нового препарату «Кормосан™» на лабораторних тваринах та свинях; розробити технічні умови, настанови та листівки-вкладки щодо застосування препарату «Кормосан™» та інші нормативні документи для реєстрації нового засобу для профілактики мікотоксикозів свиней; розробити рекомендації щодо застосування «Кормосану™» у комплексі лікувально-профілактичних заходів при мікотоксикозах свиней; обґрунтувати економічну ефективність

застосування створеного препарату; провести моніторинг мікотоксинів в різних регіонах України, їх видову наявність та рівень ураження кормів.

3. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Матеріали і методи досліджень

Дипломна робота виконувалась впродовж 2011-2013 рр. на базі кафедри ветеринарно-санітарної експертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету і кафедри патологічної анатомії медичного факультету Сумського державного університету, науково-виробничій лабораторії ТзОВ «Бровафарма» м. Бровари, та в ряді спеціалізованих господарств з виробництва свинини Сумської області.

Моніторинг мікотоксинів й визначення їх видового складу в комбікормах, які використовувалися в господарствах Сумської області, проводили за методикою кількісного експрес визначення мікотоксинів у зернових культурах, кормах та кормових добавках за допомогою тест-системи Рідаскрін фаст виробництва фірми R-Biopharm AG. Обробку результатів

проводили за допомогою програмного забезпечення Ridasoft. Визначення Т-2 токсину у комбікормі проводили за допомогою мікробіологічного методу запропонованого О.В. Труфановим (2009)

Відбір проб кормів було проведено у 5 господарствах Сумської області: ТОВ «Псел» і ЗАТ «Вікторія» Краснопільського району та ВСК «Зоря» і «ТОВ ім. Тельмана» Роменського району, агрофірма «Чапаєва» Глухівського району. З метою профілактики та лікування мікотоксикозів свиней було розроблено новий вітчизняний адсорбент «Кормосан™». Також цей препарат спроектовано для прискорення звільнення організму тварин від негативних наслідків, викликаних мікотоксинами.

У рецептурі Кормосану™ використовуються дріжджові культури. Контроль вмісту дріжджів ми проводили згідно методики непрямого визначення вмісту дріжджів.

Хід приготування стандартного розчину: в скляну пробірку для центрифугування з поділками об'ємом 15 мл поміщали $0,050 \pm 0,001$ г хітину (Aldrich, Gillingham, Dorset, UK) та додавали 0,5 мл етанолу. До вмісту пробірки додавали 4 мл розчину КОН з концентрацією 55%. Пробірку нагрівали до температури 130°C та витримували за зазначених умов протягом 60 хв. Після охолодження зразку до кімнатної температури до нього вносили 8 мл 75 % етанолу, охолодженого за температури -20°C та відразу поміщали в морозильну камеру за температури -20°C на 15 хв. Після цього до розчину додавали 0,9 мл суспензії сорбенту Celite 545 (суспензію готували додаванням до 1 г сорбенту 20 мл 75% етанолу). Після змішування та центрифугування (за обертання ротора 2500 об/хв. упродовж 10 хв.) надосадову рідину відділяли, а осад промивали 8 мл 40% етанолу, охолодженого за температури -20°C . В такому ж режимі повторно центрифугували і після цього осад тричі промивали дистильованою водою. До промитого осаду додавали 2 мл 0,3 М розчину KHSO_4 та 2 мл 0,6 м розчину NaNO_2 . Об'єм пробірки доводили дистильованою водою до 5 мл.

Вміст пробірки перемішували протягом 15 хвилин і знову центрифугували. Після цього в чисту пробірку переносили 2 мл розчину проби, одержаного після проведеного центрифугування і додавали до нього 0,5 мл 3,28 М розчину $\text{NH}_4\text{SO}_3\text{NH}_2$ та 0,25 мл 0,055 М розчину 3-метил-2 бензотіазолону гідразину (розчин готували безпосередньо перед проведенням аналізу). Розчин зразка нагрівали протягом 3 хв на водяній бані за температури 100°C .

Після охолодження до розчину проби додавали 0,5 мл 0,026 М розчину FeCl_3 (розчин готували безпосередньо перед проведенням аналізу). Вміст пробірки перемішували і залишали до повного завершення кольорової реакції протягом 30 хв.

Хід приготування дослідного розчину: в поліпропіленову пробірку для центрифугування об'ємом 50 мл поміщали $3,0 \pm 0,005$ г Кормосану™, додавали 10 мл хлористого метилу та озвучували на ультразвуковій бані протягом 10 хвилин. Суспензію центрифугували 10 хв. за швидкості обертання ротора 2500 об/хв. Шар хлористого метилу відкидали, а осад повторно промивали 10 мл хлористого метилу, повторювали операцію екстрагування тричі. Одержаний після останньої операції екстрагування осад, мінералізували протягом 6 годин, додаванням до осаду в пробірці 5 мл 1 М розчину хлоридної кислоти. Після повторного центрифугування в попередньому режимі, осад промивали дистильованою водою до нейтрального значення рН середовища. Залишки промивної води видаляли і до осаду обережно додавали 5 мл суміші $\text{HCl} + \text{HF}$ та витримували зразок у витяжній шафі за кімнатної температури протягом 24 год.

У подальшому осад промивали дистильованою водою і тим же методом центрифугували та ще раз промивали 2 мл метанолу та 2 мл хлористого метилу. Отриманий осад кількісно переносили в мірну скляну пробірку для центрифугування та зволожували додаванням 0,5 мл етанолу. До вмісту пробірки додавали 4 мл розчину КОН з концентрацією 55%. Пробірку нагрівали до температури 130°C та витримували протягом 60 хв. Після

охолодження зразка до кімнатної температури, до нього додавали 8 мл 75% етанолу, охолодженого за температури $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ та на 15 хв поміщали до морозильної камери за температури $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Після цього до зразка додавали 0,9 мл сорбенту Celite 545 (суспензію готували додаванням до 1 граму сорбенту 20 мл 75% етанолу), змішували і центрифугували в вищеназваному режимі. Після цього надосадову рідину відділяли, а осад промивали 8 мл 40% етанолу, охолодженого за температури $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ та повторно центрифугували і після центрифугування осад тричі промивали дистильованою водою.

До промитого осаду додавали 2 мл 0,3 М розчину KHSO_4 та 2 мл 0,6 М розчину NaNO_2 . Об'єм пробірки доводили дистильованою водою до 5 мл. Вміст пробірки перемішували протягом 15 хвилин і центрифугували в вибраному режимі. Після цього в чисту пробірку переносили 2 мл розчину проби і додавали до нього 0,5 мл 3,28 М розчину $\text{NH}_4\text{SO}_3\text{NH}_2$ та 0,25 мл 0,055 М розчину 3-метил-2 бензотіазолону гідразину (розчин готували безпосередньо перед проведенням аналізу). Розчин зразка нагрівали протягом 3 хвилин на водяній бані за температури $100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Після охолодження до розчину проби додавали 0,5 мл 0,026 М розчину FeCl_3 (розчин готували безпосередньо перед проведенням аналізу). Вміст пробірки перемішували і залишали до утворення кольорової реакції протягом 30 хв. Інтенсивність забарвлення вимірювали за допомогою фотоколориметра при довжині хвилі 640 нм проти нульового зразка, який готували паралельно із приготуванням проби з додаванням усіх реагентів, та порівнювали з приготовленим стандартом (методика розроблена Розпутнім М.В., Гузь Ю.А.)

Токсичність «КормосанTM» визначали згідно методик з токсикологічного контролю нових засобів захисту тварин (2006). Дослідження проводили на культурі клітин за методикою Цибульського Д.В. та Фотіної Т.І (2008). Для цього використовували лінію клітин ІРЕС-1, що була отримана з кишкового епітелію клубової та голодної кишок новонародженого поросяти [].

Для запобігання токсичного впливу диметилсульфоксиду на клітини, розморожування клітин проводили швидко. Суспензію клітин ставили у водяну лазню (37-40 °С) до моменту, коли вона почала розчинюватися. Потім її перенесли у флакон з живильним середовищем й центрифугували 10 хв. При 1500 об/хв. Далі клітини внесли у пластиковий флакон (об'єм 75 см²) і – в термостат. При використанні клітин у дослідах проводили 1-2 пасажі після розморожування.

Для підтримання росту й життєдіяльності клітин використовували живильне середовище, яке складалося із: середовища DMEM HAM F-12 – Sigma, USA, сироватки телячого ембріону, L- глютаміну (200мМ) виробник – Eurobio (Франція), водного розчину антибіотиків (пеніциліну й стрептоміцину) по 10 000 ul/ml, рідини ITS (інсулін-(5µg/ml), трансферин (5µg/ml) й селен (5ng/ml)) та EGF – (епідермальний фактор росту) – 100µg/ml.

Для диференціації склад середовища був аналогічний, але замість сироватки телячого ембріону використовували дексаметазон.

Через кожні 5-7 діб проводили пересівання клітин, за цих умов кількість клітин для наступного пасажування дорівнювала приблизно $0,4-0,7 \cdot 10^6$, які розміщувалися у пластиковому флаконі об'ємом 75 см³ в 25-30 мл живильного середовища.

Клітини, готові для пасажування трипсинізували, центрифугували й розчиняли у формі суспензії в живильному середовищі. Концентрацію клітин визначали шляхом підрахування у камері Neubauer. Для цього клітини спочатку були пофарбовані блакитним трипаном. Рахували у полях під числами 1, 2, 3, 4 у напрямку, зазначеному на рисунку. Повторили цю процедуру на двох площах, що наявні на камері. Визначили середнє арифметичне, й отримали концентрацію клітин: $X \cdot 10^4$. Беручи до уваги, що суспензія клітин була розведена з фарбником із розрахунку 1:4, отриману концентрацію помножуємо на 5, й перераховуємо у $X \cdot 10^6$, що є числом клітин у 1 мл.

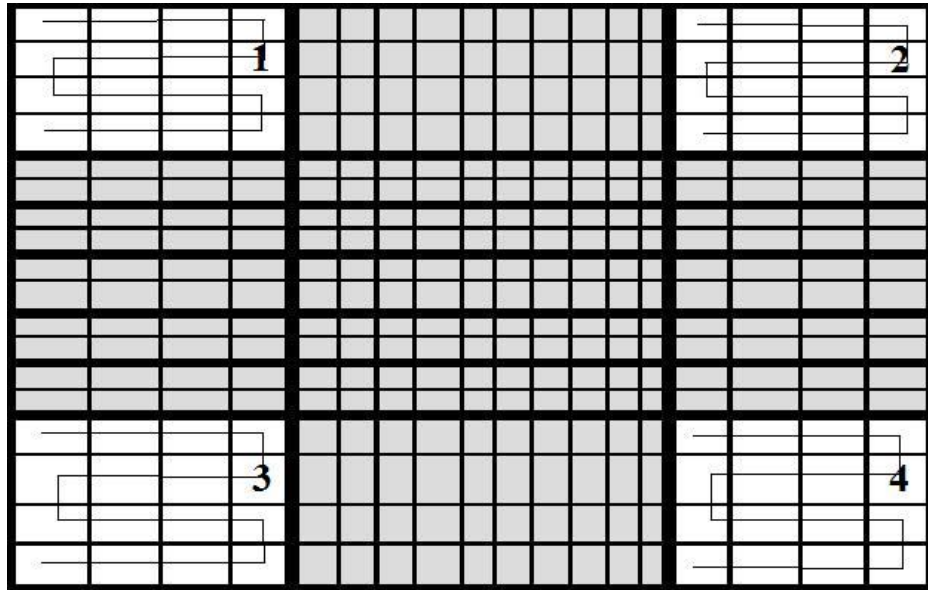


Рис. Рахування клітин у камері Neubauer

Клітини залишили в термостаті при температурі 39 °С і наявності вуглекислого газу 5 %.

Процес заморожування клітин проводили в декілька етапів. Спочатку видалили залишки живильного середовища із флакона – для цього провели центрифугування (10 хв., 1500 об/хв.). Отриманий осад клітин гомогенізували. Відтак їх розчинили у 1мл суміші сироватки ембріону теляти 90 % й ДМСО 10 %. Для заморожування рекомендується концентрація не менше 5 млн. клітин у 1 мл.

Клітини перенесли у криогенний флакон (1 мл суспензії клітин/флакон), на якому зазначили тип клітин, кількість клітин у флаконі й дату заморожування. Вподальшому флакон помістили в криоконтейнер та в морозильну камеру (t – 80С). Використання криоконтейнера необхідне для запобігання руйнування суспензії клітин, так як він знижує температуру поступово – 1 °С за 1 хвилину. Через 24 години суспензію клітин перенесли в рідкий азот для подальшого зберігання.

У дослідях із визначення рівня токсичності трихотеценових мікотоксинів на культурі клітин ІРЕС – 1 спостерігали за ростом культури

клітин під дією ДОНу в різних дозах, ніваленолу, 15-О-Ацетил-4-деоксиніваленолу та 3-ацетилдеоксиніваленолу протягом 24 та 48 годин.

Для цього використовували 4 чарунки для кожної проби. Перша проба – 4 чарунки з середовищем, інші 4 – з клітинами без токсину – контрольні протягом усього досліджу. Наступні 16 чарунок – з клітинами для токсину. Досліджували кожний токсин в чотирьох дозах (1 μM ; 10 μM ; 20 μM ; 50 μM). У кожну з чарунок для клітин поміщали 100 μl клітин у концентрації 5000 ϕ /чарунку й залишали в термостаті на 24 години при t 38⁰C за наявності CO₂ на рівні 5 %. На 24-у годину, до чарунок з клітинами вносили токсин у відповідно визначеній дозі, й залишали в термостаті на 2 доби за тих же параметрів.

По закінченню терміну, в усі 24 чарунки (середовище + клітини + клітини з токсином) внесли розчин MTS в кількості 20 μl й залишили в термостаті на 4 години, по закінченню яких за допомогою спектрофотометра (Tecan) визначили результат, що базувався на інтенсивності зниження росту клітин залежно від дози токсину.

У досліджах із визначення кількості ензиму лактатдегідрогенази (LDH) проводили визначення кількості цитозолічного стійкого ензиму, що виділився в процесі лізису клітин кишечника свині (IPEC-1) у живильне середовище, під дією трихотеценових мікотоксинів: деоксиніваленолу, ніваленолу, 15-О-Ацетил-4-деоксиніваленолу та 3-Ацетилдеоксиніваленолу. Його визначення базувалося на колориметричному методі, що був реалізований за допомогою комерційного набору CytoTox 96 – Non-Radioactive Cytotoxicity Assay (Promega, Charbonnières les bains, Франція). Вимірювання здійснювалось на основі оцінки конверсії тетразолійної солі в сполуку червоно-коричневого кольору – формазан. Кількість формазану, що утворилася, визначали за допомогою спектрофотометра (Tecan). Вона є прямопропорційною до кількості лізованих клітин.

Для вимірювання використовували фільтри для культури клітин (cell culture inserts) площею 0,3 cm^2 , по 1 для кожного зразку (контроль, ДОН,

ніваленол, 15-АДОН та 3-АДОН). У кожен із них додавали 0,5 мл клітин у концентрації 100000 ϕ / фільтр. Зовні також додали середовище – 1 мл. На 2-3 добу, коли клітини розмножились у фільтрі, замінили середовище для проліферації на середовище, яке сприяє диференціації клітин. На 10-у добу, коли клітини повністю диференціювалися, замінили середовище й додали токсини в кількості 55 μ л концентрацією 50 μ М. Власне таким чином фінальна концентрація для кожного токсину у розчині становила 5 μ М. За 48 годин відібрали середовище для експерименту.

Протягом досліду зразки залишали в термостаті при t 39⁰С за наявності CO₂ на рівні 5 %.

Наприкінці досліду живильне середовище із фільтрів відібрали і центрифугували (350 g, 10 хв), щоб видалити клітини, які знаходились в ньому, а не на мембрані фільтру. При цьому підтримували температуру середовища – 20⁰С до аналізу. Його об'єм вимірювали під час відбору.

Щоб остаточно завершити лізис клітин зробили 2 цикли заморожування-розморожування. Клітини, які були адгезовані у фільтрі, лізували двічі за допомогою 300 μ л живильного середовища DMEM, що містить 0,08% розчину Triton X100 (Sigma). Центригуванням (350 g, 10 хв.) залишки клітин видаляли, а середовище заморозили, попередньо вимірявши об'єм лізисного розчину.

Щоб вирахувати дійсний показник цитотоксичності без впливу лактатдегідрогенази використали середовище культури без клітин, що знаходилось ззовні фільтра. Дозування здійснили у формі триплетів у кількості 50 μ л для живильного середовища, в якому клітини проростали й розмножувались, і для лізисного розчину (DMEM + Triton X100).

Для проліферації клітин використовували живильне середовище, яке складалося із: середовища DMEM HAM F-12 – Sigma (USA), сироватки ембріону теляти, L- глютаміну (200 мМ), рідини ITS (інсулін-(5 μ г / мл), водного розчину антибіотиків (пеніциліну й стрептоміцину) по 10000 ul / мл,

трансферин (5 $\mu\text{г}$ / мл), селен (5 нг / мл)) та EGF (епідермальний фактор росту) – 100 $\mu\text{г}$ / мл.

Для диференціації використовували такий самий склад, але замість сироватки ембріону теляти додавали дексаметазон (20 $\mu\text{г}$ / мл).

При проведенні досліду з використанням розчину ізотіоціанату декстрану ми провели визначення ступеня міжклітинної проникності, яка змінилась під дією трихотеценових мікотоксинів.

Крім того, використано по 1 фільтру для кожного з токсинів + фільтр для «контролю».

На 48-му годину до фільтра додали флюорисцентний розчину ізотіоціанату декстрану (молекулярна маса 4 кДа, Sigma, USA), попередньо видаливши 50 $\mu\text{л}$ середовища із фільтру. За 1 годину відібрали середовище із базолатеральної частини фільтра й виміряли його флюорисцентну інтенсивність за допомогою флюориметру LS50B, Perkin Elmer (Courtaboeuf, Франція). Міжклітинна проникність була визначена шляхом оцінки ступеня флюоресценції, вирахованого у відібраному з базолатеральної частини середовищі. Результати досліджень виражали в довільних одиницях флюоресцентної інтенсивності, без попередньо відокремленого від них показника, який був отриманий для середовища культури.

Доведено, що деоксиніваленол активує МАПКіназний сигнальний шлях у клітинах й знижує експресію трансмембранних білків Клодин 3 та Клодин 4 [205 дима]. Тривалість експозиції клітин з токсинами становила 48 годин для Клодинів та 2 години для МАПКіназ. Кінцева концентрація токсинів у розчині становила 5 $\mu\text{М}$ та 30 $\mu\text{М}$ відповідно.

Протеїни в кількості 15 $\mu\text{г}$ були розподілені в SDS-PAGE й переміщені на нітроцелюлозні мембрани. Мембрани були блоковані у розчині TBS-Tween 5% сухого молочного протеїну а потім інкубовані первинними антитілами: кролів для Клодин -3, b-актину, фосфорильованої й звичайної форми p38 та фосфорильованої форми p42-44 (Cell Signaling, Danvers, MA), та мишачі для

Клодин-4 (Zymed Laboratories), що були розведені в розчині TBS + 0,5% молочного розчину.

На наступному етапі мембрани промили й інкубували вторинними антитілами – кон'югованим для мишей IgG (Sigma) розведеним 1:10000 для визначення Клодину-4 та кон'югованим кролячим IgG (Sigma) розведеним 1:7000 для визначення Клодину-3 та МАПКіназ. Визначення результатів ми проводили за допомогою хімілюмінісцентного субстрату MILLIPORE (Pierce, Brebieres, Франція) після розміщення мембрани на плівці Hyperfilm™ (Amersham Biosciences, Buckinghamshire, Великобританія). Інтенсивність сигналу була оцінена за допомогою Molecular Imager® Gel Doc™ й програми Quantity One® (Biorad Laboratories Inc., Франція).

Виходячи зі складу компонентів, що використовуються при виготовленні «Кормосану™», після серії попередніх експериментів, було вибрано метод атомної абсорбційної спектрофотометрії зольних елементів та мікроелементів, як один з найбільш доцільних для використання у подібному виробництві.

Сорбуючу ефективність «Кормосану™» проводили у порівнянні з активованим через 30 хв. після внесення токсину до сорбенту, так і через 1, 12 і 24 години від початку досліду. Під час дослідження, за початкову кількість досліджуваного сорбенту брали рекомендовану виробником дозу.

Визначення наявності мікотоксинів проводили методом тонкошарової хроматографії згідно МВ – 15–14/73 «Скринінг-методу одночасного виявлення афлатоксину В1, патуліну, стеригматоцистину, Т-2 токсину, зеараленону та дезоксиніваленолу»

Токсикологічний контроль «Кормосану™» проводили біопробою з використанням інфузорій Колподи *Colpoda Stenii*.

У ході експерименту за першим методом визначення гострої токсичності експериментального мікосорбенту «Кормосан™» проводили за допомогою стандартної комерційної серії (№59) культури інфузорії колподи,

виготовленої в ТзОВ «Відродження» (м. Одеса), відповідно до вимог ТУ У 46.15.243-97. Даний метод заснований на вилученні з досліджуваних продуктів різних фракцій токсичних речовин дистильованою водою та подальшою дією цих екстрактів на культуру інфузорії *Colpoda Steinii*.

Визначення токсичності препарату полягало в послідовному виконанні наступних процесів: підготовка інфузорій, приготування живильного середовища та водного екстракту продукту, проведення досліджень й оцінка його результатів.

Живильне середовище готували за рецептом: пептону – 120 мг, екстракт дріжджів – 6 мг, глюкози фармацевтичної – 30 мг, розчину Лозіна-Лозінського – до 1 дм³. Отриману суспензію автоклаували при 1 атм. упродовж 30 хв. і стерильно розливали у флакони для антибіотиків, які закривали гумовими корками і заковували алюмінієвими ковпачками.

Для проведення одного дослідження відкривали два флакони, на стінках яких прикріплені цисти і спори культури колподи, та один флакон з живильним середовищем. У кожний флакон з культурою колподи вливали по два мл живильного середовища, закривали ватно-марлевым корком і залишали у термостаті на 24 години при температурі 26° С. Після цього витримували на світлі 10 хв. Далі методом «розтисненої» краплі, культуру колподи досліджували під мікроскопом (при збільшенні 150^x разів). У полі зору повинні були активно рухатися не менше 5 клітин колпод.

Проби зразків препарату масою 20±0,1 г вносили в колбу ємкістю 250 мл і додавали 100 мл дистильованої води. Колбу із таким вмістом струшували на шутель-апараті із швидкістю 120 об/хв.. упродовж 20 хв., після чого суміш очищували через паперовий фільтр.

У флакон з активною культурою колподи вносили 2 мл фільтрату водного екстракту досліджуваного зразка і змішували. В цей же час у контрольний флакон вносили 2 мл дистильованої води. Через 3 і 10 хв та 3 години, з дослідного і контрольного флаконів, відбирали по краплі суміші і

досліджували під мікроскопом методом «розтисненої» краплі. При температурі навколишнього середовища 25° С визначали кількість наявних живих і мертвих колпод.

Критерієм визначення токсичності був час від початку дії досліджуваної водної витяжки до загибелі більшості (понад 90%) колод. Факт загибелі яких констатували на підставі повного припинення їх руху та наявності ознак розпаду. Всього було здійснено дослідження десяти зразків «Кормосану™».

Визначення хронічної токсичності експериментальної партії мікосорбенту «Кормосан™» проводили на підставі попередньо отриманих параметрів гострої токсичності.

Дослід проводили на 30 білих щурах масою тіла 100-120 г. Із них було сформовано 5 груп (n=6). Група щурів №1 була контрольною, за період досліду їм згодовували звичайний корм. Тваринам дослідних груп №№ 2, 3 та 4, щоденно протягом 10 діб, в уніфікований час згодовували суміші «Кормосану™» з комбікормом котрі готували шляхом змішування у співвідношенні 1; 2 та 3 : 1000 відповідно. Таке співвідношення (засіб : корм) співпадало з проектом настанови з використання «Кормосану™» в різних дозах для свиней, а саме: 1, 2 та 3 кг/ 1 т корму. Тваринам дослідної групи №5 суміш готували з розрахунку 15 : 1000, що у 5 раз перевищувало максимальну терапевтичну дозу. За період досліду інших кормів тварини всіх груп не отримували, але мали постійний доступ до води.

Масу тіла щурів контрольної і дослідних груп визначали зважуванням перед початком та в кінці досліду. Протягом досліду проводили спостереження за клінічним станом та поведінкою тварин досліду.

Для визначення впливу «Кормосану™» у визначених дозах на організм дослідних тварин, на наступну добу після останнього введення препарату, тварин кожної групи декапітували та відбирали від них зразки крові для проведення гематологічних та біохімічних досліджень. Біохімічні дослідження крові проводили з використанням напівавтоматичного

аналізатора для клінічної біохімії Stat Fax 1904 Plus (AWARENESS TECHNOLOGY INC (США) та набору реактивів фірми Human. Після патологоанатомічного розтину щурів також відбирали і зважували їх внутрішні органи (легені, серце, печінку, селезінку, обидві нирки) та вираховували коефіцієнти маси їх, які зрівнювали з аналогічними показниками від тварин контрольної групи.

Визначення місцево-подразнюючої дії препарату здійснювали шляхом занурення хвоста лабораторних тварин (білих мишей) у емульсію препарату наступних трьох розведень: 1:10, 2:10, 3:10. Для експерименту було взято тварин одної статі (самці) та маси тіла (17-20 г) в кількості 24 екземпляри. З них було сформовано 3 дослідних групи та 1 контрольну (n=6). Тварини всіх визначених груп утримувалися в аналогічних умовах, годівлю здійснювали за стандартною схемою в уніфікований час. Дослід здійснювали протягом 10 діб. При цьому щоденно 2/3 хвоста на 30 хвилин занурювали у пробірку з визначеним розведенням препарату. Облік реакції здійснювали через 4 год. після занурення, щоденно при наявності місцевих змін на шкірі хвоста, наявності і ступеню інтоксикації, змінам маси тіла тварин та кількості летальних випадків. Хвости тварин контролю занурювали у пробірки з дистильованою водою з аналогічною експозицією.

Вивчення впливу досліджуваного мікосорбенту «Кормосан™» за умов систематичного тривалого введення на величину та форму еритроцитів проводили на білих щурах масою тіла 100-120 г. Із них було сформовано 2 групи щурів-аналогів по 3 тварин у кожній. Перша група щурів отримувала звичайний корм. Тваринам другої групи згодовували кормову добавку «Кормосан™». Препарат задавали щодобово, протягом 30 діб, натще, в уніфікований час. На 31-добу досліду була відібрана кров у тварин досліду та контролю з метою встановлення якісних показників еритроцитарної маси з використанням растрового електронного мікроскопу РЕМ-106І, який дає можливість трьовимірного відображення еритроциту (фото 1).

Зразки крові для електронної мікроскопії готували наступним чином:

1. Від тварини відбирали кров в об'ємі 2,5 мл з додаванням 1 краплі антикоагулянту (гепарин);
2. Для розшарування крові на фракції, зразок крові центрифугували 5 хв. при 2000 об./хв. Верхню фракцію обережно зливали до 1 мл отриманої фракції еритроцитів додавали 10 мл глутаральдегідного фіксатора Міллоніга (згідно методики фіксатор перевищує об'єм еритроцитарної маси у 10 разів). Через 1 год. пробу центрифугували 5 хв. при 2000 об./хв., верхню фракцію зливали, до осаду додавали фіксатор, витримували 1 год. Через 1 год. центрифугували за аналогічних умов та знову заливали фіксатором на 1 год. Загальний час фіксації становив три години.

Метою даного етапу підготовки зразка крові є попередження посмертних змін у ньому та збереження структурних компонентів клітини в тому місці і положенні, котре вони займали прижиттєве.

3. Наступний етап – видалення фіксатора. Його мета – видалення з тканинних щілин зразка залишків фіксатора, для недопущення перефіксації. Просуспендувавши та витримавши 2 хв. у фосфатному буфері (2,26% розчин $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), суміш центрифугували при 2000 об./хв. 5 хв., злили буферний розчин, отримавши лише зафіксовані еритроцити.

4. Зафіксовану еритроцитарну масу, з метою збереження цілісності еритроцитів у вакуумі, видаляли із зразка методом поступового нарощування концентрації зневоднюючої речовини. Як зневоднювач нами було застосовано етиловий спирт ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) у зростаючих концентраціях згідно схеми: 50° етиловий спирт (5 хв.) $\rightarrow 70^\circ$ етиловий спирт (5 хв.) $\rightarrow 90^\circ$ етиловий спирт (10хв.) $\rightarrow 96^\circ$ етиловий спирт (15 хв.). В кожній із зазначених концентрацій спирту зразок суспендували, витримавши протягом зазначеного часу, центрифугували 3 хв. при 1500 об./хв. На етапі 96° спирту до проби додавали 3 мл медичного ефіру для наркозу.

Уподальшому було проведено визначення оптимальної дози кормової добавки «Кормосан™» при експериментальному змішаному мікотоксикозі поросят. В умовах виробництва було використано 60 поросят породи українська біла степова, масою тіла 12-13 кг, з рівним співвідношенням свинок і кабанчиків, при формуванні груп вік яких становив 55-60 діб. Ці дослідні тварини були розділені на 4 аналогічні групи (n = 15). За тиждень до початку експерименту та впродовж 30 діб досліду раціон тварин усіх груп складався з комбікорму, що містив у складі: рівне співвідношення кукурудзи і ячменю та 10% вітамінно-мінеральної добавки, та був виготовлений в СТОВ «Вікторія». Даний комбікорм був спонтанно контамінований мікотоксинами, які визначались в дозі: зеараленон – 120 мг/кг і Т-2 токсин – 75,27 мг/кг, що перевищувало межу величин допустимої норми.

На період досліду в комбікорм тварин груп №№ 1, 2, 3 – внесли експериментальний мікосорбент «Кормосан™» з розрахунку 1,0; 1,5 та 2,0 кг/т комбікорму відповідно. Четверта група була контрольною і не отримувала додатково ніяких засобів. За період досліду за тваринами вели систематичний клінічний нагляд та контролювали середньодобовий приріст маси тіла.

Ефективність «Кормосан™» оцінювали, в першу чергу, за рівнем загального білірубіну та активністю інших печінкових показників крові аланінамінотрансферази (АлАТ), аспаркамамінотрансферази (АсАТ) і гамаглутамилтрансферази (ГГТ), а також додатково визначали біохімічні і гематологічні показники (вміст загального білка, гемоглобіну, холестерину, глюкози, креатенину, сечовини, ШОЕ, кількості еритроцитів, лейкоцитів та стан лейкоцитарної формули). Для цього в кожній дослідній та контрольній групі поросят відібрали і помітили підгрупи з п'яти тварин, від яких до початку згодовування експериментального препарату, а також на 10, 20 та 30-ту добу з початку експерименту відбирали проби крові для клінічної біохімії й визначали вище перераховані показники.

Дослідження та тваринах проводили з дотриманням вимог Конвенції Ради Європи із захисту тварин (2001).

Економічну ефективність розраховували згідно «Методики определения экономической эффективности внедрения достижений ветеринарных наук в производство» (2002).

Результати одержаних досліджень оброблені статистично за методом Ст'юдента із урахуванням середньоарифметичних величин та їх статистичних помилок ($M \pm m$), а також визначення достовірної різниці (P) показників, що порівнювались. Усі отримані дані підраховували за допомогою персонального комп'ютера з процесором Core™ 2 Duo P 7350 і операційної системи Windows Vista з використаннями "Excel"

3.2. Моніторинг вітчизняного ринку протимікотиксокозних засобів

Першочергово, розглядаючи проблему захворювань, пов'язаних із мікотоксикозами у тваринництві та існуючих засобів її ліквідації, нами було здійснено ґрунтовні моніторингові дослідження ступеня забезпечення ринку ветеринарних препаратів.

Для здійснення ефективного моніторингу досліджень використано дані офіційних науково-практичних видань та перелік препаратів та кормових добавок, зареєстрованих фармакологічною комісією України.

В Україні зареєстрована достатня кількість препаратів – сорбентів, що комбінують у собі різноманітні активні компоненти, які є ефективними в різній мірі проти росту й розвитку токсигенних грибків та продуктів їхнього синтезу (табл. 3).

Таблиця 3

Характеристика деяких засобів нейтралізації мікотоксинів у кормосумішах із числа засобів, що офіційно зареєстровані в Україні

Групи адсорбентів на основі:	Препарат	Декларований склад, %	Доза. кг/т
комплекс адсорбентів та екстрактів рослин	Кормосан™	Кремнію діоксид – 68,5; алюмінію оксид – 17,5; солі магнію – 2,65; титану діоксид – 2,35; дріжджові культури – 9,0; селен органічний – 0,0005.	0,5 – 3,0
комплекс адсорбентів та органічних кислот	Екосорб 25	Алюмосилікати – 75,0; кремнію діоксид – 15,0; к-та мурашина – 5,0; к-та фосфорна – 3,75; к-та молочна – 1,25.	1,5-5,0
	Токсфін сухий	Бентоніт – 49,9; сепіоліт – 40,0; кальцію пропіонат – 4,5; NaCl – 4,2; кремнезем – 0,5; стеатити – 0,4; к-та фумарова – 0,3; к-та сорбінова – 0,1; бутилгідрокситолуол – 0,1.	1,0-5,0
	Токсідекс	Бентоніт – 45,0; алюміноселікати Na – 25,0; вермікуліт – 20,0; кременева к-та – 10,0	3,0
	Аліосепт	Цинку оксид (ZnO) - 30,0; Алюмосилікати - 38,0; Кислота ортофосфорна - 5,6;	10,0

		Кислота яблучна - 0,9; Кислота винна - 1,1; Кислота фумарова - 2,2; Кислота лимонна - 5,6; Концентрат часнику - 2,0.	
	Барацид	Алюмосилікати - 33,0; Кислота ортофосфорна - 28,0; Кислота яблучна - 2,0; Кислота винна - 3,0; Кислота фумарола - 6,0; Кислота лимонна - 28,0.	1,5 – 3,0
	Чек-о-токс	кислота пропіонова – 6,0; кислота бензойна – 1,5; кислота оцтова – 1,5; кислота сорбінова – 0,8; манано-олігосахариди – 5,0; міді оксид – 0,05; алюмогідросилікати натрію і кальцію – 85,15	0,5 – 1,0
	Оксістат	Бутилгідрокситолуол – 10,0; Бутилгідроксианізол – 0,10 г; Етоксиквін – 0,10; Дигідрат цитрату натрію – 0,4; кальцію карбонат – 84,0.	0,125 – 0,25
суміш мінералів	Сорбатокс	Гідроалюмосилікати – 100,0	1,0-5,0
	Токсаут	SiO ₂ – 63,9; Al ₂ O ₃ – 16,2;	

		Na ₂ O – 3,9; Fe ₂ O ₃ – 3,3; MgO – 2,9; CaO – 1,9; K ₂ O – 0,8	1,0-2,5
	Хамеко-токс	SiO ₂ – 48,9; Al ₂ O ₃ – 35,1; K ₂ O ₃ – 3,3%; Fe ₂ O ₃ – 0,9; MgO – 0,3%; Na ₂ O – 0,2%; CaO ₂ – 0,1; TiO ₂ – 0,1.	0,5-3,0
	Фугідо	SiO ₂ – 80,0; Al ₂ O ₃ а– 10,0; діатоміт очищений – 5,0%	2,0-8,0

З 17 найменувань зареєстрованих в Україні протимікотоксикозних засобів поза цією умовною класифікацією залишився «Мікосорб» виробництва компанії Олтек-Великобританія або Олтек-Бразилія, який в якості діючої основи містить глюкомани (80%) і рекомендується в дозах 0,5-2,0 кг на тону комбікорму.

Не позбавлені певних недоліків і представники інших наявних груп і що об'єднує їх – це досить висока реалізаційна ціна.

Отже, з вищенаведеного необхідно зазначити, що досить актуальним і нагальним є питання розробки сучасного протимікотоксикозного засобу, який не поступатиметься якістю імпортованим препаратам, проте буде значно дешевшим за них.

3.3. Розробка методів контролю інгредієнтів «Кормосану™»

Метод контролю селену в «Кормосані™»

В процесі серії досліджень, було відібрано наступні умови аналізу для визначення мікрокількостей селену в «Кормосані™».

– для аналізу наважка препарату підлягає вологому озоленню. Для цього наважку засобу вагою 100 мг поміщали в платиновий тигель, добавляли 2 мл перхлорводневої кислоти та 10 мл плавикової кислоти. Після

цього вміст тигля випарювали в мікрохвильовій печі при температурі 600°C до практично сухого стану;

– після охолодження в тигель добавляли 10 мл плавикової кислоти і ще раз випарювали до сухого стану в аналогічних умовах;

– після охолодження на повітрі в тигель добавляли хлоридну кислоту до повного розчинення осаду (приблизно 2-5 мл), потім наявний розчин переносять в мірну колбу на 50 мл і доводять хлоридною кислотою до мітки. Отриманий розчин використовується свіжоприготовленим для аналізу з допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра ААС типу Spectr AA.

Порядок роботи на полум'яному атомно-абсорбційному спектрофотометрі ААС типу Spetr AA наступний:

– вмикається живлення атомно-абсорбційного спектрофотометра ААС;
– відкриваємо крани подачі стисненого повітря і горючого газу та виставляємо завдання «аналіз в автоматичному режимі». Тип полум'я – суміш N₂O та ацетилену. Параметри, що вказуються в програмі створення методу, наведено в таблиці 3.3.1

Початково проводять аналіз стандартних розчинів елементів, які вводять в полум'я у наростаючих концентраціях, потім виконується аналіз підготовленого після мокрого озолення експериментального зразка. На основі отриманих показників обчислюють наявну кількість селену за допомогою програми, яка входить до комплекту стандартної поставки названого спектрофотометра.

Таблиця 3.3.1

Показники умов аналізу з визначення селену

Довжина хвилі, нм	Щілина, нм	Концентрація для адсорбції – 0,2 емісії, мг/л	Інтенсивність лампи
196,0	1,0	40,0	100,0

204,0	0,5	600,0	60,0
-------	-----	-------	------

Основний стандартний розчин селену для калібрування приладу готували, розчиняючи 1633,6 мг селенистої кислоти (H_2SeO_3) дистильованою водою і доводили до 100 мл; що відповідає – 0,1 мкг/мл вміст селену.

Проведений кореляційний та регресійний аналіз результатів методики підтверджує її високу ефективність, вірогідність та відтворюваність.

Отже, внаслідок проведення дослідження було визначено з високим ступенем аврогідності та точності кількісний вміст у новостворюваному засобі селену

Особливості контролю важких металів в процесі виготовлення „Кормосану™”.

Слід зазначити, що до складу „Кормосан™” входять деякі важкі метали (ВМ), які є невід'ємною частиною природних сполук, і служать сировиною для його виготовлення. Зокрема, необхідно говорити про вміст і контроль наступних мікроелементів, виступаючих як важкі метали: цинк, плюмбум і кадмій. Ці метали володіють цілими рядом негативних для біологічних систем і організмів властивостей, які серйозно вивчаються сучасною наукою. Саме тому, в цілях забезпечення санітарно-екологічної безпеки, необхідно проводити постійний і систематичний контроль сировини, а також – готового продукту.

Нами проведено пошук і адаптацію методик визначення ВМ у продукції, які можна було б використовувати в умовах науково-контрольної лабораторії «Бровафарма». Найбільшою швидкістю і вірогідністю отриманих результатів, а також простішою апаратурою, ніж емісійна, володіє метод атомної абсорбції спектрофотометрії. У її основу входить екстракція солей ВМ гарячим розчином азотної кислоти з подальшим визначенням концентрації елементів у режимі полум'яної атомізації.

Для аналізу відбирався зразок препарату вагою близько 100 г, який розмелювали до стану однорідного порошку. Його поміщали в сушильну шафу при температурі 105° С на 2,5 годин і в подальшому охолоджували в ексікаторі. З цього, висушеного до постійної ваги, зразка відбирали навіску масою $5,0 \pm 0,0005$ г, яку поміщали в конічну колбу і обережно доливали 50 мл 6-нормальної азотної кислоти. Після цього колбу закривали і впродовж 30 хвилин кип'ятили на електроплиті при температурі біля 150° С (не допускаючи бурхливого кипіння). Надалі колбу охолоджували на повітрі. Після чого її вміст фільтрували через беззольний фільтр у мірну колбу (на 100 мл); осад на фільтрі тричі промивали бідистильованою водою і цією ж водою об'єм колби доводили до мітки. Отриманий розчин придатний для визначення вмісту плюмбуму, а для визначення цинку і кадмію його необхідно ще розвести бідистильованою водою в співвідношенні 1:10.

Підготовка спектрофотометра до роботи і введення його в робочий режим регламентується технічною інструкцією і включає обов'язкові роботи, а саме:

- прогрівання джерела резонансного випромінювання до отримання стабільної інтенсивності випромінювання протягом не менш 30 хвилин;
- юстирування джерел резонансного і нерезонансного випромінювання;
- прогрівання з одночасною промивкою дистильованою водою, пальника впродовж 5-10 хвилин;
- точне настроювання монохроматора на резонансну лінію по максимуму випромінювання при мінімальній ширині щілини; аналіз проводиться при максимальній ширині щілини;
- юстирування пальника і співвідношення між повітрям і ацетиленом перед кожною серією вимірювань.

Використовувалися найбільш стабільні і чутливі лінії поглинання елементів з наступними довжинами хвиль: плюмбуму – 283,3 нм; цинку – 213,9 нм; кадмію – 228,8 нм. Перед початком вимірювання встановлювали

показання приладу на «0», в порядку зростання концентрації вимірювали абсорбцію стандартних розчинів.

Вимірювали абсорбцію 5-10 досліджуваних і контрольних розчинів, промиваючи після кожного вимірювання систему розпилювача і пальника дистильованою водою, поки сигнал не повернеться до показників близьким «0». Повторно проводили вимірювання абсорбції нульового стандарту і одного із стандартів порівняння, найбільш близького щодо концентрації до досліджуваного розчину. Якщо за цих умов не спостерігали зсув нульової лінії і зміни абсорбції стандарту, продовжували вимірювання абсорбції досліджуваних розчинів, періодично повторюючи контроль зсуву нуля і закінчуючи вимірювання повним градуванням.

Масовий вміст досліджуваного елемента в пробі розраховували за формулою:

Ск x Y

m = ----- x K

Сx x p

де:

Сx – концентрація елемента в досліджуваному розчині, мкг/см³;

Ск – середньоарифметичне значення концентрації елемента для паралельних контрольних розчинів, мкг/см³;

Y - початковий об'єм досліджуваного розчину, см³;

p - навішування проби, г;

K - коефіцієнт розведення.

Атомно-абсорбційний метод аналізу показав свою точність і відносно дешевищу. Отримано підтвердження, що при атомно – абсорбційному визначенні менше вплив складу проб і стабільніше за умову проведення аналізу. Помилка атомно – абсорбційного визначення в оптимальній області вимірюваних концентрацій становить 1-0,2%, тобто нижче, ніж у разі емісійного аналізу

Отже, апробований нами метод для виявлення важких металів при виготовленні створюваного засобу, можна рекомендувати для використання в системі менеджменту якості продукції ветеринарної медицини.

Контамінації кормів мікотоксинами в господарствах, що спеціалізуються з вирощування свиней

При проведенні моніторингу мікотоксинів, які уражають комбікорми що використовуються для годівлі свиней встановили, що афлатоксин було виявлено в 6-ти господарствах. При цьому рівень контамінації сягав вище допустимих концентрацій у 2-х господарствах. Т-2 токсин виявили також у комбікормах 5 господарств, але показники цього токсину перевищували максимально допустимий рівень лише в одному господарстві (МДР < 200 мкг/кг). Зеараленон виявили в пробах комбікормів в 4 господарствах. Показники від 67,04 мкг/кг до 186,56 мкг/кг відповідно (табл.3.3.2).

Таблиця 3.3.2

Наявність мікотоксинів у комбікормах для свиней в Сумській області

Назва господарств	Афлатоксин В1 мкг/кг	Т – 2 токсин мкг/кг	Зеараленон мкг/кг
ТОВ "Псел" Сумської області	40,7	-	-
ЗАТ „Вікторія” Сумської області	25	75,27	120
ВСК „Зоря” Сумської області	55,01	57,79	186,56
„ТОВ ім.Тельмана” Сумської області	-	-	-
АФ «ім. Чапаєва»	-	218,27	67,04

Сумської області			
------------------	--	--	--

Лише в одному господарстві не виявлено жодного токсину, проте в трьох з них визначено всі три токсини. Ще однією значною проблемою є те, що визначені концентрації афлатоксину вищі за величини максимально допустимі норми.

Отже, корми, які використовуються для годівлі уражені мікотоксинами, а саме зераленоном, афлатоксином та Т-2 токсином. Тому наступним етапом наших досліджень було розробити альтернативний метод визначення ступеню токсичності мікотоксинів.

Рівень токсичності мікотоксинів, виділених в господарствах північно-східного регіону України

На наступній стадії дослідів визначили токсичність виділених мікотоксинів за допомогою обчислення кількості утвореної солі у досліді MTS. Результати наведені на малюнках 3.1. та 3.2.

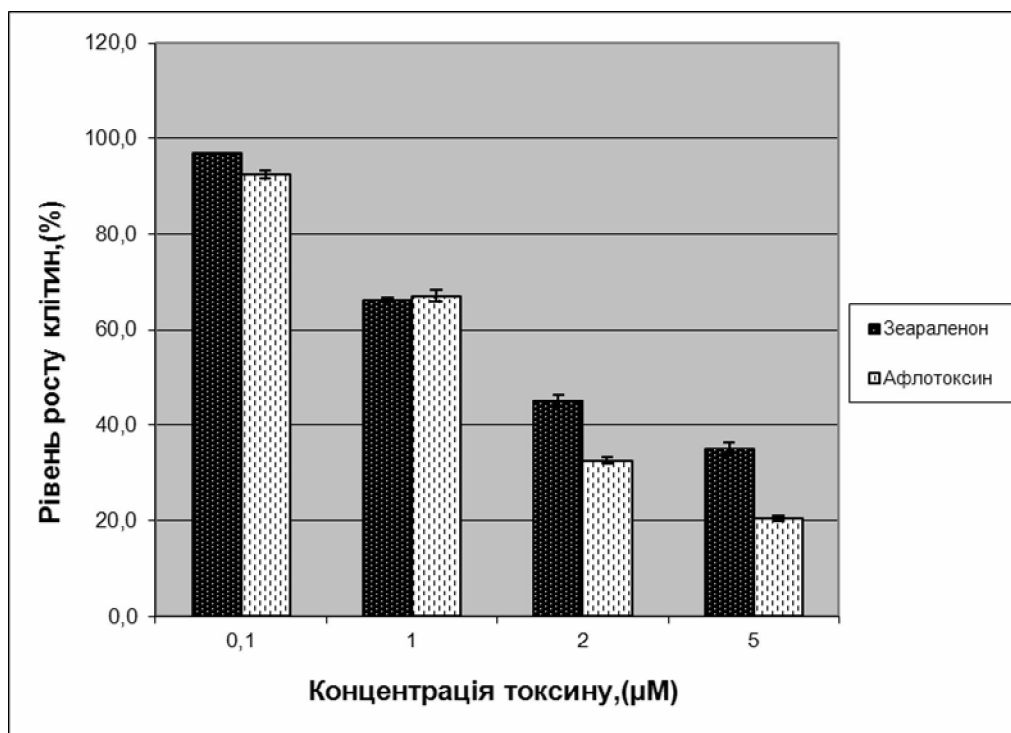


Рис. 3.1 Рівень росту культури клітин ІРЕС при наявності зеараленону та афлотоксину (48 годин)

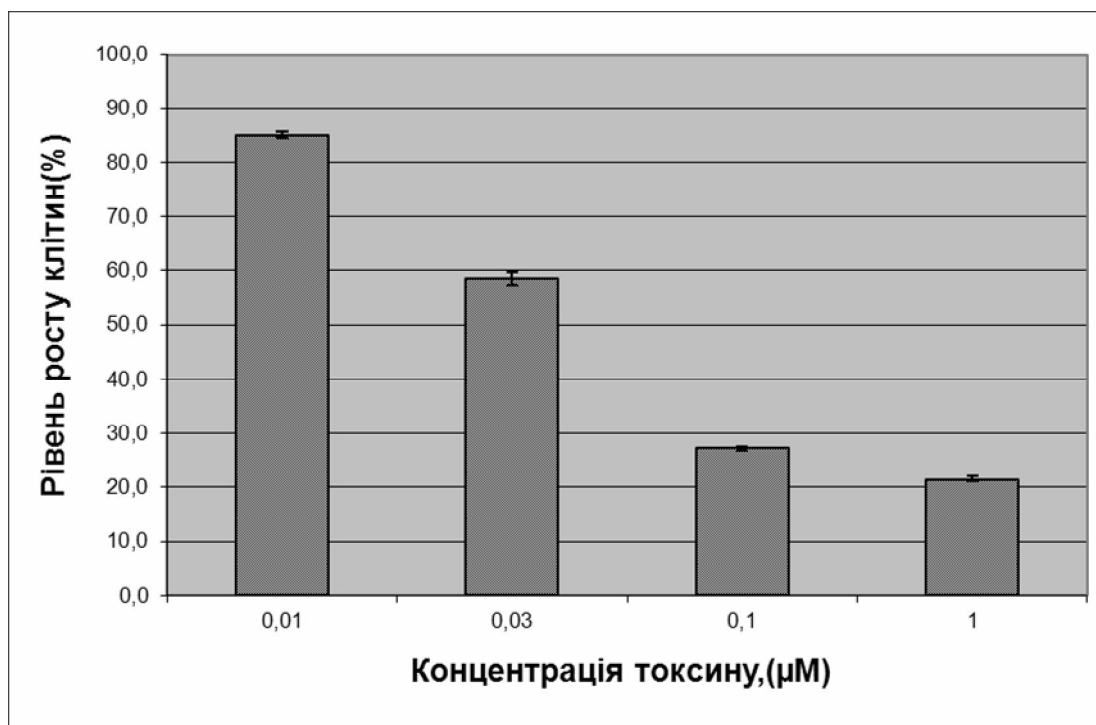


Рис. 3.2 Рівень росту культури клітин ІРЕС при наявності Т-2 токсину (48 годин)

Упродовж дослідів було встановлено, що виділені токсини мають різну токсичність у відношенні до клітин ІРЕС -1. Так, при експозиції 48 годин найбільш токсичним серед токсинів, що досліджувалися був Т-2 токсин, дози якого в досліді були у 3-20 разів меншими ніж в афлатоксину та зеараленону. При цьому вже при кінцевій концентрації у розчині 0,01µМ ріст знизився на 14,8%. Натомість, афлатоксин та зеараленон в дозі 0,1 µM знизювали ріст лише на 7,5% й 3,1%.

При найвищій концентрації у розчині Т-2 токсину (1 µM), афлотоксину (5 µM) та зеараленону (5 µM) ріст клітин пригнічувався на 78,4%, 79,6% та 64,9% відповідно. Показник росту контрольних клітин становив 100%.

За результатами проведених досліджень можна стверджувати, що при визначенні токсичності виділених в господарствах токсинів, за допомогою

культури клітин ІРЕС -1, Т-2 є значно сильніший за токсичними властивостями, ніж виявлені афлотоксин та зеараленон. Насамперед, судячи за найвищою дослідною концентрацією, необхідно зазначити невелику різницю між афлатоксином й Т-2 токсином (1,2%) при слабшій в 5 разів дозі останнього, й значно слабший вплив на клітини (різниця 14,7%) зеараленону в порівнянні з Т-2 токсином при вищій концентрації першого в 5 разів.

Отже, згідно проведених досліджень найбільшу токсичність серед досліджених токсинів встановлено у Т-2 токсина.

3.4. Вплив „Кормосан™” на організм поросят при експериментальному Т-2 токсикозі.

При проведенні недовготривалого експериментального досліді Т-2 токсикоз поросят характеризувався зниженням їх антиоксидантного статусу. Так, наявність антиоксидантів (вітаміну Е, каротиноїдів, аскорбінової кислоти) та селену в печінці поросят групи №2 із співставленням з тваринами контрольної групи відмічалась тенденцією суттєвого зниження.

Таблиця 3.4

Вміст каротиноїдів і вітамінів Е та С у тканині печінки поросят при експериментальному Т-2 токсикозі

Групи тварин, добавки на кг/корму	Альфа-токоферол, мкг/г	Каротиноїди, мкг/г	Аскорбінова кислота, мкг/г	Se, мкг/г
№1, контроль	12,96±0,18	24,19±0,37	614,39±52,76	466,4±18,7
№2 + Т-2-токсин	6,92±0,18	11,14±0,18	349,57±32,29	301,1±25,8
№3 + Т-2+ЕП	9,45±0,18	14,58±0,24	447,43±46,10	375,3±23,7

№3 +Т-2+ЕП+ Se	10,38±0,11*	18,99±),24	514,01±20,57	570,21±28,9
Межі фізіологічної норми	5,6 – 18,6	20,9-200	400-620	нормативів не виявлено

Як видно за даних таблиці 5, вміст вітаміну Е знизився на 46,6%, та майже наблизився до показника нижньої межі фізіологічної норми. Вміст рівня каротиноїдів знизився на 53,96%% та був значно меншим за межі фізіологічної норми. Наявність аскорбінової кислоти знизилась на 43,1% та також находилась нижче межі величин фізіологічної норми. Вміст селену в печінці також знизився на 35,47%.

Клінічно Т-2 токсикоз поросят характеризувався виділенням, в окремі дні, розріджених калових мас, блюванням, у переважної більшості тварин відмічали гіперсалівацію та подовження у часі прийому корму. Тварини виявляли неспокій при прийомі корму, відмічалось посилення спраги. Про наявність дермонекротичної дії свідчила поява на губах та носовому п'ятачку виразок через 7-10 діб після згодовування корму з Т-2 токсином.

У поросят встановили розвиток анемічних явищ, які характеризувались блідістю слизових оболонок та сірим відтінком шкіри.

Про вплив Т-2 токсину на центральну та периферичну нервову систему свідчить порушення координації руху, апатія та тремор скелетних м'язів. У проросят експерименту відмічалось зниження середньодобовиз приростів в середньому на 25-30 %.

Отже, всі зареєстровані нами клінічні ознаки у тварин експерименту виникнення під дією Т-2 токсину у поросят розладів у роботі травного тракту, розладів у діяльності центральної нервової системи, що в наслідку призводило до зниження продуктивності у тварин.

Введення мікосорбенту «Кормосан™», особливо в комбінації із органічним селеном, сприяло поверненню контрольованих показників в межі величин фізіологічної норми та наближенню до відповідних параметрів

наявних у тварин контрольної групи. Проте, таке включення до раціону поросят комбінації експериментального препарату та селену не змогло повністю попередити зниження концентрації антиоксидантів у печінці.

Так, об'єми альфа-токоферолу, каротиноїдів та аскорбінової кислоти відновились лише на 80,1; 78,5 та 83,73% відповідно. Це свідчить про те, що не весь об'єм введеного Т-2 токсину був дезактивований «Кормосан™» в кишечнику тварин.

Отже, використання мікосорбенту «Кормосан™» значно покращило фізіологічний стан тварин дослідної групи і дало змогу наблизити досліджувані параметри до відповідних у тварин контрольної групию

3.5. Встановлення параметрів токсичності «Кормосану™»

Гостра токсичність «Кормосан™».

Визначення гострої токсичності проводили біопробу з використанням інфузорій колподи *Colpoda Stenii*. Встановлено, що впродовж 3 годин усі колподи залишалися рухливими, інтенсивність росту була більше 90% (табл.3.5.1), аналогічні результати встановлені і в контрольній групі.

Таблиця 3.5.1

Результати визначення гострої токсичності кормової добавки «Кормосан™»

№ проби	Показники	Рівень токсичності
1	впродовж 3 годин всі колподи залишалися рухливими та інтенсивність росту більше 90%	не токсичний
2	90%	не токсичний
3	90%	не токсичний

4	90%	не токсичний
5	90%	не токсичний
6	90%	не токсичний
7	90%	не токсичний
8	90%	не токсичний
9	90%	не токсичний
10	90%	не токсичний

Як видно з даних таблиці 3.5.1., в усіх пробах упродовж трьох годин усі колподи залишалися рухливими та інтенсивність росту була більша 90%, що свідчить про не токсичність досліджуваного мікосорбенту.

Отже, внаслідок встановлення параметрів гострої токсичності мікосорбент «Кормосан™» слід віднести до нетоксичних сполук.

Хронічна токсичності «Кормосану™».

На наступній стадії нами були проведені дослідження з визначення хронічної токсичності. Протягом проведення дослідів вірогідних змін у поведінці тварин дослідних груп, в порівнянні з тваринами контрольної групи, не було встановлено. При спостереженні клінічний стан експериментальних тварин не зазнавав видимих відхилень. За весь час проведення дослідів з визначення хронічної токсичності, загибелі дослідних тварин не встановлено.

Також не виявлено вірогідних змін у масі тіла, порівняно з початком дослідів та тваринами контрольної групи (табл. 3.5.2).

Таблиця 3.5.2

Динаміка маси тіла білих щурів у хронічному досліді при введенні кормової добавки «Кормосан™» ($M \pm m$; $n=6$)

Номери груп	Показник введення	Маса тіла, г	
		на початку дослідів	в кінці експерименту

	діючої основи	загальна по групі	середня однієї тварини	загальна по групі	середня однієї тварини
Контрольна група	Основний корм	656	106,23±4,5	695	115,83±5,2
№2	1:1000	602	100,33±3,38	699	118,42±4,42
№3	2:1000	601	101,13±3,08	685	115,17±2,48
№4	3:1000	613	102,17±2,92	689	119,57±4,04
№5	15:1000	609	101,21±3,02	679	116,57±4,02

На наступну добу досліду по закінченню введенні мікосорбенту «Кормосан™» в різних дозах, вірогідних змін коефіцієнтів маси внутрішніх органів, порівняно з контролем, встановлено не було (табл. 3.5.3).

Таблиця 3.5.3

Коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів під впливом різних доз кормової добавки «Кормосан™»(M±m; n=6)

Внутрішні органи	Номери груп та маса органів, г				
	Контрольна група	2	3	4	5
Легені	9,11±0,5	8,81±0,5	8,47±0,2	8,15±0,2	8,05±0,2
Серце	8,11±0,47	8,09±0,56	8,06±0,15	8,03±0,52	7,99±0,52
Селезінка	8,04±0,54	8,02±0,46	8,02±0,26	8,00±0,35	7,99±0,35
Печінка	46,77±1,6	46,76±1,63	46,84±2,71	47,07±1,49	47,37±1,49
Нирка права	4,69±0,16	4,70±0,12	4,81±0,19	4,91±0,15	4,99±0,15
Нирка ліва	4,69±0,16	3,83±0,67	3,91±0,19	4,01±0,75	4,01±0,75

На наступну добу досліду після закінчення введення «Кормосан™» в різних дозах, було проведено дослідження по коефіцієнтам маси внутрішніх органів білих щурів. Маса легенів у контрольній групі становила 9,11±0,5 г, а в групі №5 де кормову добавку вводили з розрахунку 15 кг на тону корма

маса легенів була $8,05 \pm 0,2$ г. Маса серця контрольної групи дорівнювала $8,11 \pm 0,47$ г. Маса цього ж органу в дослідних групах 2, 3 та 4 була відповідно $8,09 \pm 0,56$ г, $8,06 \pm 0,15$ г, $8,03 \pm 0,52$. Маса серця в групі № 5, де доза «Кормосан™» була 15 кг/т корму становила $7,99 \pm 0,52$.

Маса селезінки першої групи становила $8,04 \pm 0,54$ г. Маса цього ж органу у дослідних групах була відповідно $8,02 \pm 0,46$ г, $8,02 \pm 0,26$ г, $8,00 \pm 0,35$ г та $7,99 \pm 0,35$ г. Маса печінки контрольної групи – $46,77 \pm 1,6$ г, а в групі № 5, де кормову добавку додали з розрахунку 15 кг/т корму становила $47,37 \pm 1,49$ г. Що стосується маси нирок, то в контрольній групі маса правої нирки становила $4,69 \pm 0,16$ г, лівої $4,69 \pm 0,16$ відповідно. Маса цього ж органу в групі № 5 була в межах величин $4,99 \pm 0,15$ г та $4,01 \pm 0,75$ відповідно.

Отже, виходячи з даних дослідів щодо встановлення параметрів хронічної токсичності експериментального мікосорбенту «Кормосан™» при введенні в умовах хронічного експерименту, незалежно від дози, не змінював вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів та не впливав на масу тіла білих щурів.

Кумулятивна дія «Кормосану™».

Протягом експерименту вираженої місцево-подразнювальної дії не було встановлено при дослідженні всіх розведень препарату. Зміни маси тіла та летальних випадків серед тварин дослідів також не було виявлено. Клінічні прояви інтоксикації препаратом у тварин дослідних груп не реєстрували.

Результати даного експерименту вказують, що досліджуваний препарат не володіє подразливою здатністю на шкіру протягом тривалого періодичного застосування.

Систематичний контакт з досліджуваним препаратом у тварин не викликав місцевих та загальних патологічних змін.

Отже, «Кормосан™» у досліджуваних концентраціях не проявив місцево-подразнюючої дії, що вказує про відсутність проникнення препарату

в організм через непошкоджену шкіру при тривалому періодичному застосуванні.

Вплив «Кормосану™» на еритроцити свиней.

Дослідженням в РЕМ проводили оцінку кількості деформованих форм еритроцитів у відсотках. З цією метою здійснювали підрахунок загальної кількості еритроцитів у 2-3 різних полях зору кожного зразка при збільшенні $1,5 \div 3$ тис. раз у місцях максимального накопичення еритроцитів (рис. 3).

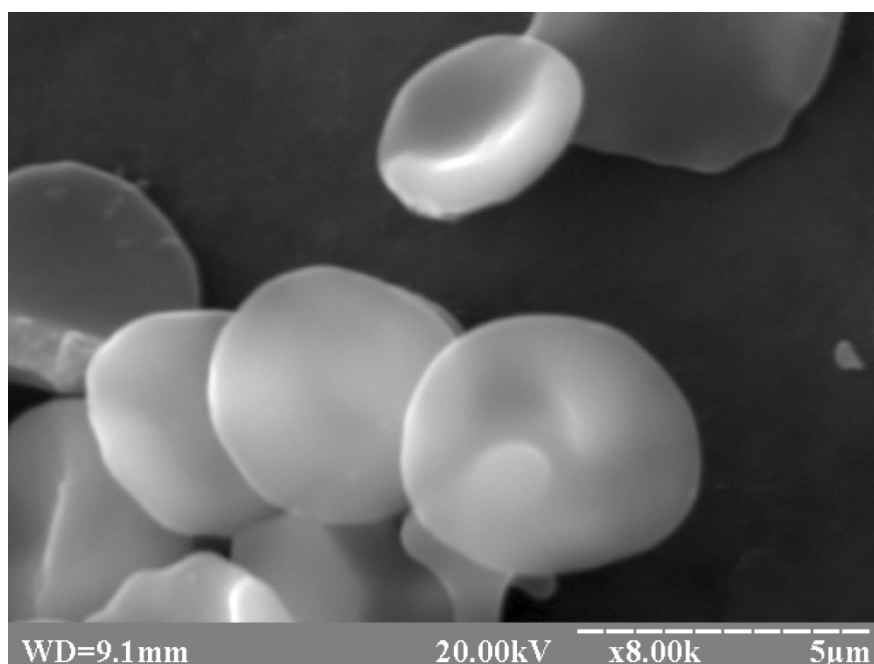


Рис.3. Еритроцити на 31 добу дослідження.

Надалі, на кожному з полів зору підраховували деформовані еритроцити та визначали їх відсоток від загальної кількості. Всі еритроцити анормальної форми документували методом фотографування. При дослідженні еритроцитів деформаційних змін не було виявлено.

Отже, методом растрової електронної мікроскопії встановлено відсутність структурної деформації еритроцитів у свиней, які отримували мікосорбент «Кормосан™», що свідчить про відсутність в останнього токсичної дії на морфологічні структури крові.

3.6. Обґрунтування оптимальної профілактичної і лікувальної дози «Кормосану™» при мікотоксикозах свиней

Із результатів аналізів показників крові, які вказують на функціонування печінки (табл. 3.6.1), видно, що експериментальний мікосорбент «Кормосан™» краще діє при дозі 2 кг/т комбікорму.

Таблиця 3.6.1

Показники крові, які вказують на функціональний стан печінки при експериментальному мікотоксикозі поросят (n=5, M±m)

Показник та одиниці виміру	Межі фізіолог. норми	Термін взяття крові	Контрольна група	Дослідні групи			
				№ 4	№1	№ 2	№ 3
Загальний білірубін ммоль/л	0 – 3,4	до експер.	9,2±0,1	9,2±0,1	9,2±0,1	9,2±0,1	
		на 10 добу	15,6±0,1	10,3±0,2	9,6±0,1	9,8±0,2	
		на 20 добу	21,6±0,2	10,1±0,3	8,6±0,2	7,8±0,1	
		на 30 добу	30,05±0,2	8,8±0,2	8,35±0,2	8,4±0,2	
АлАТ МЕ/л	15 - 46	до експер.	43,5±4,2	45,1±3,7	31,4±4,5	62,3±3,8	
		на 10 добу	55,2±3,5	53,3±4,2	46,2±3,9	44,1±4,0	
		на 20 добу	58,3±4,2	53,1±4,1	44,1±3,8	44,3±3,8	
		на 30 добу	58,3±4,3	49,2±4,2	44,1±3,9	42,1±3,5	

		добу				
--	--	------	--	--	--	--

Аналізуючи дані наведеної таблиці 3.6.1., можна зробити висновки, що загальний білірубін залишався в межах величин фізіологічної норми протягом усього досліду у зв'язку з тим, що захворювання протікає не в хронічній формі. Активність показників АлАТ та АсАТ у другій та третій групі відновлювалася до величин меж фізіологічної норми на 20-у добу досліду, в першій групі активність АлАТ межі величин фізіологічної норми досягала лишена 30 добу досліду.

В таблиці 3.6.2 відображено лейкограму крові поросят в динаміці за експериментального мікотоксикозу.

Таблиця 3.6.2

Зміни лейкограми крові при експериментальному мікотоксикозі поросят

Показник та одиниці виміру	Межі фіз. норми	Термін взяття крові	Дослідні групи			Контрольна група
			№1	№ 2	№ 3	
Еритроцити	5,3 – 8,0×10 ¹² /л	до експерт.	4,9±0,1	5,2±0,1	5,15±0,1	4,8±0,1
		На 10 добу	5,4±0,1	5,18±0,1	5,84±0,1	4,05±0,1
		на 20 добу	6,2±0,1	6,4±0,2	7,2±0,1	4,0±0,1
		на 30 добу	6,3±0,1	6,71±0,1	7,7±0,1	4,51±0,1
Лейкоцити	8,7 – 37,9×10 ⁹ /л	до експерт.	19,3±0,3	16,8±0,2	18,0±0,3	18,3±0,2
		На 10 добу	13,6±0,2	15,8±0,1	16,1±0,2	19,5±0,2
		на 20 добу	13,1±0,1	11,8±0,1	16,0±0,1	27,4±0,1
		на 30 добу	11,2±0,2	17,5±0,25	16,8±0,1	37,3±0,2
Еозинофіли, %	2,0	до експерт.	10,1±0,1	4,2±0,1	8,1±0,2	5,1±0,1
		На 10 добу	6,1±0,1	6,1±0,1	6,2±0,1	8,2±0,2

		на 20 добу	4,2±0,1	3,1±0,1	3,1±0,1	6,0±0,1
		на 30 добу	3,1±0,2	2,1±0,1	2,1±0,1	10,1±0,1
Нейтрофіли паличкоядерні ,%	4,0	до експерт.	8,1±0,1	5,0±0,12	7,0±0,18	10,1±0,2
		На 10 добу	5,0±0,13	2,1±0,1	4,1±0,1	11,1±0,4
		на 20 добу	3,1±0,1	3,1±0,12	4,2±0,1	10,2±0,1
		на 30 добу	3,1±0,1	4,1±0,1	4,1±0,1	13,1±0,2
Нейтрофіли сегментоядерні, i,%	44	до експерт.	41,2±0,2	36,1±0,3	38,1±0,2	39,1±0,3
		На 10 добу	42,1±0,4	38,2±0,3	39,2±0,1	36,2±0,2
		на 20 добу	41,3±0,2	40,1±0,4	44,1±0,3	35,1±0,3
		на 30 добу	42,1±0,2	41,3±0,3	45,2±0,2	33,1±0,3
Лімфоцити,%	45	до експерт.	35,1±0,5	47,2±0,5	46,1±0,4	39,1±0,3
		На 10 добу	44,2±0,3	46,1±0,5	43,2±0,3	37,2±0,4
		на 20 добу	44,1±0,3	45,2±0,8	44,4±0,5	37,1±0,3
		на 30 добу	46,2±0,3	46,1±0,5	45,1±0,5	34,2±0,4
Моноцити,%	4-5	до експерт.	7,1±0,1	9,1±0,2	6,1±0,1	8,1±0,2
		На 10 добу	7,2±0,2	8,1±0,2	6,2±0,2	9,2±0,2
		на 20 добу	5,3±0,1	5,2±0,1	4,1±0,1	8,1±0,2
		на 30 добу	5,1±0,1	4,1±0,1	4,3±0,1	8,3±0,1
Гемоглобін, од.	90-140	до експерт.	112±8	118±7	116±4	111±5
		На 10 добу	116±8	117±6	121±6	115±4
		на 20 добу	121±7	132±7	134±8	98±6
		на 30 добу	124±8	136±8	136±5	87±4
РОЕ, мм/г	8	до експерт.	12,3±2	7,2±2	10,1±2	8,2±1
		На 10 добу	12,3±2	5,4±1	5,2±1	15,1±1
		на 20 добу	9,1±2	7,2±1	8,2±1	17,5±2
		на 30 добу	7,3±2	8,4±2	8,7±1	17,4±1

Аналізуючи гематологічні показники можна зазначити, що в середньому показники крові в дослідних групах досягають нормативних показників на 20 добу.

Біохімічні показники крові поросят за експериментального мікотоксикозу відображені в таблиці 3.6.3

Таблиця 3.6.3

Біохімічні показники крові при експериментальному мікотоксикозі поросят

Показник та одиниці виміру	Межі фізіол ог. норми	Термі н взяття крові	Контроль на група	Дослідні групи			
				№ 4	№1	№ 2	№ 3
Білок загальний г/л	52-83	до	72,5±4,3	64,8±3,4	75,1±3,8	73,4±4,1	
		експер	63,5±4,1	69,3±4,2	73,3±3,7	76,3±3,8	
		.	64,2±3,8	69,3±3,6	73,3±4,5	76,3±2,1	
		на 10 добу на 20 добу на 30 добу	59,8±3,7	65,7±3,8	64,1±3,6	62,1±3,5	
Глюкоза ммоль/л	4,0-8,1	до	3,2±0,1	2,3±0,1	2,1±0,1	2,6±0,1	
		експер	3,2±0,1	3,2±0,1	3,1±0,1	3,4±0,1	
		.	3,2±0,1	3,6±0,1	3,5±0,1	4,1±0,1	
		на 10 добу на 20	3,3±0,1	3,8±0,1	3,7±0,1	4,6±0,1	

		добу на 30 добу				
Холестерин загальний, ммоль/л	1,37- 3,18	до експер . на 10 добу на 20 добу на 30 добу	3,44±0,1 4,2±0,1 5,0±0,2 5,6±0,1	4,1±0,2 3,6±0,1 3,1±0,1 2,8±0,1	3,45±0,1 3,2±0,2 3,1±0,1 3,0±0,1	3,1±0,1 3,05±0,1 2,3±0,1 2,5±0,1
Креатенін ммоль/л	67-172	до експер . на 10 добу на 20 добу на 30 добу	108±6 122±4 143±5 183±5	103±6 98±7 98±5 98±7	115±6 98±5 101±7 101±5	109±9 104±6 103±7 103±4
Сечовина ммоль/л	2,90- 8,89	до експер . на 10 добу на 20 добу на 30	4,8±0,1 4,6±0,1 5,3±0,2 5,3±0,1	6,7±0,3 4,2±0,35 4,1±0,2 4,01±0,2	5,7±0,25 5,3±0,25 5,1±0,3 5,1±0,2	4,3±0,1 5,1±0,1 5,1±0,2 4,8±0,1

		добу				
--	--	------	--	--	--	--

Встановлено, що показники креатеніну та холестерину в контрольній групі були вищими нормативних показників ($5,6 \pm 0,1$ та 183 ± 5), що є характерним для змішаних мікотоксикозів свиней. При використанні „Кормосан™” в дозі 2 кг/т комбікорму на 10 добу показники досягають фізіологічної норми на 10 добу; при використанні в дозі 1кг/т та 1,5 кг/т показники досягають норми на 20 добу досліду.

Отже, в наслідок проведення вищеописаного досліду було відтитровано оптимальну дозу мікосорбенту „Кормосан™” для лікування та профілактики мікотоксикозів, зареєстрованих під час проведення експериментальних досліджень.

3.7. Ефективності мікосорбентів «Кормосан™» та «Мікосорб» при експериментальному змішаному токсикозі поросят

При поїданні корму, ураженого мікотоксинами, у свиней спостерігають порушення обміну білків. В нашому дослідженні концентрація загального білка в плазмі крові хворих тварин знизилась приблизно в два рази відносно до параметрів величин фізіологічної норми (табл. 3.7.1)

Таблиця 3.7.1

Вплив «Кормосан™» і «Мікосорба» на вміст білка та сечовини в крові експериментальних тварин

Групи тварин	Білок загальний, г/л	Сечовина мМ/л
Контрольна група	$43,67 \pm 1,18$	$6,2 \pm 0,24$
Дослідна група (Кормосан)	$81,34 \pm 0,43$	$7,4 \pm 0,04$
Дослідна група (Мікосорб)	$74,56 \pm 0,34$	$6,7 \pm 0,11$
Норма	52,0 – 83,0	2,5 – 7,5

З результатів дослідження видно, що механізм дії мікотоксини відноситься до інгібіторів синтезу білка і цим пояснюється його дія. Так, Т-2 токсин інгібує процес ініціації трансляції, включаючись на етапі перед утворенням комплексу між рибосоною, інформаційною РНК, метионіл-тРНК. Інші мікотоксини, такі як трихотецин, трихотеколон, веррукарол, дезоксиваленол пригнічують процес елонгації і термінації, тобто інгібують процес зв'язування тРНК з рибосомами, а також процеси транслокації, чи запобігають звільненню пептидів від рибосом. Мікотоксини, що пригнічують ініціацію трансляції, мають вираженіші токсичні властивості, ніж токсини, що впливають на пізніші стадії синтезу білка на рибосомах. Також отримані дані, що вказують про те, що разом із блокуванням синтезу білка Т-2 токсин володіє здатністю інгібувати синтез ДНК.

Введення разом з кормом, ураженим мікотоксинами, препаратів, що досліджувалися, нормалізували вміст білка в крові тварин експериментальної групи (табл. 3.6.3).

При мікотоксикозах свиней ми спостерігаємо не тільки гіпопротеїнемію, але й диспротеїнемію (порушення відношення білкових фракцій). Зниження кількості альбуміну, γ -глобулінів і менш виражено β -глобулінів – цей тип змін зустрічається при станах з наслідками токсичного пошкодження печінки і гепатитах. В нашому випадку картина білкових фракцій повністю підтверджує наш діагноз ураження печінки мікотоксинами (табл. 3.7.2).

Таблиця 3.7.2

Вплив «Кормосан™» та «Мікосорба» на співвідношення білкових фракцій в крові свиней ($M \pm m$; $n=5$)

Група	Альбуміни, г/л	Глобуліни, г/л		
		α	β	γ
Контрольна	19,28 \pm 2,25	8,45 \pm 1,56	7,0 \pm 1,43	12,67 \pm 1,23
Дослідна група	29,34 \pm 2,72	18,02 \pm 0,86	13,03 \pm 1,32	27,36 \pm 1,87

(«Кормосан)				
Дослідна група (Мікосорб)	25,76 ± 3,18	15,76 ± 1,54	12,68 ± 1,67	26,89 ± 3,04
Норма	18,0 – 42,5	7,2 – 17,0	6,0 – 13,6	15,0 – 34,0

Зниження вмісту γ -глобулінів також можна пояснити погіршенням продукування антитіл при впливі мікотоксинів на імунну систему.

Введення «КормосанаTM» та «Мікосорба» достеменно збільшує кількість альбумінів та глобулінів у крові поросят. Також спостерігається нормалізація їх співвідношення. Слід зазначити, що при введенні препаратів концентрація альбумінів та глобулінів наближується до верхньої поділки границі фізіологічної норми. В результаті досліджень впливає, що препарати мають дезінтоксикаційний ефект і нормалізують обмінні процеси в організмі.

В результаті дослідження у свиней, що отримували «КормосанTM» покращився апетит і підвищилось поїдання корму. Маса тіла поросят збільшилась у відношенні з контрольною групою (табл. 3.7.3)

Таблиця 3.7.3

Динаміка живої маси тварин контрольної та дослідних груп

Група	Маса тіла, кг		Середньодобовий приріст, г
	1 доба дослідження	30 доба дослідження	
Контрольна	53,87 ± 2,57	64,78 ± 1,43	363,67 ± 10,0
Дослідна група (Кормосан)	52,17 ± 2,56	72,78 ± 2,64	687,06 ± 11,14
Дослідна група (Мікосорб)	53,68 ± 2,47	71,85 ± 2,95	605,06 ± 15,73

Отже, слід відзначити найбільш вірогідні результати збільшення маси тіла та середньодобового приросту у відношенні з групою, що отримувала адсорбент «Мікосорб».

3.8. Обговорення власних досліджень

На сьогоднішній день проблема мікотоксикозів в сільському господарстві дуже важлива. З точки зору сільського господарства існує п'ять найважливіших класів мікотоксинів: трихотецени, зеараленон, охратоксини, афлатоксини і фумонізини. Внаслідок своєї різноманітної структури, мікотоксини проявляють широкий спектр токсичних клінічних симптомів у тварин [47,53]. Крім того, мікотоксини є причиною високих економічних збитків як в свинарстві, так і в інших галузях сільського господарства. Власне тому, провідні вчені та фахівці ветеринарної медицини світу весь час проводять моніторинг поширеності мікотоксикозів у світі, вивчають властивості та механізми дії їх на організм тварин та людини. І на основі отриманих результатів створюють нові, ефективніші та безпечніші засоби діагностики, профілактики та лікування при мікотоксикозах [47, 44].

На першому етапі досліджень нами було виконано моніторингове дослідження з виявлення наявності мікотоксинів та їх наявного складу в комбікормах, які використовуються в північно - східному регіоні [47,56].

При проведенні моніторингу мікотоксинів, які уражають комбікорми, які використовуються для годівлі свиней встановили, що афлатоксин було виявлено у 6-ти господарствах. При цьому рівень контамінації сягав вище допустимих концентрацій у 2-х господарствах. Т-2 токсин виявили також у комбікормах 5 господарств, але показники цього токсину перевищували максимально допустимий рівень лише в одному господарстві (МДР < 200 мкг/кг). Зеараленон виявили в пробах комбікормів в 4 господарствах. Показники від 67,04 мкг/кг до 186,56 мг/кг відповідно. Отримані дані підтверджують інформацію, щодо мікотоксинів, як "тихих убивць". Адже

коли мова йде про збитки, то мається на увазі не лише зниження продуктивності чи пригнічення резистентності тварин й підвищення сприйнятливості уражених тварин до інфекційних хвороб. Не слід забувати також, що збитками при мікотоксикозах є перевитрати кормів на одиницю продукції, тому що тваринам згодують неповноцінний за поживністю корм; недоотримання запланованих приростів маси тіла в уражених тварин; зниження поживної цінності м'яса, вироблених з нього м'ясопродуктів, молока та інших продуктів, скорочення термінів їх зберігання [58].

Моніторинг мікотоксинів й визначення їх видового складу в комбікормах, які використовувалися в господарствах Північно-Східного регіону України, проводили за методикою кількісного експрес визначення мікотоксинів в зернових культурах, кормах та кормових добавках за допомогою тест-системи Рідаскрін фаст виробництва фірми R-Biopharm AG . Обробку результатів проводили за допомогою програмного забезпечення Ridasoft. Метод відрізняється простотою – не вимагає спеціальних навиків оператора, дешевизною, тому що в наборі є всі необхідні реактиви і готові стандарти, експресністю – тривалість аналізу не більше 20-30 хв., а також можливістю досліджувати як одиничні проби, так і до 90 проб одночасно. Цей високочутливий метод дозволяє одержувати точні результати і використовувати мінімально очищені і навіть неочищені екстракти. Проте точність результатів при аналізі мікотоксинів тим або іншим методом залежить від правильності проведення відбору середньої проби і безпосередню підготовку проти, обумовлюючих 90 % всіх помилок, оскільки розподіл токсинів у середній пробі нерівномірний, а їх концентрація в кілограмі корму обчислюється в міліграмах або мікрограмах. Серед інших важливих моментів необхідно виділити також очищення екстрактів від супутніх домішок і якість стандартів, що є в лабораторіях [48].

Найпростішим методом визначення дії токсинів у кормах є дослідження на обмежених групах тварин для яких було виготовлено корми. Втім, цей метод

дорогий і тривалий. Тому з цією метою використовують модельні біологічні об'єкти, тобто, тест-організми, якими можуть бути кролики, білі миші, риби-гуппі, інфузорії. Для кожного тест-організму розроблено свою методику біоаналізу [44].

Щодо наявності методів діагностики мікотоксинів у світі, слід зазначити, що повідомлення в літературі свідчать про те, що, в основному, використовуються метод тонкошарової, газової і рідинної хроматографії, а також метод ІФА або ELISA [35].

При дослідженні токсичності мікотоксинів, що були виділені під час моніторингу в господарствах, ми встановили їх неоднаковий вплив на ріст культури клітин ІРЕС-1. Так, при експозиції 48 годин найбільш токсичним серед представлених токсинів виявився Т-2 токсин, дози якого в досліді були в 3 - 20 разів меншими ніж в афлатоксину та зеараленону. При цьому вже при кінцевій концентрації у розчині 0,01 μM ріст знизився на 14,8 %. Натомість афлатоксин та зеараленон у дозі 0,1 μM знизили ріст лише на 7,5 % і 3,1 % відповідно.

При найвищій концентрації у розчині Т-2 токсину (1 μM), афлатоксину (5 μM) та зеараленону (5 μM) ріст клітин пригнічувався на 78,4%, 79,6% та 64,9% відповідно. Показник контрольних клітин дорівнював 100%.

Отже, можна зробити висновок, що при визначенні токсичності виділених в господарствах токсинів, за допомогою культури клітин ІРЕС-1, Т-2 виявився значно сильнішим за токсичними властивостями, ніж афлатоксин та зеараленон. Насамперед, судячи за найвищою дослідною концентрацією, треба зазначити незначну різницю між афлатоксином й Т-2 токсином (1,2%) при слабшій у 5 разів дозі останнього, й значно слабший вплив на клітини (різниця 14,7%) зеараленону у порівнянні з Т-2 токсином при вищій концентрації першого в 5 разів.

Першочергово, розглядаючи проблему захворювань, пов'язаних з мікотоксикозами у тваринництві та існуючих засобів її ліквідації, нами було

здійснено ґрунтовні моніторингові дослідження ступеня забезпечення ринку ветеринарних препаратів. Для здійснення ефективного моніторингу досліджень було використано дані офіційних науково-практичних видань та перелік препаратів та кормових добавок, зареєстрованих фармакологічною комісією України.

В Україні зареєстрована достатня кількість препаратів – сорбентів, що комбінують у собі різноманітні активні компоненти, які є ефективними в різній мірі проти росту й розвитку токсикогенних грибків та продуктів їхнього синтезу.

За даними окремих науковців основою профілактики мікотоксикозів сільськогосподарських тварин має бути комплекс заходів, спрямованих на запобігання ураженню кормів мікроскопічними грибами на всіх етапах їхньої заготівлі, транспортування, зберігання та використання [10].

Наступним етапом у наших дослідженнях було розробити та впровадити нову кормову добавку вітчизняного виробництва, яка би не поступалася, а можливо перевершувала би аналогічні іноземні препарати за ефективністю при порівняно невеликій собівартості.

Розкриваючи фармакологічні властивості «Кормосан[™]», належить акцентувати на тому, що поряд із зв'язуванням мікотоксинів і синхронного позитивного впливу наявного складу дріжджових культур, додаткове введення органічного селену сприяє забезпеченню зміцнення неспецифічного імунітету та антиокислюючого статусу організму тварин.

За даними авторів відомо, що селен – як потужний антиоксидант, стимулює утворення антитіл та посилює дезінтоксаційні властивості організму, допомагає захищати організм від надлишкового впливу окиснювачів, сприятливо впливає на серцево-судинну систему, вберігає від розвитку ефекту «побіління м'язів» та некрозів печінки і підвищує опірність організму інфекціям [44]. Визначальна фізіологічна роль селену пов'язана з антиоксидантними властивостями. Разом із тим останнім часом з'являється

все більше повідомлень, що він так же сприяє виведенню з організму радіонуклідів, ртуті та інших токсичних речовин. Але, в той же час селен є токсичним мікроелементом і надлишок його в раціоні несе небезпеку для тварин. Тому питання контролю його вмісту є надзвичайно актуальним [22].

Сорбуючу ефективність кормової добавки проводили у порівнянні з активованим через 30 хв. після внесення токсину до сорбенту, так і через 1, 12 і 24 години від початку досліду. Крім того, встановлено, що при збільшенні МДР токсину в пробі, відповідно зменшується його сорбція, незалежно від часу. Сорбенти, в основному, адсорбують афлатоксин В1 та патулін і практично не зв'язували Т-2 токсин, ДОН і зеараленон. При проведенні дослідження *in vitro* ефективності дезітоксикації рекомендованих виробником у відповідній дозі сорбентів була встановлена низька ефективність сорбції фузаріотоксинів. У зв'язку з цим, запропоновані сорбенти у певних дозах сорбентів ми вирішили збільшити вдвічі. Експерименти *in vitro* показали, що досліджувані сорбенти при збільшенні їх дози покращували свою сорбуючу дію. „Кормосантм” адсорбував 4 мікотоксини і показав високий результат при сорбції Т-2 токсину (80 %).

Для зв'язування гідрофобних мікотоксинів доцільно застосовувати неполярні сорбенти, такі як активоване вугілля. Здатність активованого вугілля адсорбувати охратоксин А й Т-2 токсин достатньо ефективно проявляється при внесенні його в корм у концентрації 5-10 %. Однак, встановлено, що при цьому адсорбуються також деякі поживні речовини корму.

Визначення гострої токсичності проводили біопробою з використанням інфузорій колподи *Colpoda Stenii*. Дослідами встановлено, що впродовж 3 годин всі колподи залишалися рухливими, інтенсивність росту була більша 90% , аналогічні результати встановили і в контролі, тобто даний препарат можна віднести до нетоксичних сполук.

На наступній стадії нами були проведені дослідження з визначення хронічної токсичності. Протягом проведення досліду вірогідних змін у поведінці тварин дослідних груп, в порівнянні з тваринами контрольної групи, не було встановлено. Клінічний стан експериментальних тварин не зазнавав видимих відхилень. За весь час проведення досліду з визначення хронічної токсичності, загибелі дослідних тварин не встановлено. На початку досліду загальна маса контрольної групи складала 656 г, а загальна маса тіла чотирьох дослідних груп була від 601г. до 613г. На кінець досліджень загальна маса контрольної групи складала 695 г., а загальна маса тіла чотирьох дослідних груп становила від 679г. до 699г.

На наступну добу досліду після закінчення введення «Кормосан™» в різних дозах, було проведено дослідження по коефіцієнтам маси внутрішніх органів білих щурів. Маса легенів у контрольній групі становила $9,11 \pm 0,5$ г, а в групі №5 де кормову добавку вводили з розрахунку 15 кг на тону корма маса легенів була $8,05 \pm 0,2$ г. Маса серця контрольної групи дорівнювала $8,11 \pm 0,47$ г. Маса цього ж органу в дослідних групах 2, 3 та 4 була відповідно $8,09 \pm 0,56$ г, $8,06 \pm 0,15$ г, $8,03 \pm 0,52$. Маса серця в групі № 5, де доза «Кормосан™» була 15 кг/т корму становила $7,99 \pm 0,52$.

Маса селезінки першої групи становила $8,04 \pm 0,54$ г. Маса цього ж органу у дослідних групах була відповідно $8,02 \pm 0,46$ г, $8,02 \pm 0,26$ г, $8,00 \pm 0,35$ г та $7,99 \pm 0,35$ г. Маса печінки контрольної групи – $46,77 \pm 1,6$ г, а в групі № 5, де кормову добавку додали з розрахунку 15 кг/т корму становила $47,37 \pm 1,49$ г. Що стосується маси нирок, то в контрольній групі маса правої нирки становила $4,69 \pm 0,16$ г, лівої $4,69 \pm 0,16$ відповідно. Маса цього ж органу в групі № 5 була в межах величин $4,99 \pm 0,15$ г та $4,01 \pm 0,75$ відповідно.

Виходячи з даних досліду щодо встановлення параметрів хронічної токсичності мікосорбенту «Кормосан™» при введенні в умовах хронічного експерименту, незалежно від дози, не змінював вагові коефіцієнти маси

внутрішніх органів та не впливав на масу тіла білих щурів. Мікосорбент можна віднести до нетоксичних.

Наступним етапом досліджень було проведення визначення кумулятивної дії препарату. Визначення місцево-подразнювальної дії препарату здійснювали шляхом занурення хвоста лабораторних тварин – білих мишей у емульсію препарату наступних трьох розведень: 1:10, 2:10, 3:10. Дослід здійснювали протягом 10 діб. За цих умов щоденно 2/3 хвоста на 30 хвилин занурювали у пробірку з визначеним розведенням препарату. Облік реакції здійснювали через 4 год після занурення, щоденно за наявності місцевих змін на шкірі хвоста, наявності і ступеню інтоксикації, змінам маси тіла тварин та кількості летальних випадків. Упродовж експерименту вираженої місцево-подразнювальної дії не було встановлено при дослідженні всіх розведень препарату. Зміни маси тіла та летальних випадків серед тварин досліду також не були виявлені. Клінічні прояви інтоксикації препаратом у тварин дослідних груп не реєстрували.

Результати даного експерименту вказують, що досліджуваний препарат не володіє подразливою здатністю на шкіру протягом тривалого періодичного застосування.

Систематичний контакт із досліджуваним препаратом у тварин не викликав місцевих та загально патологічних змін в робочих органах.

«Кормосан™» у досліджуваних концентраціях не проявив місцево-подразнювальної дії, що вказує про відсутність проникнення препарату в організм через непошкоджену шкіру при тривалому періодичному застосуванні.

Хіміко-аналітичні методи визначення мікотоксинів поділяються на скринінг методи та кількісні аналітичні методи [57].

Наступним етапом наших досліджень було визначення оптимальної дози кормової добавки «Кормосан™» при змішаних мікотоксикозах поросят. Виявлено, що гематологічні та біохімічні показники крові поросят

відновлюються до величин норми на 20 добу досліджень при використанні дози 1 кг/т корму.

В умовах виробництва було використано 60 поросят породи українська біла степова, масою тіла 12-13 кг, з рівним співвідношенням свинок і кабанчиків, при формуванні груп вік яких становив 55-60 діб. Ці дослідні тварини були розділені на 4 аналогічні групи ($n = 15$). За тиждень до початку експерименту та впродовж 30 діб досліду раціон тварин усіх груп складався з комбікорму, що містив у складі: рівне співвідношення кукурудзи і ячменю та 10% вітамінно-мінеральної добавки, та був виготовлений в АФ ім. Чапаєва. Даний комбікорм був спонтанно контамінований мікотоксинами, які визначались у дозі: зеараленон – 77,04 мг/кг і Т-2 токсин – 238,27 мг/кг, що перевищувало межу величин допустимої норми.

На період досліду в комбікорм тварин груп №№ 1, 2, 3 – внесли експериментальний мікосорбент «Кормосан™» з розрахунку 1,0; 1,5 та 2,0 кг/т комбікорму відповідно. Четверта група була контрольною і не отримувала додатково ніяких засобів. За період досліду за тваринами вели систематичний клінічний нагляд та контролювали середньодобовий приріст маси тіла. Для цього в кожній дослідній та контрольній групі поросят відібрали і помітили підгрупи з п'яти тварин, від яких до початку згодовування експериментального препарату, а також на 10, 20 та 30-ту добу з початку експерименту відбирали проби крові в яких за допомогою напівавтоматичного аналізатора для клінічної біохімії Stat Fax 1904 Plus (AWARENESS TECHNOLOGY INC (США) та набору реактивів фірми Human, й визначали вищеперераховані показники.

Ефективність кормової добавки «Кормосан™» оцінювали, в першу чергу, за рівнем загального білірубіну. Так, в контрольній групі він становив $9,2 \pm 0,1$ ммоль/л, а на 30-добу дослідження сягав рівня $30,05 \pm 0,2$ ммоль/л – при нормі 0 – 3,4 ммоль/л. Що стосується дослідних груп, то показники загального білірубіну на 30 добу досліджень знизились до рівня $8,8 \pm 0,2$

ммоль/л, $8,35 \pm 0,2$ ммоль/л, $8,4 \pm 0,2$ ммоль/л відповідно в 1, 2 та 3 дослідних групах.

Активність АлАТ в контрольній групі становила $43,5 \pm 4,2$ МЕ/л на початку досліджу, а на 30-ту добу досліджень була $58,3 \pm 4,3$ МЕ/л –при нормі 15 – 46 МЕ/л. У 3 групі активність АлАТ відновилася до величин норми на 10 добу досліджень і становила $44,1 \pm 4,0$ МЕ/л – на початку досліджень рівень АлАТ був $62,3 \pm 3,8$ МЕ/л).

Активність ГГТ в контрольній групі становила $29 \pm 3,8$ ОД/л на початку досліджу, а на 30-ту добу досліджень був $36 \pm 3,8$ ОД /л –при нормі 0 –25 ОД /л. У 1 групі на початку досліджу активність ГГТ становила $37,3 \pm 3,8$ ОД /л, а на 30 добу досліджу повернулася до меж величин фізіологічної норми і становила $21 \pm 3,6$ ОД/л. У 2 групі, де «Кормосан™» використовували в дозі 1,5 кг/т корму цей показник відновився до величин фізіологічної норми на 20-ту добу досліджень, і становив $25,1 \pm 3,9$ ОД /л. Що стосується 3 групи (дозування дослідної добавки 2кг/т), то вже на 10 добу активність ГГТ була у межах величин фізіологічної норми $25 \pm 3,6$ ОД /л.

При дослідженні змін лейкоцитарної формули крові слід виділити, що в групі тварин № 3 показники відновлювались у межі величин фізіологічної норми на 10-20-ту добу досліджень. У 1 і 2 групах тварин ці ж показники були у межах величин фізіологічної норми на 20- 30-ту доби.

При дослідженні біохімічних показників крові виявили, що загальний холестерин був у межах величин норми на 10 добу в тварин групи № 3 – $3,05 \pm 0,1$ ммоль/л. У тварин 1 і 2 груп цей показник відновлювався до меж фізіологічної норми на 20 добу досліджень і становив $3,1 \pm 0,1$ ммоль/л в обох групах.

Слід зауважити, що згідно настанови на «Кормосан™» розрахунок кормової добавки на тону корму слід проводити з урахуванням рівня мікотоксинів у комбікормі.

При поїданні корму, ураженого мікотоксинами, у свиней спостерігають порушення обміну білків. В нашому дослідженні вміст загального білка в плазмі крові хворих тварин знизився приблизно в два рази відносно до параметрів фізіологічної норми. Тому ми провели співставлення терапевтичної дії кормової добавки «Кормосан™» і «Мікосорб». Введення разом з кормом, ураженим мікотоксинами, препарати, що вивчались нами нормалізують вміст білка в крові експериментальних тварин. Так, в контрольній групі рівень загального білка становив $43,67 \pm 1,18$ г/л, а при введенні в комбікорм кормової добавки «Кормосан™» та «Мікосорб» рівень загального білка підвищився до $81,34 \pm 0,43$ г/л та $74,56 \pm 0,34$ г/л відповідно.

При мікотоксикозах свиней ми спостерігали не тільки гіпопротеїнемію, але й диспротеїнемію, тобто порушення відношення білкових фракцій. Зниження кількості альбуміну, γ -глобулінів і менш виражено β -глобулінів – цей тип змін трапляється при станах з наслідками токсичного пошкодження печінки і гепатитах [29]. В нашому випадку картина білкових фракцій повністю підтверджує наш діагноз ураження печінки мікотоксинами. Зниження вмісту γ -глобулінів також можна пояснити погіршенням продукування антитіл при впливі мікотоксинів на імунну систему. Так, в контрольній групі, де тварини споживали корм, уражений мікотоксинами рівень γ -глобулінів становив $12,67 \pm 1,23$ г/л. За цих умов у дослідній групі тварин при використанні «Кормосан™» рівень γ -глобулінів становив $27,36 \pm 1,87$ г/л. При використанні препарату «Мікосорб» цей показник становив $26,89 \pm 3,04$ г/л.

Введення «Кормосану™» та «Мікосорбу» збільшує рівень альбумінів та глобулінів у крові поросят. Також спостерігається нормалізація їх співвідношення ($29,34 \pm 2,72$ г/л та $25,76 \pm 3,18$ г/л при нормі $18,0 - 42,5$ г/л). Слід виділити, що при введенні препаратів концентрація альбумінів та глобулінів наближується до верхньої поділки величин границі норми.

Отже, препарати мають дезітоксикаційний ефект і нормалізують процеси обміну в організмі дослідних тварин.

В результаті дослідження у свиней, що отримували «Кормосан™» покращився апетит і підвищилось поїдання корму. Маса тіла поросят збільшилась у відношенні до контрольної групи. Середньодобовий приріст склав $687,06 \pm 11,14$ гр., в контрольній групі середньодобовий приріст становив $363,67 \pm 10,0$ г.

А. Палагута вказує, що в останній час набуває широке використання природних адсорбентів різної дії до яких можна віднести і «Мікосорб». «Мікосорб» представляє собою органічний адсорбент, який зв'язує широкий спектр мікотоксинів, завдяки пористій структурі та великій поверхні. При використанні «Мікосорб» середньодобовий приріст становив $605,06 \pm 15,73$ г. Це становило – 82,06 г відносно мікосорбенту «Кормосан™».

Виробничу перевірку кормової добавки "Кормосан™" провели на базі АФ «Чапаєва» Глухівського району Сумської області. Встановлено, що в господарстві була загибель свиней від змішаного мікотоксикозу – ізольовані токсини: Т-2 + зеараленон. Для дослідження було сформовано 2 групи. В першій дослідній групі було 300 поросят, вони отримували разом з основним раціоном кормову добавку «Кормосан™» у дозі 1 кг/т комбікорму. Контрольна група – 280 поросят отримувала основний раціон. Отримані дані дослідів на поросятах з визначення впливу згаданого вище засобу на підвищення середньодобового приросту та збереженості вказують, що використання кормової добавки «Кормосан™» на поросятах-сисунах при їх вирощуванні в умовах інтенсивних промислових технологіях сприяє підвищенню збереженості тварин. За час експериментів збитки в свинарнику №1, де використовували мікосорбент «Кормосан™» становили 62,7 грн. на 100 тварин. В свинарнику № 2, де використовували лише основний раціон збитки становили 432 грн./ 100 тварин, що є в 6,8 разів більше до першої групи. Економічна ефективність препарату становила 5800 грн. на 100 тварин

у порівнянні з контрольною групою. За висновками введення мікосорбентів в раціонах ремонтного молодняку свиней позитивно впливає на їхню відтворну здатність: багатоплідність, великоплідність, молочність, збережуваність поросят.

4. ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВІД ЗАСТОСУВАННЯ «КОРМОСАНУ™» ПРИ ЛІКУВАННІ СВИНЕЙ ЗА ВИНИКНЕННЯ МІКОТОКСИКОЗІВ

Виробничу перевірку кормової добавки "Кормосан™" провели на базі АФ «Чапаєва» Глухівського району Сумської області. Встановлено, загибель свиней від змішаного мікотоксикозу (ізолювані токсини: Т-2 + зеараленон). В господарстві, яке вказано вище, для дослідження було сформовано 2 групи. В першій дослідній групі було 300 поросят, вони отримували разом з основним раціоном кормову добавку «Кормосан™» у дозі 1 кг/т комбікорму. Контрольна група – 280 поросят отримувала основний раціон. Отримані дані дослідів на поросятах з визначення впливу на підвищення середньодобового приросту та збереженості наведені у таблиці 15 із якої видно, що використання кормової добавки «Кормосан™» на поросятах-сисунах при їх вирощуванні в умовах інтенсивних промислових технологій сприяє підвищенню збереження тварин.

Таблиця 4

Ефективність використання кормової добавки «Кормосан™» в умовах виробництва

Показники, час досліджень та одиниці вимірювань	Групи тварин	
	свинарник № 1 (основний раціон + Кормосан™)	свинарник № 2 (основний раціон)
Період застосування препарату, днів	30	30
Поголів'я, тварин	300	280
Спостереження, днів	60	60
Загинуло поросят, тварин	1	6
Збитки, грн.	201,6	1209,6
Збитки у тому числі на 100 тварин, грн.	67,2	432

Середньодобовий приріст, гр.	379,0	330,0
Одержано приріст маси тіла на 100 тварин, грн.	33348	27720
Вартість використаних препаратів, грн.	576	0
Утому числі на 100 тварин, грн.	192	0
Економічна ефективність на 100 тварин в порівнянні з контролем	5800	

За час проведення експериментів збитки в свинарнику №1, де використовували кормову добавку «Кормосан™» становили 62,7 грн. на 100 тварин. В свинарнику № 2, де використовували лише основний раціон збитки становили 432 грн/ 100 тварин, що є в 6,8 разів більше до першої групи. Економічна ефективність препарату становила 5800 грн. на 100 тварин в порівнянні з контролем.

5. ОХОРОНА ПРАЦІ

Охорона праці - це система законодавчих, соціально-економічних та організаційних заходів, спрямованих на збереження здоров'я і працездатності людини в процесі праці.

Складовими охорони праці є законодавство про працю, санітарія і техніка застосування різних технічних засобів на виробничих процесах у сільському господарстві, включаючи і пожежну безпеку.

В свиного господарстві району «ТОВ ім. Тельмана» Роменського району, Сумської області проводяться заходи по охороні праці, які впливають із наступних документів : Конституція України, Кодекс законів про працю, Закони України “Про охорону праці”, “Положення про розслідування і облік нещасних випадків, професійних захворювань і аварій на підприємствах”. Основним документом в господарстві, який регулює питання охорони праці є колективний договір [42,51,17,22,23,43].

Відповідно до "Положення про організацію роботи по охороні праці в системі АПК" в «ТОВ ім. Тельмана» відповідальність по забезпеченню здорових і безпечних умов праці несе директор підприємства, по дільницям, бригадам тощо -керівник відповідних підрозділів. Безпосередній контроль за виконанням заходів з безпеки праці покладена наказом директора на інженера з охорони праці [17].

Згідно з "Положенням про навчання з питань охорони праці" всі працюючі товариства проходять на підприємстві навчання та інструктажі з техніки безпеки, виробничої санітарії, гігієни праці, протипожежної охорони, тощо [42,51,22,23]. Інструктажі працюючих проводяться в обладнаному кабінеті по охороні праці.

Робота по охороні праці планується, для чого складаються комплексні, поточні та оперативні плани по охороні праці. В досліджуваному підприємстві контроль за дотриманням законодавства та інших нормативних

актів по охороні праці здійснює профспілковий комітет і комісія по охороні праці.

Охорона праці фінансується з коштів діяльності товариства. В даному випадку сума фонду охорони праці в 2012 році становила 47 тис. грн., за планом на 2013 рік - 54 тис. грн. Це незначна сума, але в підприємстві вона ефективно використовується для створення необхідних соціально-побутових, гігієнічних та безпечних умов праці.

В господарстві, яке досліджується, наявні засоби колективного захисту (обладнання для дезинфекції, вентиляційні прилади) і засоби індивідуального захисту (протигази, респіратори, халати, наруківники, комбінезони, спецодяг, чоботи, взуття, рукавиці), але рівень забезпечення ними становить 85%.

Також проводиться робота з протипожежної безпеки. В свиного господарстві є всі необхідні засоби пожежної безпеки, також такими засобами забезпечені всі інші виробничі підрозділи та транспортні засоби. В запровадженні протипожежних заходів в товаристві велику роль відіграє постійний контроль за станом їх перевіряючих інспекторів пожежного нагляду. На протипожежні заходи в 2012 році використано 7,7 тис. грн., в 2013 році заплановано - 7,9 тис. грн..

З метою покращення умов праці 2012 року в товаристві після обговорення і ухвалення на загальних зборах був підписаний Колективний договір, в 7 розділі якого були заплановані заходи щодо зменшення захворювань та виробничого травматизму працівників господарства.

Незважаючи на зростання в 2013 році в порівнянні з 2012 роком на 15,8 тис. грн. сума асигнованих коштів була повністю використана.

В досліджуваному господарстві за період з 2012 по 2013 роки нещасний випадок був один. Він трапився в результаті порушення правил дорожнього руху водієм вантажного автомобіля. Згідно акту Н-1 від 21.04.12р. сталося

дорожньо-транспортна пригода, внаслідок якої водій отримав перелом ліктьового суглоба.

При годівлі свиней кормами враженими мікотоксинами існує ряд небезпечних та шкідливих факторів.

Проаналізуємо їх по таблиці

Таблиця 5

Структурно-логічна схема небезпек при роботі з тваринами та використанні кормів вражених мікотоксинами

Технологічна операція	Небезпечна умова	Небезпечна дія	Небезпечна ситуація	Наслідки	Заходи безпеки
1.	2.	3.	4.	5.	6.
Повал тварини	1. Відсутність засобів фіксації. 2. Не адекватна поведінка тварини. 3. Слизька підлога.	1. Введення лікарських речовин. 2. Повал тварини.	1. Травмування вет. Лікаря. 2. Падіння.	1. Перелом і, травми, гематоми	1. Забезпечити засобами фіксації. 2. Слідкувати за поведінкою тварини. 3. Привести до санітарних норм виробничого приміщення.
Огляд тварини	1. Не адекватна поведінка тварини. 2. Послаблення фіксації. 3. Хвора тварина.	1. Дослідження патологічної зони	1. Травмування вет. Лікаря. Зараження зооантропонозними хворобами.	1. Перелом і, травми, гематоми, зооантропонозні хвороби	1. Надійна фіксація, уважність, використання засобів індивідуального захисту
Взяття крові для лабораторного дослідження	1. Не адекватна поведінка тварини. 2. Не правильна фіксація. 3. Хвора	1. Взяття крові	1. Травмування вет. Лікаря. 2. Зараження зооантропонозними хворобами	1. Перелом і, травми, гематоми, зооантропонозні хвороби	1. Правильна фіксація 2. Уважність використання засобів індивідуального захисту

	тварина. 4.Спричинення болювих відчуттів тварині				
Роздача кормів	1.Корми вражені мікотоксинами	1.Роздача кормів	1Враження оператора мікотоксинами	1.Мікози та мікотоксикози	1Використання адсорбентів та засобів індивідуального захисту
Проведення дезінфекції	1.Не справність системи вентиляції. 2.Не використання засобів індивідуального захисту	1.Недотримання правил роботи з дез. розчинами	1.Травмування, опіки шкіри та слизових оболонок	1.Травми, опіки	1.Уважність, використання засобів індивідуального захисту 2.Полагодити систему вентиляції

Висновки і пропозиції виробництву

Аналізуючи таблицю видно, що при дотриманні правил техніки безпеки, виробничої санітарії знижується виробничий травматизм.

В результаті проведеного аналізу пропонуємо:

1.Посилити контроль за проведенням мед. оглядів працівників тваринництва.

2. Посилити контроль за проведенням інструктажів з охорони праці.

3. Поновити куточок з охорони праці.

4.Переглянути і розробити недостаючі інструкції з охорони праці на кожне робоче місце і вид робіт.

5.Забезпечити всіх працівників засобами захисту згідно з нормами.

6.Провести ремонт системи вентиляції.

7.Зробити освітлення скотного двору.

8.Забезпечити працівників засобами фіксації і знезаражуючими засобами.

9.Ремонт санітарно-побутових приміщень.

10.Перевірити справність засобів пожежегасіння.

11.Доукомплектувати пожежний щит.

Запропоновані засоби додають можливість покращити умови праці, зменшити виробничий травматизм, та усунути причини професійних захворювань.

6.ЕКОЛОГІЧНА ЕКСПЕРТИЗА ВЕТЕРИНАРНИХ ЗАХОДІВ

На порозі третього тисячоліття, в період бурхливого розвитку науково – технічного процесу, виникнення новітніх технологій, людство постало перед загрозою свого фізичного винищення. Надбанням сучасної цивілізації

стали: значний приріст населення планети, інтенсифікація використання природних ресурсів планети, викиди і скиди екологічно небезпечних ресурсів планети, викиди екологічно небезпечних відходів виробництва, порушення екологічного балансу Землі, більше того – забруднюється навіть навколоремний простір. Людство перебуває на межі глобальної планетарної катастрофи. Екологічні проблеми виникли і продовжують виникати з причини непродуманої взаємодії людини, її господарської діяльності з оточуючим природним середовищем, що посилює антропогенні і техногенні навантаження на довкілля. Зміни, які породжуються людською діяльністю, дуже часто перевищують економічні можливості територій, обумовлені природно – ресурсним потенціалом та здатністю живої природи до самовідновлення. Антропогенне навантаження на природне середовище має комплексний, всеохоплюючий характер [5].

Якщо взяти до уваги, наприклад, проблему забруднення атмосферного повітря, то вона має декілька аспектів – негативний вплив як на саму атмосферу (зміна хімічного складу, температури, вологості, тощо), так і вплив на її фізико – хімічні властивості, а саме: не передбачений наперед склад, неконтрольоване збільшення оксидів вуглецю, метану, фреонів та інших отруйних речовин і газів, що викликають кислотні дощі, руйнацію озонового шару та парниковий ефект.

На жаль, на сьогодні людство створило вже понад 3000 нових небезпечних домішок і хімічних речовин при виробництві необхідних для себе засобів виробництва та предметів первинної необхідності. Значна частина цих речовин має штучне походження і не може бути залученою в біологічні цикли, а відтак – і знешкоджена природним шляхом. До найбільш значних джерел забруднення відносять автомобільний транспорт, електростанції, підприємства важкої металургії, нафто- та газопереробної, хімічної промисловості.

Досить вражаючими є показники забруднення атмосфери підприємствами енергетичного комплексу. Слід відзначити, що вплив господарської діяльності людини на стан навколишнього середовища звичайно визначається рівнем техніки і технології, забезпеченості і станом природоохоронного обладнання.

На протязі кількох десятиліть особливою проблемою для людства стає дефіцит деревини, що викликало бум у лісопереробній галузі. Ліси винищують дуже швидкими темпами і на значних територіях. І хоча ліси здатні до самовідновлення, на цей процес потрібно багато часу (десятки років). Окрім безпосереднього винищування лісів людиною, присутній також фактор опосередкованого негативного впливу на цей природний ресурс, а саме – забруднення атмосферного повітря і води. Лісові насадження деградують, перестають бути повноцінними учасниками природного процесу відновлення стану довкілля [45].

Сутність природоохоронної діяльності полягає у взаємодії виробничих сил, що постійно розвиваються, з навколишнім середовищем. Це комплекс заходів по охороні, раціональному використанню і відтворенню живої (рослинний і тваринний світ) та неживої (грунти, вода, атмосфера, клімат та інші) природи [25] .

Серед сучасних глобальних світових проблем людства економічні проблеми посідають чи не найголовніше місце. Охороні навколишнього середовища і раціональному використанню природних ресурсів зараз приділяється особлива увага з боку урядових структур, міжнародної громадськості. Науково – технічна революція надто ускладнила взаємовідносини суспільства з навколишнім середовищем. Широкомасштабний і до кінця непередбачений вплив людини на всі складові навколишнього середовища вже досяг свого апогею. Зв'язки між різними компонентами біосфери формувалися упродовж тисячоліть.

Людина, застосовуючи різноманітні технологічні засоби, за значно короткий проміжок часу різко порушила природну рівновагу.

Вичерпність багатьох природних ресурсів створює певні труднощі щодо подальшого забезпечення суспільство матеріальними благами. Забруднення навколишнього середовища промисловими викидами, його деградація призводить до порушення нормальних умов життя і діяльності людей, існування живих організмів. За останні десятиліття людство почало усвідомлювати, що в світі, де і без того багато злиденності і, де стан навколишнього середовища дедалі погіршується, неможливим стає існування здорового суспільства та економіки.

На розв'язання практичних економічних і екологічних проблем спрямовано діяльність людей та урядів більшості країн світу. У розвинутих країнах часто стоїть питання про скорочення технологічного навантаження на навколишнє середовище, покращення умов життя і діяльності людини.

Природоохоронна і господарська діяльність – це дві сторони єдиного процесу господарювання людини. Відтак, екологічним результатом господарювання має стати забезпечення потреб людей у якісних умовах існування. Впровадження досягнень НТП повинно бути спрямованим саме на нормалізацію господарської та природоохоронної діяльності, зменшення негативних наслідків для навколишнього середовища [46].

Національна програма охорони навколишнього середовища і раціонального використання природних ресурсів формується з окремих міждержавних, державних, галузевих, регіональних та місцевих програм, які спрямовуються на втілення визначних пріоритетів на відповідних рівнях.

Охорона навколишнього природного середовища, раціональне використання природних ресурсів, забезпечення екологічної безпеки життєдіяльності людини – невід'ємна умова сталого економічного та

соціального розвитку України. З цією метою Україна здійснює на своїй території екологічну політику, спрямовану на збереження безпечного для існування живої і неживої природи навколишнього середовища, захисту життя і здоров'я населення від негативного впливу, зумовленого забрудненням навколишнього середовища, досягнення гармонійної взаємодії суспільства і природи, охорону, раціональне використання і відтворення природних ресурсів.

Таким чином, наука повинна розробляти методи і заходи основ раціонального природовикористання, промисловість – виробляти засоби виробництва, які б не руйнували або ж мінімально руйнували створену природою сучасну рівновагу всіх факторів – від біоценозу до загальної гармонії розвитку всього існуючого на Землі.

Висновки і пропозиції виробництву

Територія свиного господарств: ТОВ «Псел», ЗАТ «Вікторія», ВСК «Зоря», ТОВ «ім. Тельмана», АФ «ім. Чапаєва» Сумської області огорожена парканом, що попереджує контакт господарських тварин з свійськими та дикими тваринами. Бродячих собак та котів на території не має. Гній з ферм вивозиться щодня в яму для гною і піддається біотермічній обробці. Стічні води збирають в спеціально облаштовані ями відстійники, вміст яких періодично знезаражується та вивозиться.

Вентиляція приміщень, де утримуються тварини, як природна так і механічна. Для цього встановлені вентилятори.

При вході в приміщені установлені дезбар'єри, що періодично зволожується 2% розчином їдкою натру.

Для захоронення трупів тварин використовують скотомогильник, який знаходиться на відстані 500 м від територій господарств, від населеного пункту ця відстань складає 2500 м. Яма скотомогильника викладена цеглою і зачиняється залізною кришкою та замикається (ключ знаходиться у головного ветеринарного лікаря господарства).

Територія скотомогильника огорожена парканом зі штахету висотою 1,5 м. Трупки транспортуються за допомогою гужового транспорту.

Мікроклімат в тваринницьких приміщеннях відповідає ветеринарно-зоогігієнічним вимогам та нормам з охорони праці та навколишнього середовища.

Виходячи з вищесказаного ми бачимо, що охорона навколишнього середовища на свиногосподарствах виконується на належному рівні.

7. ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

У дипломній роботі на основі проведених досліджень наведено теоретичне узагальнення і новий практичний підхід у вирішенні поставленого завдання. Це полягало у з'ясуванні ситуації щодо розповсюдження мікотоксинів кормів із спеціалізованих свинарських господарств Північно-Східного регіону України. На основі результатів моніторингу засобів іноземних виробників, що рекомендуються для запобігання мікотоксикозів тварин, вперше створено вітчизняну кормову добавку „Кормосан™” для дезінтоксикації мікотоксинів зеароленону, афлатоксину та Т-2 токсину в кормах в процесі згодовування їх тваринам. Доведено високу ефективність застосування нового засобу.

1. На основі аналізу спектру та широти дії існуючих адсорбентів пропонується до використання в тваринництві та результатів експериментів *in vitro*, до складу „Кормосан™” включено чотири групи активно діючих речовин з різним механізмом впливу, це:

– комбінації алюмосилікатів (кремнію диоксид – 65-75%, алюмінію оксид – 15-19%, титану диоксид – 1,8-2,5 %), дія якої базується на зв'язуванні молекулярної структури більшості наявних у харчовому тракті мікотоксинів, що перешкоджає всмоктуванню їх та забезпечує подальше виведення з організму в складі калових мас;

– дріжджові культури (сухі пивні дріжджі – 4,5-4,85%, інактивовані дріжджі (*Saccharomyces cerevisiae*) – 4,2-4,5%) за рахунок нуклеотидів прискорюють детоксикацію не адсорбованої частини мікотоксинів, збагачують біфідо- і лактобактерій в травному каналі, а наявні рибонуклеїнові кислоти сприяють відновленню тканин печінки;

– солі магнію (магнію карбонат – 1,0-2,5%, магнію сульфат – 0,7-0,95%) збільшують секрецію жовчі і травних ферментів та покращують перистальтику кишечника;

– органічний селен (0,0005-0,0006%) сприяє зміцненню неспецифічного імунітету та антиокислюючого статусу організму тварин. Всі чотири етапи

впливу нормалізують процес травлення і допомагають видаленню токсинів з організму.

2. Запропонована рецептура „Кормосан™” *in vitro* в дозі 1:1000 забезпечує зв'язування 100% афлатоксину, патуліну, стеригматоцистину і зеараленону та 30% Т-2 токсину і ДОНу. Застосування співвідношення 2:1000 сприяє зростанню рівня нейтралізації Т-2 токсину до 80%, а ДОНу – до 50%. Високі дози (3 та 3,5:1000) спроможні нейтралізувати до 100 % названих токсинів.

3. У дослідях на культурі клітин ІРЕС-1 з'ясовано, що виділені токсини були неоднакові за ступенем токсичності. Найбільш токсичним був Т-2 токсин, він пригнічував ріст культури клітин на 14,8%, в той час як афлатоксин та зеаролонен – на 7,5 та 3,1% відповідно.

4. При визначенні параметрів гострої токсичності на культурі інфузорії *Colpoda Steinii* встановлено, що „Кормосан™” відноситься до не токсичних речовин, згідно ГОСТ 12.1.007-76.

5. Запропоновані методики визначення спектрофотометричного визначення вмісту мікрокількостей селену та вмісту солей важких металів, які адаптовані до складу кормової добавки „Кормосан™”, є ефективними та можуть використовуватися у ветеринарній фармакології для контролю якості вхідних складових та готових лікарських форм.

6. Встановлено, що комбікорми, які використовуються для годівлі свиней в 71,5% випадків були з різним ступенем контаміновані одним – трьома видами мікотоксинів. У кількостях, що переважали встановлений допустимий рівень найчастіше виявляли афлатоксин, рівень контамінації ним коливався у межах 25 – 68,4 мкг/кг та зеараленон, наявність якого варіювала в межах від 67,04 мкг/кг до 186,56 мг/кг була присутня в 42,8% досліджених проб кормів. В більшості проб кормів (57,1%), також виявляли Т-2 токсин від 28,43 мкг/кг до 218,27 мкг/кг, при МДР < 200 мкг/кг.

7. Виробничим дослідом доведено, що змішаному зеараленоно-Т-2 токсикозі поросят „Кормосан™” у дозах 1,0; 1,5 та 2 кг на тонну комбікорму впродовж 10-20 діб з початку вживання, сприяв нормалізації показників загального білірубіну, активності АлАТ, АсАТ і ГГТ, що вказує про зменшення токсичного впливу на внутрішні органи дослідних тварин та забезпечувало зростання середньодобового приросту маси тіла на 39,9% відносно контрольних груп тварин.

8. При використанні мікосорбенту „Кормосан™” економічна ефективність становить 5800 грн. на 100 свиней у порівнянні з контрольною групою. Нова кормова добавка, виробництва НВФ "Бровафарма", є економічно ефективнішим засобом, що в 2 рази дешевша за наявні на ринку іноземні аналоги.

Пропозиції виробництву викладено в методичних рекомендаціях "Мікотоксикози свиней та птиці: основи діагностики засоби та методи лікувально-профілактичної корекції" (затв. науково-технічною радою державного комітету ветеринарної медицини протокол №1 від 24.12.2008р).

При серійному виробництві та застосуванні кормової добавки „Кормосан™” керуються наступними нормативно-технічними документами:

– Настанова по застосуванню кормової добавки КОРМОСАН™, виробника ТзОВ «Бровафарма», Україна / А.В. Березовський, Фотіна Т.І., Гузь Ю.А., Цибульський Д.В., Розпутня О.А.. Затверджено: Головний державний інспектор України. - №15-3-1 3/8555 від 19.03.2009 р;

– КОРМОСАН. Технічні умови: ТУ У 24.4-14332579-053:2009. – 28 с. / Березовський А.В., Фотіна Т.І., Гузь Ю.А., Розпутня О.А.;

– Кормова добавка КОРМОСАН. Реєстраційне посвідчення: АВ-00462-04-09 від 20.07.2009 р.;

– Патент на корисну модель №49087, Україна. Кормова добавка для адсорбції мікотоксинів „Кормосан”

Рекомендуємо вносити в комбікорм під час його виготовлення або подрібнений зернофураж, залежно від інтенсивності контамінації мікотоксинами, „КормосанTM” у наступних дозах: за низького ступеня контамінації – 0,5-1,0 кг; середнього – 1,2-2,0 кг; високого ступеня контамінації – 2,2-3,0 кг. При одночасному встановленні декількох видів токсинів в кількостях, які перевищують МДР, вищезазначені дози збільшують на 0,5-1,0 кг.

Матеріали досліджень використовуються в курсі лекцій з дисципліни "Ветеринарна фармакологія та токсикологія" для студентів 2-3 курсів та для магістрів факультету ветеринарної медицини Сумського НАУ.

8. СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антонов Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические / Б. И. Антонов, Т. Ф. Яковлева, В. И. Дерябина // и др.: Справочник. - М.: Агропромиздат, 1991. - 287 с.
2. Ахметов Ф.Г. Профилактика микотоксикозов у животных / Ф.Г. Ахметов, А.В. Иванов, М.Я. Трemasов // Ветеринария. - 2001. - №2. - С. 47-50.
3. Бортнічук В. А. Ветеринарна мікробіологія / В. А. Бортнічук., В. Г. Скибицький., Ф. Ж . Ібатуліна.: Практикум. - Київ: Вид-во УСГА, 1993. - 208 с.
4. Бойко Г.В. Використання гемосорбції при експериментальному отруєнні поросят Т-2 токсином / Г.В. Бойко, І.І. Стройков, К.М. Новіцький // Тез. доп. 1-ї конф. проф.-викл. складу і асп. ННІВМіБПАПК. – К., 2003. – С. 18-19.
5. Бродский А.К. Краткий курс экологии./ А.К Бродский. /СП «ДЕАН», 1999. 1280 с.
6. Билай В. И. Токсинообразующие микроскопические грибы / В. И. Билай, Н. М. Пидопличко. — К.: Наук, думка, 1970. — 287с.
7. Брылин А. Передовые технологии обеззараживания кормов / А. Брылин // Комбикорма. – 2008. – №4. - С.81-82.
8. Березовський А.В. Визначення оптимальної дози препарату при експериментальному змішаному мікотоксикозі поросят / А.В. Березовський, Ю.Гузь // Вісник Сумського НАУ. – 2008. – Вип. 9/1 (21). – С. 13-18.
9. Буряк В.Н. Микотоксикозы свиней и их профилактика / В.Н. Буряк// Зоотехния.-2007. – №9. – С.11-12.
10. Волох Д.С. Справочник аналогов лекарственных средств / Д.С. Волох, Л.Г. Москаленко. – Киев: Здоровье, 1987. – 208 с.
11. Волков М.В. Мікотоксикози: лабораторна діагностика / М.В. Волков // Науковий вісник НАУ, 2007. – Вип. 108. – С. 122-126.

12. Воскобойник В.Ф. Методика определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий/ В.Ф Воскобойник., П.А Шатохин/ М, МГАВМиБ им.К.И.Скрябина, 1997 . С. 132-145.
13. Вплив різних доз дезоксиніваленолу на ріст і розвиток культури клітин кишкового людини : матер. міжнар. наук.-практ. конф. мол. вчених, присв. 30-й річниці заснування Сум. НАУ. - Суми: Універсальна книга, 2007. – Ч.1. – С. 144-145.
14. Гузь Ю.А. Експериментальне обґрунтування оптимальної рецептури препарату «Кормосан» для контролю Т-2 токсикозу поросят / Ю.А. Гузь // Вісник Сумського НАУ: серія «Ветеринарна медицина». – Суми, 2009. – Вип.2 (24). – С. 13-16
15. Гузь Ю.А. Особенности контроля тяжелых металлов в процессе производства препарата Кормосан™ // Гузь Ю.А., Розпутний М.В.– Курск, 2009. С. 325-329.
16. Гогин А. Е Микотоксины: эффективный контроль, эффективное производство // Комбикорма. – 2005. - №2. – С. 68-69.
17. Гряник Г.Н. Охорона праці/ Г.Н Гряник//.-К.: Урожай, 1994.
18. Довідник ветеринарних препаратів і кормових добавок зарубіжного виробництва / М.В. Косенко, П.П. Достоевський, А.В. Березовський [та ін.]. – К.: Ветінформ, 1999. – 352 с.
19. Дворська Ю.Є. Сорбенти в профілактиці мікотоксикозів / Ю.Є. Дворська, А.Б. Байдевятов, Т.І. Фотіна // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. / ІЕКВМ УААН – Х., 2000. – Вип. 78 (I). – С. 75-78.
20. Духницький В.Б. Стан показників імунної системи поросят при хронічному Т-2 токсикозі / В.Б. Духницький // Вет. медицина України. – 2003. - №3. – С. 31-33.
21. Жаков М. С. Вскрытие животных и дифференциальная патоморфологическая диагностика болезней / Жаков М. С., Прудников В. С., Анисим И. А.: Учеб. пособие. - Мн.: Урожай, 1998. - 356 с.

22. Закон України "Про охорону праці" від 21.11.2002 №22-9-IV. Ж. "Охорона праці" №1,2003р.-30 с.
23. Зайцев В.П., Свердлов М.С. Охрана труда в животноводстве.- М.Агропромиздат,1989.-368с.
24. Іваницький М.Є. Патоморфологічна діагностика аспергілотоксикозів свиней / М.Є. Іваницький // Ветеринарна медицина Куцан О. Грибкове ураження зернових та кормів / О. Куцан, Г. Шевцова М. Ярошенко // Тваринництво України. – 2009. - №3. – С. 24-27.
25. Колесников С.И Экология //Колесников С.И. ; 2008 издательский дом "Дашков и К" ; 978-5-394-00102-4 .- 586 с.
26. Коцюмбас Г.І. Т-2 токсикоз поросят і вплив різних розчинів гіпохлориду натрію на перебіг хвороби (симптоматика і патоморфологія) / Г.І. Коцюмбас // Сучасна ветеринарна медицина. – 2007. - №1. – С. 28-30.
27. Коцюмбас Г. І. Розчин гіпохлориту натрію, як детоксикаційний препарат при Т-2 токсикозі / Г. І. Коцюмбас, І. Я. Коцюмбас, О. М. Брезвин // Вет. медицина: Міжвід. тема. зб. — Харків. — 2005. — Вип. 85. — Т. 1. С. 581–584.
28. Крюков В.С. Применение клиноптилолита для профилактики микотоксикозов / В.С. Крюков, В.В. Крупин, А.Н. Котик // Ветеринария – 1992. - №9-12. – С. 28-29.
29. Кононенко Г. П. Методика количественного определения Т-2 токсина в кормах с применением ИФА / Г. П. Кононенко, А. А. Буркин, Н. А. Соболева, Е. В. Зотова // Ветеринария.- 1997. - №5.- С.43-45.
30. Комаров А.А. Методы оценки качества и безопасности кормов и кормовых добавок /А.А. Комаров // Ветеринария. -2001.-№1. – С. 51-56.
31. Красников Г. А. Препараты для лечения и профилактики субклинических микотоксикозов / Г. А. Красиков, Н. Г. Колоусова, В. С. Антонов и др. // Ветеринария, 1997. - №8. – С. 14 - 17.

32. Коцюмбас Г.І. Т-2 токсикоз поросят і вплив різних розчинів гіпохлориду натрію на перебіг хвороби (симптоматика і патоморфологія) / Г.І. Коцюмбас // Сучасна ветеринарна медицина. – 2007. - №1. – С. 28-30.
33. Малинин О.А. Ветеринарная токсикология / О.А. Малинин, Г.А. Хмельницький, А.Т. Куцан. – Корсунь-Шевченковский, 2002. – 463 с.
34. Метод отримання мікотоксину патуліну /А.Ф. Ображей, О.Ф. Корзуненко, О.М. Васянович [та ін.] // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. / ІЕКВМ УААН – Х., 2002. – Вип. 80. – С. 458-460.
35. Методичні вказівки по санітарно-мікологічній оцінці та поліпшенню якості кормів / [А. Ф. Ображей, Л. І. Погребняк, О. Ф. Корзуненко, О. М. Васянович та ін]. - Київ, 1998. - 106 с.
36. Методика количественного определения Т-2 токсина в кормах с применением ИФА / Г.П. Кононенко, А.А. Буркин, Н.А. Соболева [и др.] // Ветеринария. – 1997. - №5. – С. 43-45.
37. Мелешко А.В. Практические рекомендации контроля и профилактики микотоксикозов в промышленном животноводстве /А.В. Мелешко // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2007. - №1. – С. 17-18.
38. Новицький К. Ефективність застосування адсорбентів на основі активованого вугілля при Т-2 токсикозі / К. Новицький // Вет. медицина України. - 2000. - № 9.-С.39-40.
39. Определение токсичности зерна фуражного, продуктов его переработки и комбикормов биопробой на инфузориях (экспресс-метод) / Д.А. Гирис, Б.Я. Бирман, А.П. Лысенко [и др.] // Ветеринарная наука – производству; научные труды. – Минск, 2005. – Вып.38. – С. 160-166.
40. Погребняк Л.И. Микотоксикозы свиней в промышленных комплексах и их профилактика / Л.И. Погребняк, Н.В. Волков // Ветеринарные проблемы промышленного животноводства: Тез. докл. респ. научно-прак. конф. 17-19 октября 1985. – Белая Церковь. – Ч.3. – С. 56-57.

41. Применение сернокислой меди и некоторых сорбентов при иммуносупрессии, обусловленной скармливанием микотоксинов гриба *P. ggalinearum* / Г.А. Красиков, В.Ф. Бабкин, В.С. Антонов [и др.]
42. Положення про порядок забезпечення працівників спеціальним одягом, взуттям та інших засобів індивідуального захисту. 0.00-4.26-96
43. Положення про медичний огляд працівників певних категорій. 0.03-4.02-94.
44. Препараты для лечения и профилактики субклинических микотоксикозов / Г.А. Красиков, Н.Г. Колосова, В.С. Антонов [и др.] // Ветеринария, 1997. - №8. – С. 14-17.
45. Равилов А.З. Экологические проблемы ветеринарной медицины / А.З. Равилов, М.Ш. Хусаинов // Ветеринария, 1997. - №8. – С. 9-13.
46. Розанов С.И. Общая экология./ С.И Розанов/. СПб.: Лань, 2001. - 288 с.
47. Рухляда В. Фузаріо-Т-2 токсикоз сільськогосподарських тварин / В. Рухляда, І. Малахотько // Вет. медицина України. – 2002. - №5. – С. 12-13.
48. Саркисов А.Х. Микотоксикозы / А.Х. Саркисов // М.:Сельхозиздат, 1954. – С.120-188.
49. Смирнов А.М. Загрязнение кормов микотоксинами / А.М. Смирнов, В.А. Таланов, Г.П. Кононенко // Ветеринария - 1998. - № 1 .- С. 45-
50. Случай спонтанного микотоксикоза свиней / М.Я. Тремасов, А.З. Равило, Б.В. Камалов[и др.] // Ветеринария. - 2000 - № 11. -С. 15-16.
51. Санитарные нормы микроклимата производственных помещений №4086-86.
52. Труфанова В. О. Частота контамінації мікотоксинами кормів для птиці / В. О. Труфанова // Вет. медицина України. – 2004. - №9. – С. 26-28.
53. Урозаев Н.А. Сельскохозяйственная экология// Н.А Урозаев., А.А Вакулин., В.И Марылов., А.В Никитин.//- М. Колос, 1996 г. 586 с.

54. Фергус Дж. Неер Микотоксины и последствия их применения при выращивании молодых племенных свиней / Дж. Неер Фергус // Ветеринарная практика. – 2007. - №7(11). – С. 32-33.
55. Фізіологія сільськогосподарських тварин: [Практикум: Навчальний посібник] / В. В. Науменко, А. С. Дячинський, В. Ю. Демченко, Т. Д. Дерев'янку. - К.: Агропромвидав України, 1999. - 2 видання доповнене і перероблене. - 234 с.
56. Фотіна Т.І. Визначення цитотоксичного ефекту деоксиніваленолу, ніваленолу, 3- ацетилдеоксиніваленолу та 15-О- ацетил- 4 деоксиніваленолу на клітини кишкового свині РЕС – 1 за допомогою оцінки кількості вивільненого ензиму лактата дегідрогенази / Т.І. Фотіна, Д.В. Цибульський // Вісник Сумського НАУ. – №2 (23). –2009.– С.127-131.
57. Фотіна Т.І. Мікотоксикози свиней та птиці: основи діагностики, засоби та методи лікувально-профілактичної корекції (методичні рекомендації) / Т.І. Фотіна, А.В. Березовський, Ю.А. Гузь, Д.В. Цибульський. – Київ, 2009. - 30 с.
58. Хмельницький Г. А. Ветеринарная токсикология / Г. А. Хмельницький, В. Н. Локтионов, Д. Д. Полоз: М.: Агропромиздат, 1987. – 319с

9.ДОДАТКИ