

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

ЛІНІЙЧУК НАТАЛІЯ ВАСИЛІВНА

УДК 636.09:614.31:637.5'65-033:615.3

**САНІТАРНО-ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА ПРОДУКТІВ ЗАБОЮ
КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА ЗАСТОСУВАННЯ
ЕНРОФЛОКСАЦИНУ**

16.00.09 «Ветеринарно-санітарна експертиза»

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Київ – 2021

Дисертацією є кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису

Роботу виконано в Національному університеті біоресурсів і природокористування України Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник доктор ветеринарних наук, професор
Якубчак Ольга Миколаївна,
Національний університет біоресурсів
і природокористування України,
професор кафедри ветеринарної гігієни
імені професора А. К. Скороходька

Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук, професор
Бергілевич Олександра Миколаївна,
Сумський державний університет,
професор кафедри громадського здоров'я

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

Захист відбудеться «13» травня 2021 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.14 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15, навчальний корпус № 3, кімната 309

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

Автореферат розіслано «12» квітня 2021 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

О. В. Журенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Важливим і актуальним питанням сьогодення є забезпечення населення якісними та безпечними продуктами харчування (Фотіна Т. І., 2012; Забарна І. В., 2014; Лясота В. П., Богатко Н. М. та ін., 2018; Головка Н. П., Бусол Л. В. та ін., 2018; Якубчак О. М., 2020). Серед антибіотиків, які часто застосовують для хіміотерапії бактеріальних інфекцій у птахівництві є фторхінолони, зокрема, енрофлоксацин. Вони представляють собою молекули, отримані шляхом хімічного синтезу, володіють широким спектром дії. Їх бактерицидна дія ґрунтується на здатності пригнічувати активність як хромосомної, так і плазмідної бактеріальної ДНК-гірази і спричинювати тим самим функціональне припинення реплікації ДНК у бактерій (Naem et al., 2006; Vambekef Van, 2014; Дронова М. Л., 2015; Палишнюк К. Ю., 2016). Їх використання як загалом у тваринництві, так і безпосередньо у птахівництві з терапевтичною метою сприяє накопиченню залишків антибіотиків, зокрема енрофлоксацину, в організмі птиці, які потрапляють до організму споживача і можуть призвести до алергії, дисбактеріозу, зниження резистентності, порушення ембріонального розвитку плода, мутацій, стійкості мікрофлори до антибактеріальних засобів тощо (Куцан О. Т., 2010; Музика В. П., 2011; Гаркавенко Т. О., 2015; Касянюк В. В., Бергілевич О. М. та ін., 2018; Фотіна Т. І., 2018).

Для визначення вмісту антибіотиків у продуктах забою курчат-бройлерів використовують як скринінгові (мікробіологічний, імуноферментний аналіз (ELISA), так і підтверджуючі методи (високоєфективна рідинна хроматографія, рідинна хроматографія з використанням мас-спектрометричного детектора (РХ/МС/МС) (Янович Д. В., 2014; Гаркавенко Т. О., 2015; Байєр О. В., 2017; Ридчук М. В., 2019).

Для об'єктивного визначення антибіотиків в продуктах забою необхідно застосовувати ризик-орієнтований підхід, оскільки чинні нормативно-правові акти України орієнтовані на відбір середньої проби м'яса, що практично виключає визначення наявності препаратів, які володіють ліпофільними властивостями, зокрема енрофлоксацин.

Тому дані дослідження, спрямовані на з'ясування кумулятивної здатності енрофлоксацину в окремих органах і тканинах курчат-бройлерів та оцінка придатності підтверджуючого методу виявлення його залишків є актуальними і дозволять удосконалити систему моніторингу антибіотиків під час виробництва м'яса курчат-бройлерів. У зв'язку з цим, застосування сучасних методів дослідження, а також ретельний моніторинг за використанням вказаних препаратів було і залишається актуальним для гарантування безпечності харчових продуктів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є розділом ініціативної теми Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, що виконувалася спільно з кафедрою ветеринарно-санітарної експертизи (нині – кафедра ветеринарної гігієни імені професора А. К. Скороходька)

Національного університету біоресурсів і природокористування України «Розробка, вивчення та порівняння різних методів і засобів ветеринарно-санітарної оцінки і контролю якості та безпеки продукції тваринного і рослинного походження та кормів» (номер державної реєстрації 0109U001082, 2009–2018 рр.).

Мета та завдання дослідження. Мета дисертації – дати санітарно-гігієнічну оцінку продуктам забою курчат-бройлерів за застосування енрофлоксацину та придатності підтверджуючого методу визначення залишкового вмісту енрофлоксацину в м'ясі, крові та посліді птиці з використанням рідинної хроматографії із мас-спектрометричним детектором.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести оцінку придатності методу визначення залишкового вмісту енрофлоксацину в м'ясі, крові та посліді птиці за допомогою методу рідинної хроматографії з використанням мас-спектрометричного детектора;

- провести аналіз результатів державного моніторингу залишкового вмісту енрофлоксацину та інших антибактеріальних препаратів у продуктах птахівництва в Україні;

- проаналізувати вплив енрофлоксацину на клінічний стан курчат-бройлерів;

- дослідити органолептичні, хімічні, біохімічні, мікроскопічні, мікробіологічні показники продуктів забою курчат-бройлерів у разі випоювання розчину енрофлоксацину в терапевтичній концентрації;

- визначити залишковий вміст енрофлоксацину у скелетних м'язах, внутрішніх органах, крові та посліді курчат-бройлерів;

- провести токсико-біологічну оцінку м'язів курчат-бройлерів за випоювання розчину енрофлоксацину у терапевтичній концентрації;

- провести мікроскопічні дослідження м'язів курчат-бройлерів із найвищим вмістом енрофлоксацину;

- розробити методичні рекомендації з визначення антибіотиків (енрофлоксацину) у продуктах тваринного походження за допомогою рідинного хроматомас-спектрометра.

Об'єкт дослідження – санітарно-гігієнічна оцінка продуктів забою курчат-бройлерів за застосування енрофлоксацину.

Предмет дослідження – оцінка придатності методу (валідація) з визначення енрофлоксацину, клінічний стан курчат-бройлерів, продукти забою курчат-бройлерів, органолептичні, хімічні, біохімічні, мікроскопічні, мікробіологічні, гістологічні показники м'язів, токсичність та відносна біологічна цінність м'язів курчат-бройлерів, залишковий вміст енрофлоксацину, інфузорія *Tetrachimena piriformis*, обсіменіння продуктів забою, мікроорганізми.

Методи дослідження: хіміко-токсикологічні (визначення залишкової кількості енрофлоксацину за допомогою РХ/МС/МС), клінічні (клінічний стан курчат-бройлерів), післязабійна оцінка (забійний вихід тушок, органолептичні дослідження), хімічні реакції: на пероксидазу, з купруму сульфатом, на аміак і солі амонію, біохімічні – величина рН, токсичність та біологічна цінність

м'язів (за допомогою тест-організму *Tetrachimena piriformis*), мікроскопічні, мікробіологічні (мезофільні аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми, бактерії групи кишкової палички, бактерії роду *Proteus*, *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*), гістологічні, статистичні (математична обробка результатів дослідження).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше в Україні проведено оцінку придатності методики визначення енрофлоксацину у продуктах забою курчат-бройлерів, крові та посліді методом рідинної хроматографії з використанням мас-спектрометричного детектора та дано їй наукове обґрунтування. Отримані валідаційні дані свідчать про те, що чутливість методики відповідає межі допустимого рівня та здатна визначити вміст енрофлоксацину в концентрації від 9,76 мкг/кг.

Виявлено особливості накопичення енрофлоксацину в різних групах м'язів і продуктах забою курчат-бройлерів, у крові та посліді.

Вперше встановлено перевищення максимально допустимих рівнів енрофлоксацину у шкірі, м'язах крил і стегна курчат-бройлерів за впоювання їм енрофлоксацину у концентрації 50 мг/л впродовж 5 діб та після завершення терміну каренції. Шкіра на 12 добу після впоювання препарату залишається найбільш небезпечною щодо вмісту енрофлоксацину, де його вміст перевищує максимально допустимий рівень у 7,4 раза. Встановлено, що для об'єктивного визначення залишкового вмісту енрофлоксацину в продуктах забою курчат-бройлерів необхідно відбирати шкіру та м'язи крил і стегна. Застосування енрофлоксацину в терапевтичній концентрації курчат-бройлерів впливає на токсичність м'яса для тест-культури *Tetrachimena pyriformis*.

Виявлено особливості виведення енрофлоксацину з організму курчат-бройлерів з послідом. За впоювання розчину енрофлоксацину у терапевтичній дозі його залишки виділяються з послідом впродовж 16 діб з концентрацією вище 100 мкг/кг.

Наукову новизну досліджень підтверджено деклараційним патентом України на корисну модель «Спосіб визначення антибактеріальних речовин в продукції тваринного походження за допомогою РХ/МС/МС».

Практичне значення одержаних результатів. Практична цінність роботи полягає у застосуванні розробленої методики визначення вмісту енрофлоксацину у продуктах забою курчат-бройлерів методом рідинної хроматографії з використанням мас-спектрометричного детектора. Визначено чутливість та межу прийняття рішення методу РХ/МС/МС (ССα). За результатами проведеної валідації цей показник включено до Плану державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та забруднювачів у живих тваринах і необроблених харчових продуктах тваринного походження відповідно до Директиви 96/23 Європейського Союзу від 29 квітня 1996 року.

Результати дослідження використано під час підготовки та написання науково-практичних рекомендацій «Визначення антибіотиків у продукції тваринного походження за допомогою рідинного хроматомас-спектрометра» (затверджено та прийнято до впровадження в практику ветеринарної медицини

Науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України, протокол № 1 від 19.12.2013 р.).

Особистий внесок здобувача. Здобувачем особисто сформульовано робочу гіпотезу та наукову концепцію, яка покладена в основу дисертації, самостійно опрацьовано літературні джерела, опановано необхідні методики досліджень, виконано весь комплекс досліджень за розділами роботи та здійснено статистичну обробку отриманих результатів, підготовлено наукові статті. Дані, що належать до наукової новизни та практичного значення, отримано здобувачем особисто. За участю наукового керівника інтерпретовано одержані результати, що лаконічно викладено у висновках.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційних досліджень доповідалися на: XV Міжнародній науково-практичній конференції професорсько-викладацького складу та аспірантів «Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва» (м. Київ, 2016 р.); XVI Міжнародній науково-практичній конференції професорсько-викладацького складу, аспірантів, студентів «Актуальні проблеми ветеринарної медицини» (м. Київ, 2017 р.); II Регіональному науковому симпозиумі в рамках концепції «Єдине здоров'я» (м. Київ, 2017 р.); III щорічному регіональному науковому симпозиумі в рамках концепції «Єдине здоров'я» (м. Київ, 2018 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Контроль безпечності харчових продуктів Україна-ЄС: невирішені питання» (м. Київ, 2018 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні тенденції ветеринарної освіти та науки» (м. Київ, 2019 р.).

Публікації. Основний зміст дисертації викладено у 14 наукових працях, з яких 5 статей у наукових фахових виданнях України, у тому числі включених до міжнародних наукометричних баз даних, патент України на корисну модель, науково-методичні рекомендації, 7 тез наукових доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертацію викладено на 155 сторінках. Робота складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел літератури, додатків. Список використаних джерел налічує 177 найменувань, у тому числі 51 латиницею. Дисертація містить 21 таблицю та 12 рисунків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи досліджень. Дисертацію виконано впродовж 2010–2021 рр. на кафедрі ветеринарно-санітарної експертизи (нині – кафедра ветеринарної гігієни імені професора А. К. Скороходька) Національного університету біоресурсів і природокористування України. Окремі дослідження проведено на базі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи: у науково-дослідному хіміко-токсикологічному відділі; лабораторії рідинної хроматографії; лабораторії ELISA-тест та визначення мікотоксинів; науково-дослідному бактеріологічному

відділі; а також у навчальній лабораторії патоморфології кафедри анатомії, гістології і патоморфології тварин імені академіка В. Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України.

Матеріалом для дослідження були курчата-бройлери американського кросу «Cobb 500» і продукти їх забою, а також антимікробний препарат Байтрил 10 %, що містить діючу речовину енрофлоксацин.

Під час роботи з піддослідними тваринами дотримувалися вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (15.12.2009. Відомості Верховної Ради, 2010, № 9), Директиви 2010/62 ЄС, Наказу № 249 МОН України від 01.03.2012 р.

Дисертаційна робота виконувалася у три етапи (рис.1).

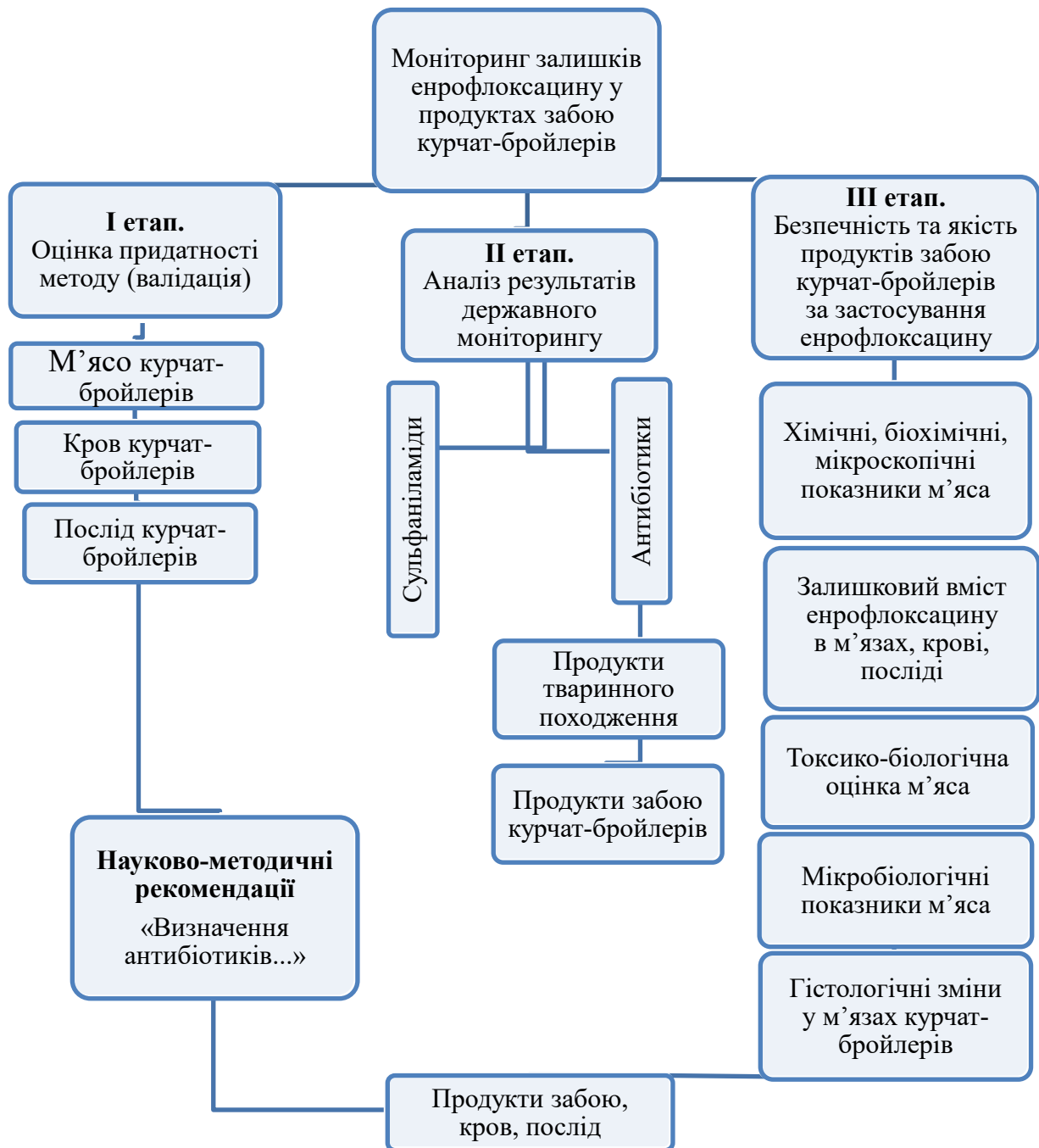


Рис.1 Загальна схема проведення досліджень

На **першому етапі** досліджень валідовано метод визначення енрофлорсацину за допомогою рідинного хроматографа з використанням мас-спектрометричного детектора «Waters» (США).

На **другому етапі** проведено аналіз результатів моніторингу залишків антибактеріальних речовин групи В1 в Україні за 2013–2019 роки згідно Плану державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та забруднювачів у живих тваринах і необроблених харчових продуктах тваринного походження.

На **третьому етапі** проведено дослідження щодо безпечності та якості продуктів забою курчат-бройлерів за застосування енрофлорсацину, проведено визначення залишкового вмісту енрофлорсацину у м'язах курчат-бройлерів, продуктах забою, крові та посліді.

Для проведення досліду було сформовано дві групи-аналоги курчат-бройлерів, віком 20 діб: контрольна та дослідна (по 20 курчат у кожній). Курчатам дослідної групи випоювали препарат «Байтрил 10 %», що в перерахунку на діючу речовину енрофлорсацин становить 50 мг/л, щодня впродовж 5 діб. Для курчат контрольної групи використовували питну воду. Як в дослідній, так і контрольній групах щоденно проводили контроль клінічного стану курчат, стежили за їх активністю та споживанням корму і води. По закінченню випоювання енрофлорсацину з кожної групи забивали по 5 курчат-бройлерів на початку періоду каренції (на 6 добу після останнього застосування препарату), в кінці періоду каренції (на 12 добу), на 14 добу та 20 добу після останнього випоювання. На 6, 12 та 14 добу після випоювання енрофлорсацину визначали органолептичні, хімічні, мікроскопічні, мікробіологічні показники, проводили визначення залишкового вмісту енрофлорсацину у продуктах забою, токсико-біологічну оцінку; на 20 добу після випоювання препарату визначали залишковий вміст енрофлорсацину у шкірі. Забій курчат-бройлерів контрольної групи проводили аналогічно дослідній групі.

Для визначення залишкового вмісту енрофлорсацину проводили відбір крові курчат-бройлерів, починаючи з другої доби його випоювання. Послід відбирали у курчат-бройлерів кожної групи окремо, починаючи з третьої доби.

Годівлю курчат-бройлерів всіх груп проводили повнораціонним комбікормом відповідно до потреби в поживних та біологічно активних речовинах.

Живу масу курчат визначали шляхом зважування на вагах фірми «Ohaus» з точністю до 1 г на 1, 5, 11, 17, 19 доби досліду. Середньодобовий приріст, забійний вихід, масу тушок визначали згідно методики Т.М. Поліванової (1988). Забій проводили за встановленими технологічними інструкціями з дотриманням норм біоетики.

Визначення хімічних показників м'яса птиці проводили на 2, 3, 4 добу зберігання після забою за 4–5 °С. Проводили оцінку органолептичних показників м'яса, реакцію з купруму сульфатом, реакцію на пероксидазу, на аміак і солі амонію згідно чинних в Україні нормативних документів. Величину рН витяжки із м'яса визначали потенціометричним методом із використанням рН-метра Seven Multi «Mettler Tolloedo» згідно з ДСТУ ISO 2017–2001.

Залишковий вміст енрофлоксацину в м'язах, внутрішніх органах, шкірі, крові, посліді визначали методом рідинної хроматографії з використанням мас-спектрометричного детектора «Waters» (США).

Токсико-біологічну оцінку м'яса курчат-бройлерів проводили експрес-методом згідно «Методичних рекомендацій по токсико-біологічній оцінці м'яса, м'ясних продуктів і молока з використанням інфузорії *Tetrachimena pyriformis* (експрес метод)» (1997).

У м'ясі визначали кількість: мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ), бактерій групи кишкової палички (БГКП) (ДСТУ ISO 4833:2006, ДСТУ ISO 8446:2015), бактерії роду *Proteus* (ДСТУ ISO 7444:2013), *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* (ДСТУ ISO 6579:2006, ДСТУ ISO 11290-1:2003), *Staphylococcus aureus* (ДСТУ ISO 6888 – 1:2003).

Для гістологічного дослідження відбирали м'язи курчат-бройлерів з найвищим вмістом енрофлоксацину: м'язи крила, грудні м'язи, м'язи стегна та гомілки. Відібрані шматочки м'язів для мікроскопічного дослідження фіксували у 10 % (рН 7,2) водному розчині формаліну, зневоднювали в етанолах зростаючої концентрації (60°, 70°, 80°, 96°, 100°) і через хлороформ заливали в парафін. Зрізи, товщиною 7–10 мкм, робили за допомогою санного мікротому. Фарбували зрізи гематоксиліном Караці та еозином. Гістопрепарати вивчали під мікроскопом MC 100 LED («Micros»), фотографували за допомогою фотонасадки NDPL-2 (2X) і фотоапарату Canon EOS 550D.

Варіаційно-статистичну обробку цифрових даних здійснювали з використанням комп'ютерних програмних пакетів «Microsoft Excel». Вірогідність визначали за критерієм Ст'юдента з урахуванням критерію значущості: $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Оцінка придатності методу визначення енрофлоксацину в м'ясі птиці, крові та посліді методом рідинної хроматографії з використанням мас-спектрометричного детектора. Проведено оцінку придатності методу (валідацію) відповідно до Рішення Європейської комісії 2002/657/ЄС від 12 серпня 2002 року, яке базується на принципах Директиви Ради 96/23/ЄС щодо, ефективності аналітичних методів та інтерпретації результатів. У результаті визначено такі основні робочі параметри як середнє значення, відсоток повернення, коефіцієнт варіації, ССа, ССв.

Під час проведення валідації досліджено 3 серії по 6 аліквот чистого матеріалу, який збагачували енрофлоксацином на рівні 50 мкг/кг, 100 та 150 мкг/кг для м'язів. Розрахунки виконані відповідно до ДСТУ ISO 5725-2-2005. Основним параметром для підтверджуючих методів вважається ССа. Відповідно до проведених розрахунків, проведених для м'язів ССа становить 9,76. Для внесення до Плану державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та забруднювачів у живих тваринах і необроблених харчових продуктах тваринного походження, з урахуванням того, що енрофлоксацин не є забороненою речовиною і має межу допустимого рівня (МДР), було проведено

інші розрахунки, відповідно до яких ССа становить 118,59, враховуючи похибку та невизначеність у вимірюваннях.

В подальшій роботі і розширенні методу на інші показники цієї групи (хінолонів) було проведено повторну валідацію. Розрахунки проводили з використанням програмного забезпечення InterVal Software (Німеччина).

Визначали ССа, ССВ за калібрувальною кривою, побудованою за збагачення матриці різними концентраціями стандарту. При цьому ССа дорівнює 128,45.

Отримані нами валідаційні дані під час проведених досліджень свідчать про ефективність методики, точність, практичність, перспективність і ця методика задовольняє вимоги Регламенту ЄС 37/2010.

Валідацію методу визначення вмісту енрофлоксацину в крові та посліді проводили за тим же принципом, що і в м'язах. Оскільки визначення енрофлоксацину не є регламентованим у крові та посліді, було визначено його вміст відповідно до чутливості приладу та методики. Для визначення вмісту енрофлоксацину у крові аліквоти збагатили на рівні: 20 мкг/кг, 40 та 60 мкг/кг. Під час проведених розрахунків отримали ССа, що становить 42,85.

Для посліду готували аліквоти з концентрацією енрофлоксацину 25 мкг/кг, 50 мкг/кг, 100 мкг/кг. Відповідно до проведених розрахунків ССа становить 55,65

Отже, нами зроблено оцінку придатності методу визначення енрофлоксацину в продуктах тваринного походження та інших біологічних субстратах методом РХ/МС/МС, що задовольняє вимоги Європейського Союзу і включений до Плану державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та забруднювачів у живих тваринах і необроблених харчових продуктах тваринного походження. В свою чергу цей метод адаптовано та валідовано для визначення хінолонів у крові та посліді.

Аналіз моніторингу залишкового вмісту антибактеріальних речовин в Україні за 2013–2019 роки. В Україні станом на 2019 рік є обов'язковим визначення залишкового вмісту наступних препаратів: бензилпеніциліну, амоксициліну, ампіциліну, флорфеніколу, тетрациклінів (тетрациклін, хлортетрациклін, окситетрациклін, доксициклін), аміноглікозидів (канаміцин, апраміцин, стрептоміцин, дигідрострептоміцин, неоміцин, гентаміцин, лінкоміцин, спектиноміцин), фторхінолонів (енрофлоксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин, флюмеквін), тилозину, еритроміцину, сульфаніламідних препаратів (сульфатіазол, сульфадиметоксин, сульфагуанідин, сульфадіазин, сульфамеразин, сульфаметазин, сульфаметоксипіридазин, сульфаметоксазол, сульфаніламід, триметоприм), клоксациліну, ністатину, колістину, цефалоспоринів (цефтіофур, цефквіном, цефалексин).

Згідно Плану державного моніторингу станом на 2020 рік досліджуються такі матриці: яловичина, свинина, м'ясо курей, гусей, кролів, індиків, аквакультури (риба), коров'яче молоко, яйця курячі, мед.

За результатами аналізу виконання моніторингу за 2013–2019 роки виявлено 2 позитивних результати в яйцях курячих, що містили залишковий вміст фторхінолонів. У 2016 році в яйцях курячих виявлено енрофлоксацин у

кількості 60, 86 мкг/кг, у 2017 році – 114,2 мкг/кг (при $CC\alpha=14,01$). За інші роки позитивних результатів не виявлено. Дослідження проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА), підтвердивши результати методом рідинної хроматографії з використанням мас-спектрометричного детектора (РХ/МС/МС). При цьому не було виявлено жодного перевищення МДР енрофлоксацину в м'ясі курей та інших матрицях, що відповідає вимогам Регламенту Комісії (ЄС) № 37/2010. Згідно цього Регламенту вміст енрофлоксацину в курячих яйцях не допускається, а у м'ясі птиці, великої рогатої худоби, свиней, овець, риби, в молоці може становити не більше 100 мкг/кг.

Необхідно зазначити, що у птахівництві широко використовують амоксицилін, флорфенікол, гентаміцин, тилозин, енрофлоксацин, норфлоксацин, доксициклін, окситетрациклін, тетрациклін, сульфатіазол (табл. 1).

Таблиця 1

Залишковий вміст антибактеріальних препаратів групи В1 у продуктах птахівництва (м'ясо та яйця) за 2013 – 2019 роки

Антибактеріальні засоби	Кількість проб в межах МДР	Відносно загальної кількості проб досліджуваної речовини, %	Кількість проб з перевищенням МДР
Амоксицилін	704	30,2	-
Флорфенікол	22	18,3	-
Гентаміцин	24	14,5	-
Тилозин	548	23,5	-
Енрофлоксацин	1753	75,2	2
Норфлоксацин	378	16,2	-
Доксициклін	1260	54	-
Окситетрациклін	257	11	-
Тетрациклін	236	10,1	-
Сульфатіазол	192	8,2	-

Крім того, з 305 проб м'яса птиці у 74,4 % випадків було виявлено енрофлоксацин, що не перевищував МДР. Проте наявність навіть незначного вмісту антибактеріальних речовин у продуктах тваринництва можуть мати негативний вплив на організм споживача.

Вплив енрофлоксацину на клінічний стан і продуктивність курчат-бройлерів. Випоювання курчатам-бройлерам розчину енрофлоксацину у терапевтичній концентрації не впливало на клінічний стан та поведінку птиці.

На початку досліду жива маса курчат-бройлерів як дослідної, так і контрольної груп суттєво не відрізнялася. Між показниками енрофлоксацину маси тіла курчат-бройлерів дослідної і контрольної групи статистично значимої різниці не встановлено. Жива маса і середньодобові прирости маси тіла курчат-бройлерів під впливом енрофлоксацину відповідали стандарту кросу «Cobb 500».

Отже, застосування енрофлораксацину, не впливає на клінічний стан курчат-бройлерів та прирости маси тіла.

Аналіз передзабійного та післязабійного огляду продуктів забою курчат-бройлерів. Передзабійний огляд курчат-бройлерів контрольної і дослідної груп показав, що вони активно рухалися, споживали корм і воду, реагували на зовнішні подразники, мали природне положення тіла, чистий пір'яний покрив, видимі слизові оболонки були блідо-рожеві, дзьоб сухий, витікання з очей відсутні, поверхні кінцівок сухі, без ушкоджень, дихання без хрипів, температура тіла – у межах від 40,5 °С до 42 °С, послід помірно густий. Під час проведення досліду випадків захворювання або загибелі піддослідних курчат не виявлено.

Під час огляду продуктів забою птиці контрольної та дослідної груп патологічних змін не виявлено. Поверхня тушок курчат-бройлерів обох груп була суха, колір шкіри на усій поверхні в усіх групах – блідо-жовтий, дзьоб – глясаний. М'язи тушок добре розвинені, підшкірний жир мав локалізацію в ділянці нижньої частини живота та на спині у вигляді смужки. На розрізі м'язи злегка вологі, пружні, щільні. Кіль груднини слабо виділяється, форма груднини – округла. Запах тушок курчат-бройлерів дослідної і контрольної груп був специфічний, властивий даному виду м'яса.

Для проведення оцінки впливу на організм енрофлораксацину, було проаналізовано забійний вихід тушок. Передзабійна жива маса курчат-бройлерів дослідної групи на 6, 12 та 14 добу після останнього впоювання препарату вірогідно не відрізнялася від маси тіла птиці контрольної групи. Маса напівпатраних тушок курчат-бройлерів на початку періоду елімінації енрофлораксацину (на 6 добу) та 12 добу після впоювання не відрізнялася між собою, а на 14 добу – на 19,82 % перевищувала масу тушок птиці контрольної групи. Маса патраної тушки курчат-бройлерів на 6 та 12 добу після впоювання енрофлораксацину була в межах контролю, а на 14 добу перевищувала цей показник на 21,28 %.

Отже, енрофлораксацин у терапевтичній концентрації сприяє збільшенню показників забійного виходу курчат-бройлерів на 14 добу після його впоювання.

Органолептичні, хімічні, мікроскопічні показники продуктів забою курчат-бройлерів у разі впоювання енрофлораксацину. Органолептичні дослідження продуктів забою курчат-бройлерів дослідної і контрольної груп проводили за кімнатної температури. М'ясо на розрізі злегка вологе, не залишало вологої плями на фільтрувальному папері. Колір м'яса курчат-бройлерів після застосування енрофлораксацину не відрізнявся від контрольної і був блідо-рожевий. На розрізі м'ясо, отримане від курчат дослідної і контрольної груп щільне, пружне; ямка, що утворювалася під час натискання пальцем, швидко вирівнювалася, запах приємний, властивий даному виду м'яса. Бульйон отриманий з м'яса курчат-бройлерів за застосування енрофлораксацину під час їх вирощування не відрізняється від показників у контролі і був прозорий, ароматний, краплі жиру на поверхні бульйону були крупними.

Величина рН м'язів курчат-бройлерів контрольної групи становила від 5,58 до 6,22, дослідної – 5,72 до 6,32 на 2, 3, 4 добу зберігання за 4–5 °С, що відповідало нормі. Величина рН м'яса впродовж усього терміну зберігання та незалежно від доби забою була більшою у витяжці з м'яса курчат дослідної групи. Застосування енрофлоксацину у терапевтичній дозі підвищує рН м'яса курчат-бройлерів.

За результатами реакції з купруму сульфатом бульйон, приготовлений з м'яса курчат-бройлерів як контрольної, так і дослідної груп на 6, 12, 14 добу після впоювання препарату під час зберігання на 2, 3, 4 доби був свіжий. Але м'ясо відібране на 14 добу після впоювання енрофлоксацину у дослідній групі, на 4 добу зберігання за температури 4–5°С було сумнівної свіжості.

Реакція витяжки з м'яса курчат-бройлерів обох груп на пероксидазу була позитивною впродовж 4 діб зберігання, що свідчить про його свіжість.

За результатами реакції на аміак і солі амонію м'ясо курчат-бройлерів дослідної групи було свіже впродовж 3 діб зберігання. На 4 добу зберігання у м'яса, відібраного на 14 добу після впоювання курчат-бройлерам енрофлоксацину, витяжка мала жовтий колір і спостерігалось легке помутніння, що свідчить про його сумнівну свіжість.

Під час проведення мікроскопії мазків-відбитків на другу добу зберігання виявлено поодинокі мікроорганізми в м'ясі курчат-бройлерів обох груп, на 3 та 4 добу – виявлено не більше 10 поодиноких мікроорганізмів кокової форми в глибоких шарах. На 4 добу зберігання м'яса курчат-бройлерів дослідної групи, відібраного на 14 добу після останнього впоювання препарату, виявлено до 15 мікроорганізмів кокової форми у полі зору.

Отже, за хімічними та мікроскопічними показниками м'ясо курчат-бройлерів, яким під час вирощування впоювали розчин енрофлоксацину в терапевтичній концентрації на 4 добу зберігання було сумнівної свіжості.

Залишковий вміст енрофлоксацину в продуктах забою курчат-бройлерів за його застосування. Після впоювання енрофлоксацину у терапевтичній концентрації проводили забій курчат-бройлерів на 6, 12, 14 та 20 добу.

Встановлено, що найбільший вміст енрофлоксацину виявлено у м'язах крил, грудних, м'язах спини, стегна, гомілки, шкірі, у печінці та м'язовому шлунку курчат-бройлерів (табл. 2).

На 6 добу після припинення впоювання енрофлоксацину у м'язах шиї та внутрішніх органах: нирках, серці, легенях, селезінці курчат-бройлерів вміст енрофлоксацину був нижче МДР. Водночас виявлено перевищення вмісту енрофлоксацину у м'язах крил, грудних, спини, стегна, гомілки, м'язовому шлунку і печінці курчат-бройлерів. Найвищий вміст енрофлоксацину виявлено у шкірі, який у 10 разів перевищував максимально допустимий рівень.

На 12 добу після припинення впоювання енрофлоксацину в м'язах крил, та стегна курчат-бройлерів було перевищення його максимально допустимого рівня. Шкіра курчат-бройлерів на 12 добу після впоювання енрофлоксацину залишалася найбільш небезпечною щодо його залишків, які перевищують максимально допустимий рівень у 7,4 раза.

Залишковий вміст енрофлоксацину в продуктах забою курчат-бройлерів після впоювання енрофлоксацину в терапевтичній концентрації, мкг/кг, M±m, n=5

Продукт забою птиці	Період каренції енрофлоксацину			
	6 доба	12 доба	14 доба	20 доба
М'язи шиї	73,47±2,48	59,76±3,17*	61,94±2,12*	-
М'язи крила	441,39±6,56	151,25±7,31*	90,11±2,33*,**	-
М'язи грудні	664,67±8,04	75,63±3,87*	46,57±1,61*,**	-
М'язи спини	730,09±7,07	58,71±3,87*	63,06±1,79*,**	-
М'язи стегна	304,04±7,67	141,99±8,06*	45,70±1,32*,**	-
М'язи гомілки	685,68±13,11	71,62±3,60*	55,69±2,37*,**	-
Нирки	55,82±2,64	48,76±4,01*	44,73±2,00*	-
Серце	40,34±1,45	41,04±2,60	30,96±1,00*,**	-
Печінка	202,43±2,55	52,43±2,04*	37,25±1,71*,**	-
Легені	17,39±0,65	44,26±2,59*	33,40±0,95*,**	-
Селезінка	42,54±1,06	40,89±2,61	28,55±0,90*,**	-
Шлунок м'язовий	254,63±5,14	29,81±0,50*	29,53±1,04*	-
Шкіра	1016,5±55,02	742,23±14,78*	585,85±15,85*,**	92,28±5,72*,**

Примітка. * $p \leq 0,05$ порівняно з показниками на 6 добу, ** $p \leq 0,05$ порівняно з показниками на 12 добу

На 14 добу після припинення впоювання енрофлоксацину його вміст у всіх досліджуваних скелетних м'язах та внутрішніх органах курчат-бройлерів був у межах МДР, окрім шкіри. Вміст енрофлоксацину у шкірі курчат-бройлерів досягнув МДР лише на 20 добу після його останнього впоювання. Це свідчить про те, що забій птиці після застосування енрофлоксацину в терапевтичній концентрації необхідно проводити не раніше 20 доби після його останнього застосування. Отже, найбільший вміст енрофлоксацину після закінчення терміну каренції виявлено в шкірі, що вказує на ризик надходження цього антибіотику з продуктами забою курчат-бройлерів в організм споживача і передбачає необхідність обов'язкового дослідження шкіри на його залишки.

Вміст енрофлоксацину у крові та посліді курчат-бройлерів за його застосування. Визначення вмісту енрофлоксацину у крові методом рідинної хроматографії з мас-спектрометричним детектором показало, що найбільша концентрація була виявлена з другої по п'яту добу досліду. З кожною добою вміст енрофлоксацину в крові курчат-бройлерів знижувався. Попри те, що антимікробні засоби не є регламентованими у крові курчат-бройлерів, вміст енрофлоксацину залишався на рівні вище 100 мкг/кг впродовж 14 діб з початку його застосування препарату.

Найбільший вміст енрофлоксацину у посліді курчат-бройлерів виявлений з третьої по шосту добу застосування препарату. В подальшому його рівень у посліді курчат-бройлерів знижувався, але залишався високим впродовж 16 діб. Отже, доведено, що застосування енрофлоксацину курчатам-бройлерам у терапевтичній концентрації сприяє його накопиченню у крові, посліді, при чому

в крові високий вміст енрофлоксацину виявляється до 15 доби, а в посліді – до 17 доби досліду з початку застосування препарату (табл. 3).

Таблиця 3

Вміст енрофлоксацину у крові та посліді курчат-бройлерів, $M \pm m$, $n=15$

Доба досліду	Залишковий вміст енрофлоксацину, мкг/кг	
	кров	послід
2	1091,56±13,91	-
3	1914,45±23,68	7431,70±85,74
4	1722,40±43,74	3203,75±47,28
5	1531,59±21,07	2181,18±57,57
6	981,82±10,22	1940,88±9,57
7	780,49±10,09	1117,75±21,03
8	458,69±6,92	945,05±5,13
9	304,54±3,71	699,77±13,17
10	218,41±2,76	619,48±6,23
11	166,75±3,37	509,49±11,65
12	145,99±4,53	432,32±7,04
13	123,57±1,99	401,81±2,3
14	119,05±2,09	254,11±3,03
15	105,36±2,26	184,88±3,48
16	96,32±1,82	131,15±3,23
17	72,89±1,52	104,08±1,31
18	62,30±2,94	96,44±1,64
19	46,87±1,05	79,71±0,55

Отже, якщо в м'язах крила, стегна та шкірі значний вміст препарату виявлено навіть на 12–14 добу після випоювання, то в крові птиці і, особливо, посліді, енрофлоксацин у значній кількості виявляється значно довше. Це необхідно враховувати з метою удосконалення методів моніторингу забруднення побічних продуктів цим антибіотиком.

Токсико-біологічна оцінка м'яса курчат-бройлерів за надходження енрофлоксацину.

На підставі проведених досліджень встановлено, що м'язи крила та шкіра курчат-бройлерів, порівняно з контрольною групою, є слаботоксичні. В кінці періоду каренції у м'язах крила загибель інфузорії *Tetrachimena pyriformis* становила близько 11 %, виявлено загальмування рухів – у 70 % особин, активних та рухливих – 19 %. У шкірі курчат-бройлерів загибель інфузорії *Tetrachimena pyriformis* становила близько 15 %, виявлено загальмування рухів – у 79 % особин, активних та рухливих – 6 %.

Водночас м'язи грудні, гомілки, стегна курчат-бройлерів, яким застосовували енрофлоксацин на 6, 12 та 14 добу після останнього випоювання було нетоксичне для тест-культури *Tetrachimena pyriformis*. Експозиція тест-культури *Tetrachimena pyriformis* у середовищі з використанням цих м'язів показала відсутність загибелі, загальмування рухів, пригнічення росту, патологічних змін у цих найпростіших.

Встановлено, що відносна біологічна цінність м'язів стегна, крила та шкіри курчат-бройлерів дослідної групи на 6 добу після вживання енрофлоксацину була нижча, відповідно, на 10,76 %, 34,76 та 60 %, порівняно з контрольною групою (табл. 4).

Таблиця 4

Відносна біологічна цінність м'яса курчат-бройлерів, $M \pm m$, $n=5$

Група	М'язи курчат-бройлерів	Кількість клітин <i>Tetrachimena pyriformis</i> в 1 мл середовища $\times 10^4$	Біологічна цінність м'яса відносно контролю, %
Контрольна	Грудні м'язи	48,661 \pm 0,154	100
	М'язи стегна	48,333 \pm 0,126	100
	М'язи гомілки	48,716 \pm 0,205	100
	М'язи крила	48,333 \pm 0,187	100
	Шкіра	48,267 \pm 0,182	100
Дослідна 6 доба	Грудні м'язи	48,233 \pm 0,131	99,12
	М'язи стегна	46,133 \pm 0,165*	89,24
	М'язи гомілки	48,250 \pm 0,181	99,04
	М'язи крила	31,533 \pm 0,192*	65,24
	Шкіра	19,267 \pm 0,153*	39,92
Дослідна 12 доба	Грудні м'язи	48,649 \pm 0,108	99,97
	М'язи стегна	47,000 \pm 0,239*	97,24
	М'язи гомілки	48,689 \pm 0,139	99,94
	М'язи крила	40,067 \pm 0,206*	82,90
	Шкіра	24,933 \pm 0,206*	51,66
Дослідна 14 доба	Грудні м'язи	48,661 \pm 0,076	100
	М'язи стегна	48,133 \pm 0,133	99,58
	М'язи гомілки	48,711 \pm 0,160	99,59
	М'язи крила	45,933 \pm 0,206*	95,03
	Шкіра	30,133 \pm 0,165*	62,43

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

На 12 добу після застосування енрофлоксацину відносна біологічна цінність м'язів стегна, крила та шкіри курчат-бройлерів була на 2,76 %, 17,1, 48,34 % нижча, порівняно з контролем. На 14 добу після вживання енрофлоксацину відносна біологічна цінність грудних м'язів, гомілки, стегна у птиці дослідної групи не відрізнялася від контрольної, тоді як цей показник у м'язах крила був нижчий на 4,97 %, шкірі – на 37,57 %, порівняно з контролем.

Отже, виявлено вплив енрофлоксацину на відносну біологічну цінність м'яса курчат-бройлерів дослідної групи, залежно від термінів його каренції.

М'ясо та шкіра курчат-бройлерів з високим вмістом енрофлоксацину проявляло токсичну дію на тест-організм інфузорії *Tetrachimena pyriformis*, що пов'язано з наявністю токсичної дії, в результаті яких м'язи крил та шкіри дослідної групи виявилися слаботоксичними.

Мікробіологічні показники м'яса курчат-бройлерів за застосування енрофлоксацину. Дослідження мікробіологічних показників показали, що застосування енрофлоксацину курчатам-бройлерам не вплинуло на рівень та видовий склад мікрофлори в досліджуваних м'язах птиці. Мікробіологічні

показники у курчат-бройлерів дослідної групи відповідали вимогам чинних нормативно-правових актів. Кількість МАФАНМ у м'язах курчат-бройлерів дослідної групи була меншою, порівняно з контрольною групою. В свою чергу, м'язи крила курчат-бройлерів дослідної групи, забитих на 6 добу після впоювання, були на 40 % менше контаміновані МАФАНМ, порівняно з контрольною групою, а на 12 добу після припинення впоювання енрофлоксацину – на 32,4 %. На 14 добу забою м'язи гомілки курчат-бройлерів дослідної групи, порівняно з контрольною, також мали меншу кількість МАФАНМ. При цьому можемо відзначити, що кількість МАФАНМ збільшується в усіх групах м'язів курчат-бройлерів, залежно від доби забою. Отримані результати можна пояснити наявністю залишків енрофлоксацину в м'язах курчат-бройлерів, що спричинило бактерицидну дію, яка і позначилася на результатах дослідження.

Мікроскопічні зміни у м'язах курчат-бройлерів з найбільшим вмістом енрофлоксацину. Для дослідження використовували м'язи крил, грудні, стегна, гомілки (двоголовий м'яз плеча, великий грудний м'яз, двоголовий м'яз стегна, литковий м'яз).

Під час проведення гістологічного дослідження було встановлено, що на 6 добу після останнього застосування енрофлоксацину в усіх досліджених нами скелетних м'язах курчат виявлені мікроскопічні зміни. На окремих ділянках м'язів виявлені осередки змінених м'язових волокон, саркоплазма м'язового волокна нерівномірно зафарбовувалась еозином, на поперечних зрізах м'язового волокна в його саркоплазмі виявлялись інтенсивно червоні фрагменти міосимпласта округлої форми. З розвитком процесу послідовно відбувалося розволокнення міосимпласта, його частковий лізис, руйнування м'язового волокна (рис. 2).

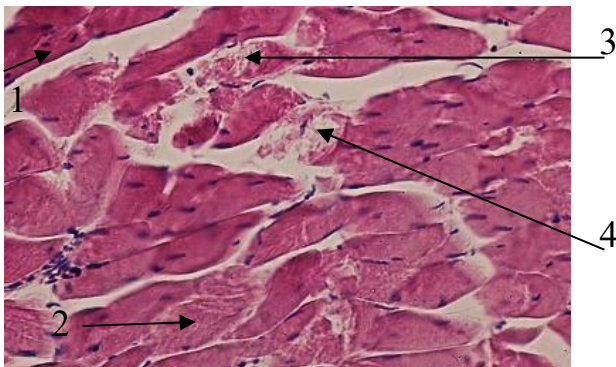


Рис. 2. Двоголовий м'яз плеча курчати-бройлера на 6 добу після застосування енрофлоксацину: 1 – м'язове волокно; 2 – розволокнення міосимпласта; 3 – частковий лізис міосимпласта; 4 – руйнування м'язового волокна. Гематоксилін Караці та еозин, х 400.

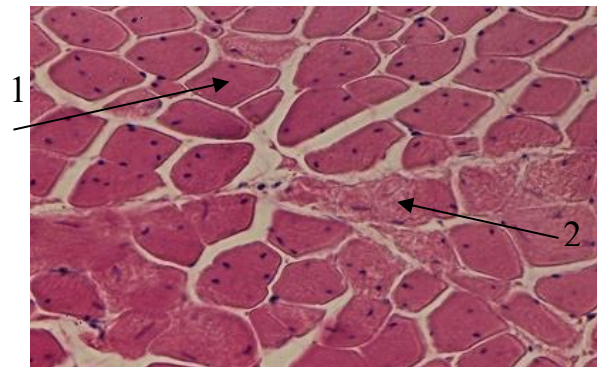


Рис. 3. Великий грудний м'яз курчати-бройлера на 12 добу після застосування енрофлоксацину: 1 – м'язове волокно; 2 – м'язове волокно з частково зруйнованим міосимпластом. Гематоксилін Караці та еозин, х 400

На 12 добу після останнього застосування препарату виявляли зміни у вигляді ділянок змінених м'язових волокон, з частково зруйнованим міосимпластом та у вигляді атрофованих м'язових волокон (див. рис. 3).

На 14 добу після останнього застосування енрофлоксацину курчатам-бройлерам мікроскопічні зміни у м'язах відрізнялися від виявлених змін на 12 добу. Отже, попередніх змін вже не реєстрували, окрім атрофованих м'язових волокон, що свідчить про кореляцію мікроскопічних змін у м'язах із хімічними показниками, токсико-біологічній оцінці та залишковим вмістом енрофлоксацину в них.

ВИСНОВКИ

У дисертації вирішується важлива наукова проблема щодо розробки і введення в практику сучасних науково обґрунтованих методів оцінки якості і безпечності продуктів забою курчат-бройлерів та побічних продуктів птахівництва з використанням рідинного хроматографа з мас-спектрометричним детектором для визначення залишкового вмісту енрофлоксацину.

Метод апробовано у проведенні санітарно-гігієнічної оцінки якості і безпечності продуктів забою курчат-бройлерів, вирощених у виробничих умовах з використанням енрофлоксацину у терапевтичній концентрації. Використано комплексний підхід з використанням органолептичних, мікроскопічних (гістологічних), хімічних, біохімічних, мікробіологічних методів досліджень та методу визначення залишкового вмісту енрофлоксацину.

1. За результатами апробації та оцінки придатності нового методу з визначення енрофлоксацину у м'ясі птиці, крові та посліді методом рідинної хроматографії з використанням мас-спектрометричного детектора отримано наступні валідаційні характеристики: для м'язів $CC\alpha=118,59$ мкг/кг, $CC\beta = 137,19$ мкг/кг, для крові - $CC\alpha = 42,85$ мкг/кг, $CC\beta=45,69$, для посліду – $CC\alpha= 55,65$, $CC\beta=61,3$ мкг/кг.

2. Аналізом проведеного моніторингу в Україні за 2013–2019 роки щодо визначення антибактеріальних речовин групи В1 виявлено 74,4 % проб м'яса курчат-бройлерів із залишковим вмістом енрофлоксацину в межах МДР. Перевищення МДР виявлено у двох пробах курячих яєць.

3. Застосування енрофлоксацину курчатам-бройлерам не впливає на клінічні та забійні показники птиці, але має вплив на свіжість м'яса; за органолептичними, хімічними, біохімічними, мікроскопічними та мікробіологічними показниками м'ясо курчат-бройлерів, яким випоювали енрофлоксацин у терапевтичній дозі, впродовж 3 діб зберігання за температури 4–5 °С зберігає властивості свіжого м'яса, відповідно до чинних вимог; на 4 добу м'ясо вже має сумнівну свіжість, в той час як м'ясо контрольної групи залишається свіжим.

4. Найбільший вміст енрофлоксацину після випоювання препарату курчатам бройлерам у терапевтичній концентрації виявлено у шкірі, м'язах крила, стегна. Зниження вмісту препарату в шкірі до максимально допустимого рівня виявлено лише на 20 добу.

5. Значний вміст енрофлоксацину виявлено у крові та посліді курчат-бройлерів після його застосування у терапевтичній концентрації, що необхідно враховувати під час виявлення його залишкового вмісту у продуктах забою та побічних продуктах птахівництва.

6. Використання продуктів забою курчат-бройлерів є відносно безпечним, окрім шкіри, через 14 днів після останнього застосування препарату, оскільки залишковий вміст енрофлоксацину вже не перевищує максимально допустимий рівень для продуктів забою птиці відповідно до вимог Регламенту Європейського Союзу 37/2010 року.

7. За токсико-біологічною оцінкою з використанням тест-культури інфузорій *Tetrachylena pyriformis* м'язи курчат-бройлерів з високим умістом енрофлоксацину після останнього використання енрофлоксацину у терапевтичній дозі протягом 5 днів проявляють токсичну дію, знижують його відносну біологічну цінність, характерну для слаботоксичного м'яса.

8. Застосування енрофлоксацину курчатам-бройлерам у терапевтичній концентрації викликає патологічні зміни у мікроструктурі різних груп м'язів, які характеризувалися ділянками змінених волокон: розволокнення м'ясимпласта, лізис, руйнування. Рівень вираженості даних патологічних змін у мікроструктурі м'язів курчат-бройлерів зменшувався в міру збільшення періоду виведення енрофлоксацину.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Рекомендовано для випробувальних і калібрувальних лабораторій використовувати науково-практичні рекомендації «Визначення антибіотиків у продукції тваринного походження за допомогою рідинного хроматомас-спектрометра».

2. З метою моніторингу залишкового вмісту енрофлоксацину у продуктах забою курчат-бройлерів рекомендовано використовувати метод рідинної хроматографії з мас-спектрометричним детектором.

3. З метою об'єктивного виявлення залишків енрофлоксацину у продуктах забою птиці для дослідження необхідно відбирати шкіру, м'язи крил та стегна.

4. Рекомендовано здійснювати забій курчат-бройлерів та реалізацію необроблених продуктів забою не раніше 20 доби після останнього застосування енрофлоксацину у терапевтичній концентрації.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України,

включених до міжнародних наукометричних баз даних

1. Лінійчук Н. В. Оптимізація методики визначення фторхінолонів у продуктах тваринного походження. Тваринництво України. 2014. № 8–9. С. 4–52.

2. **Лінійчук Н. В.**, Якубчак О. М., Галка І. В. Особливості накопичення енрофлоксацину в організмі курчат-бройлерів. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна

медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2017. Вип. 273. С. 115–122. *(Здобувачем проведено дослідження м'язів, крові та посліду на вміст залишкової кількості енрофлоксацину, узагальнено отримані результати, підготовлено матеріалу до друку).*

3. Лінійчук Н. В. Аналіз контролю залишків антибактеріальних речовин в Україні. Ветеринарна біотехнологія. 2018. № 32 (2). С. 323–327.

4. **Лінійчук Н. В.**, Якубчак О. М. Токсико-біологічна оцінка м'яса курчат-бройлерів за застосування препарату Байтрил 10 %. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2018. Вип. 285. С. 388–394. *(Здобувачем проведено токсико-біологічні дослідження м'яса курчат-бройлерів, проаналізовано отримані результати, підготовлено матеріал до друку).*

5. **Лінійчук Н. В.**, Якубчак О. М. Мікробіологічні показники м'язів курчат-бройлерів у разі застосування Байтрил 10 %. Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/view/dopovidi2019.04.006> *(Здобувачем проведено мікробіологічні дослідження, проаналізовано отримані результати, підготовлено статтю до друку).*

Патенти України на корисну модель

6. Новожицька Ю. М., **Лінійчук Н. В.**, Іванова О. В., Ступак О. М. Патент України на корисну модель 92150. МПК А61D99/00 (2014.01). Спосіб визначення антибактеріальних речовин в продукції тваринного походження за допомогою РХ/МС/МС: заявник і патентовласник Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи. № у 201311321; заявлено 24.09.2013; опубліковано 11.08.2014. Бюл. № 15. *(Здобувачем взято участь у розробленні принципу корисної моделі, дослідженнях, підготовлено матеріали до патентування).*

Науково-методичні рекомендації

7. Новожицька Ю. М., Іванова О. В., Ступак О. М., Василюк В. В., **Лінійчук Н. В.**, Коростинська Н. В. Визначення антибіотиків у продукції тваринного походження за допомогою рідинного хроматомас-спектрометра. К., 2014. 28 с. *(Розглянуто та схвалено Вченою радою Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (протокол № 6 від 31.10.2013 р.). Здобувачем проведено розроблення методики, валідування і оформлення рекомендацій).*

Тези наукових доповідей

8. **Лінійчук Н. В.**, Якубчак О. М. Оцінювання придатності підтверджуючих методів. Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва: XV Міжнародна науково-практична конференція професорсько-викладацького складу, аспірантів і студентів, м. Київ, 2016 року:

тези доповіді. К., 2016. С. 64–66. *(Здобувачем проаналізовано проведення оцінки підтверджуючих методів та підготовлено тези доповіді).*

9. Байєр О. В., Новожицька Ю. М., **Лінійчук Н. В.**, Визначення 70 антибактеріальних препаратів в м'язах скринінговим методом за допомогою РХ/МС/МС. Регіональний науковий симпозіум в рамках концепції «Єдине здоров'я», м. Київ, 24–28 квітня 2017 року: тези доповіді. К., 2017. С. 152. *(Здобувачем проведено розроблення та валідацію визначення антибактеріальних препаратів у м'язах методом РХ/МС/МС та підготовлено тези доповіді).*

10. **Лінійчук Н. В.**, Новожицька Ю. М. Особливості накопичення енрофлорксацину в м'язах та органах курчат-бройлерів. Регіональний науковий симпозіум в рамках концепції «Єдине здоров'я», м. Київ, 24–28 квітня 2017 року: тези доповіді. К., 2017. С. 93. *(Здобувачем проведено дослід та його аналіз, узагальнено та підготовлено тези до друку).*

11. **Лінійчук Н. В.**, Ступак О. М., Байєр О. В. Розробка методу одночасного визначення хінолонів в продуктах тваринного походження. Регіональний науковий симпозіум в рамках концепції «Єдине здоров'я», м. Київ, 16–18 квітня 2018 року: тези доповіді. К., 2018. С. 110. *(Здобувачем проведено розроблення методу та його аналіз, підготовлено тези до друку).*

12. **Лінійчук Н. В.**, Якубчак О. М. Аналіз моніторингу залишкових кількостей антибактеріальних речовин групи В1 в Україні. Контроль безпечності харчових продуктів. Україна – ЄС: невирішені питання: Міжнародна науково-практична конференція в рамках реалізації проекту за підтримки програми Жана Моне «Контроль безпечності харчових продуктів у ЄС», присвячена 120-річчю Національного університету біоресурсів і природо-користування України, м. Київ, 19–20 квітня 2018 року: тези доповіді. К., 2018. С. 45–46. *(Здобувачем проведено аналіз державного моніторингу в Україні та підготовлено матеріали до друку).*

13. **Лінійчук Н. В.**, Якубчак О. М. Мікробіологічні показники м'язів курчат-бройлерів у разі застосування Байтрилу 10 %. Сучасні тенденції ветеринарної освіти та науки: Всеукраїнська науково-практична конференція, присвячена 100-річчю факультету ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природо-користування України, м. Київ, 09 жовтня 2019 року: тези доповіді. К., 2019. С. 120–121. *(Здобувачем проведено мікробіологічні дослідження м'язів курчат-бройлерів, здійснено їх аналіз, підготовлено матеріали до друку).*

14. **Лінійчук Н. В.**, Якубчак О. М. Вплив застосування курчатам-бройлерам Байтрилу 10 % на мікробіологічні показники м'яса. Освітньо-наукові аспекти контролю інфекційних хвороб тварин в Україні: Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 28 листопада 2019 року: тези доповіді. К., 2019. С. 4–5. *(Здобувачем проведено дослідження, їх аналіз та підготовлено тези до друку).*

АНОТАЦІЯ

Лінійчук Н. В. Санітарно-гігієнічна оцінка продуктів забою курчат-бройлерів за застосування енрофлораксацину. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.09 «Ветеринарно-санітарна експертиза». Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, 2021.

Вперше в Україні проведено оцінку придатності методу з визначення енрофлораксацину у м'ясі, крові та посліді курчат-бройлерів відповідно до Рішення Комісії 657/2002/ЄС.

Проаналізовано результати державного моніторингу антибактеріальних речовин в Україні за 2013–2019 роки. За досліджуваний період виявлено два позитивних результати в яйцях, що містили залишковий вміст енрофлораксацину. Із досліджених проб м'яса курчат бройлерів у 74,4 % проб було виявлено залишковий вміст енрофлораксацину, який не перевищував МДР.

Випоювання курчатам-бройлерам енрофлораксацину в терапевтичній концентрації не впливає на їх клінічний стан. Не виявлено впливу енрофлораксацину на прирости живої маси курчат-бройлерів дослідних груп, проте встановлено збільшення показників забійного виходу курчат на 14 добу після випоювання препарату.

За хімічними показниками м'ясо курчат-бройлерів дослідної групи було свіжим. Проте за реакцією з купруму сульфатом, аміаком, солями амонію м'ясо курчат-бройлерів дослідної групи на 14 добу після застосування енрофлораксацину на 4 добу його зберігання було сумнівної свіжості.

Найвищий вміст енрофлораксацину, у разі його застосування, було визначено у шкірі, м'язах крил, стегна. Впродовж всього терміну проведення дослідів виявлено високий вміст енрофлораксацину у крові та посліді.

М'язи та шкіра курчат-бройлерів, які мали високий вміст енрофлораксацину, за токсико-біологічною оцінкою були слаботоксичними і мали низьку біологічну цінність, проте за мікробіологічними показниками м'ясо відповідає вимогам чинних в Україні нормативно-правових актів. Застосування енрофлораксацину курчатам-бройлерам не вплинуло на рівень та видовий склад мікрофлори у м'язах птиці. Під час проведення гістологічних досліджень виявлено мікроскопічні зміни в усіх м'язах курчат-бройлерів дослідної групи.

Ключові слова: антибіотики, енрофлораксацин, продукти забою, м'язи, антибактеріальні речовини, курчата-бройлери, рідинна хроматографія, мас-спектрометрія.

АННОТАЦИЯ

Линийчук Н.В. Санитарно-гигиеническая оценка цыплят-бройлеров при использовании энрофлораксацина. – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.09. «Ветеринарно-санитарная экспертиза». Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины. Киев, 2021.

Целью исследования было дать санитарно-гигиеническую оценку продуктам убоя цыплят-бройлеров при применении энрофлоксацина, а также определить оценку пригодности метода для определения остаточного содержания энрофлоксацина в мясе птицы, крови и помете, применяя метод жидкостной хроматографии с использованием масс-спектрометрического детектора.

Впервые в Украине валидировано методику по определению энрофлоксацина в мясе, крови и помете в соответствии с Решением Комиссии 657/2002/ЕС. Установлено особенности накопления энрофлоксацина в разных группах мышц, продуктах убоя цыплят-бройлеров, крови и помете.

Проведено анализ результатов мониторинга остаточного содержания антибактериальных веществ группы В1 в Украине за 2013–2019 года. За исследуемый период выявлено два положительных результата в куриных яйцах, в которых было превышение остаточного содержания энрофлоксацина. При этом не было выявлено превышения ПДК энрофлоксацина в мясе птицы, что соответствует требованиям Регламента Комиссии (ЕС) № 37/2010. Необходимо отметить, что остаточное содержание энрофлоксацина в 74,4 % случаев было выявлено в мясе птицы, но они не превышали максимально-допустимый уровень.

Применение энрофлоксацина в терапевтической концентрации 50 мг/л в течение 5 суток не имеет влияния на клиническое состояние и продуктивность птицы. При этом влияет на повышение показателей забойного выхода цыплят-бройлеров на 14 сутки после окончания его выпойки.

Органолептические показатели продуктов убоя птицы были в пределах нормы. Показатель рН мяса цыплят-бройлеров опытной группы колебался от 5,72 до 6,32 на 2, 3 и 4 сутки хранения при 4–5 °С, что отвечает норме. За химическими реакциями мясо цыплят-бройлеров контрольной и опытной группы было свежим. По реакции с меди сульфатом, аммиаком и солями аммония мясо цыплят-бройлеров, получавших энрофлоксацин на 14 сутки после последнего применения препарата на 4 сутки хранения было сомнительной свежести.

На 6 сутки после применения энрофлоксацина высокое содержание выявлено в мышцах крыльев, грудных, спины, бедра, голени, печени, желудке. Самое высокое содержание энрофлоксацина выявлено в коже, что в 10 раз превышало максимально допустимый уровень. На 12 сутки после последнего выпаивания ветеринарного препарата высокое содержание энрофлоксацина было выявлено в мышцах крыльев, бедра и коже. Кожа цыплят-бройлеров остается опасным продуктом вследствие превышения ПДК энрофлоксацина в 7,4 раза. На 14 сутки после выпаивания энрофлоксацина его остаточное содержание во всех исследуемых скелетных мышцах и внутренних органах было

в пределах ПДК, кроме кожи. Содержание энрофлоксацина в коже цыплят-бройлеров достигла ПДК только на 20 сутки после его последнего применения.

Во время проведенного исследования наблюдается высокий уровень остаточного содержания энрофлоксацина в крови и помете (до 15–17 дня опыта с начала применения препарата концентрация энрофлоксацина превышает 100 мкг/кг).

Мясо и кожа цыплят-бройлеров с высоким содержанием энрофлоксацина проявляло токсическое действие на организм инфузории *Tetrachymena pyriformis*, что связано с наличием токсического влияния, в результате которого мышцы крыла и кожа опытной группы были слаботоксичными. Обнаружено влияние энрофлоксацина на относительную биологическую ценность мяса птицы опытной группы, в зависимости от сроков каренции.

По микробиологическим показателям количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, бактерий группы кишечной палочки, *Proteus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* в грудных мышцах, бедра, крыльев, голени после применения энрофлоксацина в терапевтической концентрации соответствует установленным в Украине требованиям нормативно-правовых актов.

При проведении гистологических исследований выявлены микроскопические изменения в мышцах опытной группы цыплят-бройлеров, регистрировали изменения мышечных волокон, разволокнение миосимпласта, его частичный лизис, разрушение мышечного волокна. Только на 14 сутки после выпаивания препарата определяли незначительные изменения в виде атрофированных мышечных волокон.

Полученные экспериментальные данные дают основание рекомендовать убой цыплят-бройлеров и реализацию необработанных продуктов убоя не ранее 20 дня после последнего применения энрофлоксацина в терапевтической концентрации.

Ключевые слова: антибиотики, энрофлоксацин, продукты убоя, мышцы, антибактериальные вещества, цыплята-бройлеры, жидкостная хроматография, масс-спектрометрия.

ANNOTATION

Liniichuk N. V. Sanitary and Hygienic Assessment of Broiler Chickens by Using Enrofloxacin. – The qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the scientific degree of candidate of veterinary sciences, specialty 16.00.09 «Veterinary and Sanitary Expertise». National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Kyiv, 2021.

For the first time in Ukraine, the suitability of the method for quantification of enrofloxacin in muscles tissues, blood and litter of broiler chickens has been assessed in accordance with the European Commission Decision 657/2002/EC.

The results of the state monitoring of antibacterial substances application in Ukraine during the years 2013–2019 have been analyzed. Two positive results

pertaining to hen eggs containing residual enrofloxacin have been revealed within the study period. Residual content of enrofloxacin, which did not exceed the MRL was also found in 74 % of the studied samples of broiler chicken meat.

Enrofloxacin administered in therapeutic concentration orally with drinking water to broiler chickens does not affect their clinical condition. No effect of enrofloxacin on live weight gain of broiler chickens has been found in the experimental groups, however, an increase in weight of chickens slaughtered on the 14th day after cessation of the drug administration has been revealed.

According to chemical indices, the meat of broiler chickens of the experimental group was fresh. However, reactions with copper sulphate, ammonia and ammonium salts demonstrated that meat of broiler chickens of the experimental group slaughtered on the 14th day after cessation of enrofloxacin administration was of dubious freshness on the 4th day of its storage.

The highest concentration of enrofloxacin in tissues of broiler chickens exposed to enrofloxacin treatment was found in skin, wings and thighs. High levels of enrofloxacin in blood and chicken manure were being detected throughout the study period.

The results of toxicological and biological assessment showed that muscles and skin of broiler chickens containing high levels of enrofloxacin were of weak toxicity and of low biological value. However, according to microbiological indices the meat complies with requirements of the regulations that are currently in force in Ukraine. Treatment of broiler chickens with enrofloxacin did not affect the level and species composition of the microflora in poultry muscles. The histological examinations revealed microscopic changes in all muscles of broiler chickens of the experimental group.

Key words: antibiotics, enrofloxacin, slaughter products, muscles, antibacterial substances, broiler chickens, liquid chromatography, mass spectrometry.

Підписано до друку 12.04.2021 року. Формат 60x84\16
Ум. друк. арк. 0,9 Обл.-вид.арк. 0,9
Наклад 100 прим. Зам. № 210230

Віддруковано у редакційно-видавничому відділі НУБіП України
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041, тел.: 527-81-55, e-mail: nubip_druk@ukr.net
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4097 від 17.06.2011

