НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР
«ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ»

К І Н А Ш
Оксана В'ячеславівна

УДК 619:616.98:[582.281.21+582.282.123.4]:636.5

АСОЦІЙОВАНІ МІКОЗИ ПТИЦІ (*ASPERGILLUS*, MUCORACEAE) ТА РОЗРОБКА ЗАСОБІВ БОРОТЬБИ З НИМИ

16.00.03 — ветеринарна мікробіологія, епізоотологія,
інфекційні хвороби та імунологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Харків — 2017

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Полтавській державній аграрній академії Міністерства освіти і науки України

Наукові керівники: кандидат ветеринарних наук, доцент
Аранчій Сергій Васильович

доктор ветеринарних наук, професор
Євстаф'єва Валентина Олександрівна,
Полтавська державна аграрна академія,
завідувач кафедри паразитології
та ветеринарно-санітарної експертизи

Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук,
старший науковий співробітник
Ксьонз Ігор Миколайович,
Інститут свинарства і агропромислового виробництва
НААН, завідувач відділу фізіології та здоров'я тварин

доктор ветеринарних наук, професор
Ткаченко Олексій Андрійович,
Дніпропетровський державний
аграрно-економічний університет,
завідувач кафедри епізоотології та інфекційних хвороб

Захист відбудеться 10 жовтня 2017 р. о 13–00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.359.01 у Національному науковому центрі «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» за адресою: 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» за адресою: 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83

Автореферат розісланий 8 вересня 2017 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
кандидат ветеринарних наук В. І. Болотін

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Мікроскопічні гриби є унікальними за своїми біологічними властивостями організмами. Вони відіграють досить неоднозначну роль для людства (Clemente A. R., 2001; Позднякова Н. Н., 2002; Gupta U. S., 2005). Одні види грибів використовують для отримання антибіотичних речовин і ферментів (Білай В. І., 1961; Єршова Є. Ю., 2003; Борисенко А. В., 2010), а інші є продуцентами мікотоксинів і збудниками мікозів (Jensen H. E., 1996; Kuldeep D., 2013; Ahasan S., 2013). У численних публікаціях українських науковців підтверджується наявність і патогенна роль мікотоксикозів у тварин, однак, лише поодинокі джерела стосуються мікозів птиці (Брезвин О. М., 2012; Барабаш А. Ф. та ін., 2013; Краєвський А. Й., 2014; Тимощук Т. М., 2014; Хмельницький Г. О., Духницький В. П., 1998; Ображей А. Ф., Погребняк Л. І., 1998; Зон Г. А., 2016).

Найбільш поширеними мікозами серед сільськогосподарської птиці є аспергільоз та мукормікоз, які спостерігаються у вигляді спорадичних випадків за умов порушення технологій інкубації яєць, зоогігієнічних умов утримання птиці та зберігання кормів. Складність діагностики аспергільозу та мукормікозу полягає у різноманітності та неспецифічності клінічних ознак (Бордунова О. Г., 2016; Chinaya Y., 1992).

Засоби, запропоновані для боротьби з аспергільозом, є високотоксичними та небезпечними для довкілля. Щодо боротьби та профілактики мукормікозу птиці в Україні не розроблено жодних рекомендацій. Разом з тим, виробники сільськогосподарської продукції все більшу увагу звертають на принципово нові напрями, що дозволять отримувати екологічно безпечну продукцію. Зокрема, у нашій державі створено Федерацію Органічного Руху України; видано Закон України «Про виробництво та обіг органічної сільськогосподарської продукції та сировини» (2014), що передбачає стимулювання природного імунного захисту тварин і запобігання використання хімічних ветеринарних препаратів.

Виходячи з вищенаведеного, питання визначення видового складу збудників мукормікозу й аспергільозу птиці та вивчення їхніх біологічних властивостей, проведення скринінгу мікогенної контамінації кормів і забрудненості повітря птахівничих приміщень, з’ясування особливостей патогенезу мікозів, а також пошук принципово нових екологічно безпечних засобів боротьби з патогенними мікроміцетами мають суттєве значення та є актуальними для подальшого ефективного розвитку галузі птахівництва та збереження здоров’я людей.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом ініціативної науково-дослідної теми кафедри патологічної анатомії та інфекційної патології факультету ветеринарної медицини Полтавської державної аграрної академії «Профілактика і заходи боротьби при асоціативному перебігу аспергільозу та мукормікозу птиці» (номер державної реєстрації 0114U001580, 2011–2018 рр.).

Мета та задачі дослідження. Метою роботи було проведення скринінгових досліджень щодо мукормікозу й аспергільозу птиці на території Полтавської області, з'ясування особливостей патогенезу та розроблення екологічно безпечних заходів боротьби та профілактики означених захворювань.

Для досягнення цієї мети було поставлено наступні задачі:

— визначити ступінь розповсюдження збудників мукормікозу й аспергільозу птиці у птахогосподарствах Полтавської області та вивчити культурально-морфологічні властивості польових ізолятів;

— визначити ступінь контамінації кормів рослинного походження та забрудненості повітря птахівничих приміщень грибами родини Mucoraceae та роду *Aspergillus* у птахогосподарствах Полтавської області;

— з'ясувати особливості патогенезу спонтанного асоційованого мукормікозу й аспергільозу птиці та експериментального мукормікозу;

— провести порівняльну оцінку чутливості ізолятів грибів від птиці до поліенових антибіотиків та похідних азолів, ефірної олії монарди трубчастої та евгенолу;

— визначити антагоністичну активність бактерій групи *Bacillus subtilis* щодо ізолятів грибів родини Mucoraceae та роду *Aspergillus*;

— визначити фунгіцидну ефективність ультрафіолетового опромінення щодо ізолятів грибів родини Mucoraceae та роду *Aspergillus*;

— розробити екологічно безпечні засоби зниження забрудненості повітря закритих приміщень грибами родини Mucoraceae й роду *Aspergillus*.

Об'єкт дослідження: мукормікоз птиці та його асоціація з аспергільозом.

Предмет дослідження: епізоотична ситуація щодо мукормікозу й аспергільозу птиці на території Полтавської області; морфологічні та культуральні властивості ізолятів збудників мукормікозу й аспергільозу птиці; характеристики патогенезу, засоби боротьби та профілактики мукормікозу й аспергільозу птиці.

Методи дослідження: епізоотологічний, бактеріологічні, мікологічні, токсикологічні, клінічні, патологоанатомічні, гематологічні, біохімічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Отримано нові кількісні дані щодо циркуляції збудників мукормікозу й аспергільозу птиці на території Полтавської області, визначено їхню родову/видову належність.

Уперше в Україні вивчено мукормікоз як окрему нозологічну одиницю, установлено основні відмінності його прояву як моноінфекції та в асоціації з аспергільозом. Отримано нові дані щодо чутливості патогенних мікроміцетів роду *Mucor* та *Aspergillus* до дії ультрафіолетового опромінення.

Експериментально доведено антагоністичну активність пробіотичних культур групи *Bacillus subtilis* щодо збудників аспергільозу та мукормікозу.

Уперше в Україні розроблено екологічно безпечні для довкілля способи зниження забрудненості повітря спорами грибів-збудників мукормікозу й аспергільозу птиці залежно від їхнього видового складу. Наукову новизну підтверджено патентами України на корисну модель: № 98377 «Спосіб

зниження забрудненості повітря закритих приміщень грибками виду *Aspergillus flavus*» (2015 р.); № 98378 «Спосіб зниження забрудненості повітря закритих приміщень грибками виду *Aspergillus fumigatus*» (2015 р.); № 98375 «Спосіб зниження забрудненості повітря закритих приміщень грибками виду *Aspergillus niger*» (2015 р.); № 98376 «Спосіб зниження забрудненості повітря закритих приміщень грибками роду *Mucor*» (2015 р.).

Практичне значення одержаних результатів. Проведені скринінгові дослідження щодо розповсюдженості патогенних мікроміцетів у кормах, повітрі та серед птиці надали можливість визначити фактори епізоотологічних ризиків у птахогосподарствах Центрального регіону України.

Результати досліджень фунгіцидних властивостей ефірної олії монарди трубчастої та евгенолу, а також антагоністичної активності пробіотичних культур групи *Bacillus subtilis* можуть бути використані під час розробки схем деконтамінації пташників від грибів *Mucor* spp., *Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Aspergillus fumigatus.*

Розроблено методичні рекомендації «Мукормікоз птиці», затверджені колегією Головного управління Держпродспоживслужби в Полтавській області (протокол № 3 від 06.04.2016 р.).

Результати експериментальних досліджень використовуються в роботі хіміко-токсикологічного відділу Регіональної державної лабораторії ветеринарної медицини в Полтавській області, науково-дослідній роботі та навчальному процесі на факультетах ветеринарної медицини Житомирського національного агроекологічного університету, Білоцерківського національного аграрного університету, Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету, Сумського національного аграрного університету, Луганського національного аграрного університету.

Особистий внесок здобувача полягає у самостійному пошуку, аналізу й узагальненні даних наукової літератури за темою дисертації, виконанні повного обсягу експериментальних досліджень, статистичній обробці й узагальненні результатів, формулюванні висновків і пропозицій виробництву, а також підготовці рукопису дисертації.

Мікологічні дослідження патологічного матеріалу, кормів і повітря пташників, вивчення біологічних властивостей збудників мукормікозу й аспергільозу, виділених від птиці, проводилися у співпраці з провідним мікологом Регіональної державної лабораторії ветеринарної медицини в Полтавській області С. Г. Глущенко; визначення патоморфологічних змін у курей і лабораторних тварин за мукормікозу й аспергільозу — під керівництвом завідувача кафедри патологічної анатомії та інфекційної патології ПДАА, д. вет. н., проф. М. В. Скрипки; вивчення антифунгальних властивостей ефірних олій щодо грибів роду *Mucor* та *Aspergillus* — за участі доцента кафедри мікробіології, вірусології та імунології ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», к. б. н., доц. В. П. Полянської; вивчення фунгіцидної та фунгіостатичної дії ультрафіолетового опромінення щодо грибів роду *Mucor* та *Aspergillus* — за участі професора кафедри вірусології, патологічної анатомії

та хвороб птиці ім. проф. І. І. Панікара Сумського національного аграрного університету, к. вет. н., проф. Г. А. Зона.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися, оговорювалися та були схвалені на: засіданнях ученої і методичної рад факультету ветеринарної медицини ПДАА (2011–2016 рр.); наукових конференціях професорсько-викладацького складу, наукових співробітників та аспірантів ПДАА (2011–2016 рр.); міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 90-річчю факультету ветеринарної медицини НУБіП України «Проблеми освіти, науки і впроваджень у ветеринарній медицині України та шляхи їх вирішення на сучасному етапі» (Київ, 2010 р.); всеукраїнських науково-практичних конференціях «Сучасні науково-практичні досягнення у ветеринарній патоморфології (Полтава, 2011 р.), «Проблеми ветеринарної паразитології та якість і безпека продукції тваринництва» (Полтава, 2014 р.) і «Роль науки у вирішенні актуальних проблем тваринництва» (Полтава, 2015 р.); VIII українській конференції по інкубації яєць сільськогосподарської птиці (Харків, 2015 р.); XIV всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2015 р.); V науково-практичній конференції Міжнародної асоціації паразитоценологів «Паразитарные системы и паразитоценозы животных» (Вітебськ, 2016 р.); міжнародних науково-практичних конференціях «Біобезпека у тваринництві і птахівництві: проблеми та їх рішення» (Миколаїв, 2016 р.) і «Проблеми емерджентних хвороб тварин: молекулярна епізоотологія, експрес-діагностика та біобезпека» (Одеса, 2016 р.).

Публікації. Основні положення дисертаційної роботи опубліковано у 16 друкованих працях, з них 8 — у наукових фахових виданнях України та Білорусі, 4 описи до патентів України на корисну модель, 3 — у матеріалах конференцій та 1 методичні рекомендації.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 257 сторінках комп'ютерного тексту (з них основного тексту — 162 сторінки), ілюстрована 27 таблицями та 53 рисунками і складається з розширеної анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів власних досліджень, їхнього аналізу й узагальнення, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел літератури, який налічує 279 найменувань, у тому числі 197 — закордонних авторів, і додатків.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертаційна робота виконувалась упродовж 2010–2016 рр. у наукових лабораторіях кафедри патологічної анатомії та інфекційної патології Полтавської державної аграрної академії, а також кафедри мікробіології, вірусології та імунології ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія» та Регіональної державної лабораторії ветеринарної медицини в Полтавській області. Виготовлення та фарбування гістологічних зрізів проводилося у лабораторії ТОВ «Віта» (м. Полтава).

Ступінь розповсюдження збудників мікозів вивчали шляхом статистичного аналізу звітності Головного управління Держпродспоживслужби в Полтавській області, а також власними дослідженнями 69 зразків патологічного матеріалу від загиблої і вимушено забитої птиці, 293 зразків кормів для сільськогосподарських тварин (у тому числі зернові, комбікорм, відходи рослинного походження та грубі корми), 40 зразків повітря пташників та інкубаторіїв (рис. 1).

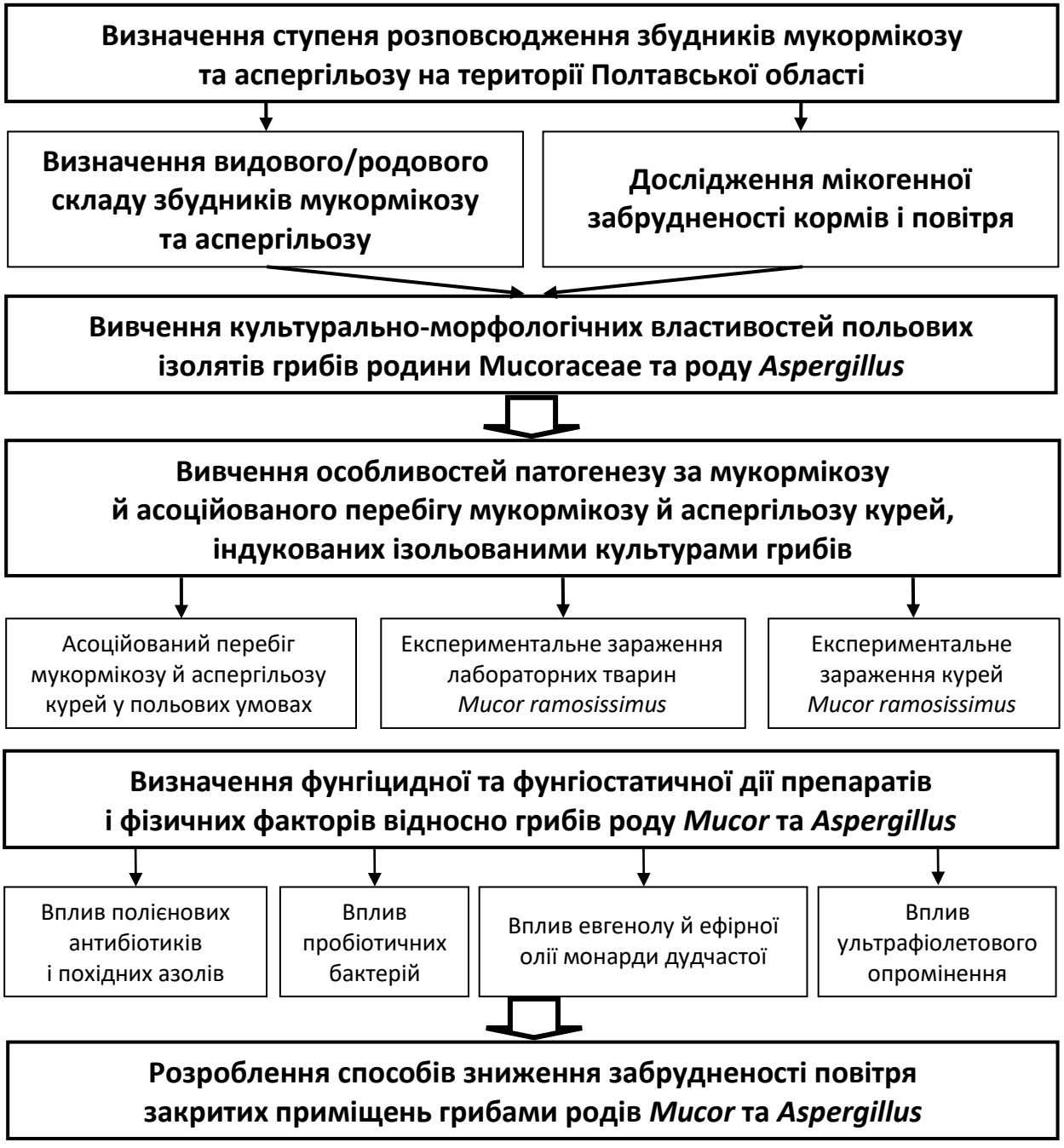

Рис. 1. Загальна схема проведених наукових досліджень.

Для визначення токсичності кормів проводили біопробу на кролях (шкірна проба за Ятелем, ДСТУ 3570-97) і культурі колподи (Ображей А. Ф., 1998).

Визначення концентрації мікробних клітин, спор пліснявих і дріжджеподібних грибів у повітрі птахівницьких приміщень проводили за стандартними методиками з використанням пробовідбірника автоматичного «Тайфун» Р-40.

Для експериментального відтворення мукормікозу було використано 12 білих мишей породи СВА віком 2–3 міс. (отримані з Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України) та 12 курей кросу ломан-браун віком 5–6 міс. (отримані з ПП «Новосанжарське інкубаторно-птахівниче підприємство»).

Клінічні, патологоанатомічні та гістоморфологічні зміни за асоційованого перебігу мукормікозу й аспергільозу вивчали на курях породи сріблястий адлер та кросу ломан-браун віком 10–12 місяців, які утримувалися у ПОСП «АФ «Перемога» Зіньківського району Полтавської області.

Поживними середовищами для ізоляції, культивування та типування культур мікроорганізмів слугували агар Сабуро, агар Чапека, середовище Плаута, середовище Григоракі, сусло-агар, середовище Ван-Ітерсона, бульйон Сабуро, середовище медове, м'ясо-пептонний агар.

Визначення інтенсивності спороутворення на поживних середовищах проводили за загальноприйнятою методикою й оцінювали в КУО/см^2 (Билай В. И., 1982).

Концентрацію спор грибів у 1 см^3 суспензії визначали стандартним методом за допомогою камери Горяєва (Коваль Е. З., 1982).

Культури мікроорганізмів. У дослідах використовували польові ізоляти грибів *Mucor ramosissimus* Samutsevitsch, *Aspergillus fumigatus* Fresenius (ізольовані від курей-несучок віком 10–12 міс., ПОСП «АФ «Перемога»), *Aspergillus niger* van Tieghem, *Aspergillus flavus* Link (ізольовані від декоративних курей бентамок віком 7–12 міс., віварій ПДАА). Пробіотичні культури групи *Bacillus subtillis* (*B. licheniformis* і *B. subtillis)* отримували з препарату Probiotics In Progress Animal House Stabilizer (PIP AHS) виробництва компанії «Chrisal NV» (Бельгія).

Експериментальне відтворення мукормікозу на біологічних моделях проводили на курях і білих мишах, було сформовано по 2 дослідні та 2 контрольні групи по 6 гол. у кожній.

Дослідних тварин інфікували інтраперитонеально суспензією спор гриба *Mucor ramosissimus* з концентрацією 1×10^6 КУО/см^3 у дозах 0,5 см^3/гол. (для курей) і 0,2 см^3/гол. (для білих мишей). Контрольним тваринам вводили інтраперитонеально стерильний фізіологічний розчин у таких саме дозах. Евтаназію проводили шляхом інгаляцій ефіру, по 2 тварини з кожної групи, мишей — на 5-ту, 10-ту та 15-ту доби, курей — на 15-ту, 30-ту та 60-ту доби.

Розтин трупів тварин проводили методом повної евісцерації. Зразки органів фіксували в 10 %-му забуференому формаліні. Гістологічні зрізи виготовляли за стандартними методиками з подальшим фарбуванням гематоксилін-еозином. Мікрофотографування здійснювали з використанням бінокулярного мікроскопу XSP-139 TP із системою аналізу зображення за допомогою програми «Відео Тест».

Кров для морфологічних і біохімічних досліджень відбирали з підкрильцевої вени. Було сформовано три групи птиці: контрольна (9 гол.) — клінічно здорові кури; перша дослідна (9 гол.) — кури, спонтанно хворі на мукормікоз в асоціації з аспергільозом; друга дослідна (6 гол.) — кури, експериментально заражені грибом *Mucor ramosissimus*. Визначення гематологічних показників проводили за загальноприйнятими методами (Кондрахин И. П. та ін., 2004; Влізло В. В. та ін., 2012). Біохімічні показники сироватки крові досліджували за допомогою біохімічного аналізатора «LabAnalit SA» (Китай) з використанням реактивів «СпайнЛаб» (Україна). У сироватці крові визначали: вміст загального білка (біуретовим методом), альбуміну (колориметричним методом з бромкрезоловим зеленим), сечової кислоти (колориметричним методом з уріказою), холестерину (колориметричним методом з холестериноксидазою та пероксидазою), тригліцеридів (колориметричним методом з гліцеринфосфатдегідрогеназою та пероксидазою), кальцію (колориметричним методом з о-крезолфталеїном), хлоридів (колориметричним методом з іонами ртуті), неорганічного фосфору (метод з молібдатом амонію), активність лужної фосфатази (кінетичним методом з р-нітрофенілфосфатазою), АлАт, АсАт і ЛДГ (кінетичним методом з нікотинамідаденіндинуклеотидом), ГГТП (кінетичним методом з γ-глютамілтрансферазою).

Визначення чутливості грибів до фунгіцидних препаратів проводили методом дифузії в агар за загальноприйнятою методикою (Головко А. Н., 2007; Визначення …, 2008). Як поживне середовище використовували агар Сабуро. Концентрація інокулюму для грибів роду *Mucor* становила 2×10^6 КУО/см^3, для *Aspergillus fumigatus* — 4×10^6 КУО/см^3, *Aspergillus flavus* — 3×10^6 КУО/см^3, *Aspergillus niger* — 1×10^6 КУО/см^3 (Pasqualotto A. C., 2010). Використовували стандартні диски з антибіотиками — Кетоконазол 10 мкг, Амфотерицин В 100 ОД, Ністатин 100 ОД, Клотримазол 10 мкг виробництва «HiMedia Laboratories» (Індія).

Визначення антагоністичної активності бактерій групи *Bacillus subtilis* щодо грибів роду *Mucor* та *Aspergillus* проводили методами сумісного культивування на щільному поживному середовищі (крапельний метод в модифікації Глушанової Н. А. зі співавт., 2004) та відстроченого культивування (метод штрихів) (Громових Т. І., 2014). Оцінку антагоністичної активності виражали в плюсах за розміром зони затримки росту («–» — затримка росту відсутня; «+» — затримка росту невиразна; «++» — 0–5 мм; «+++» — 5–10 мм, «++++» —10–15 мм; «+++++» — 15–20 мм) для методу штрихів і шкалою Джонсона і Карла — для крапельного методу (Попова А. Д. та ін., 2014; Živković S. et al., 2010).

Для визначення чутливості грибів до препаратів рослинного походження з метою розроблення композиції для деконтамінації повітря закритих приміщень використовували ефірну олію монарди трубчастої (*Monarda fistulosa* L.) виробництва ООО НПФ «Сайбервижн-Био» (Росія) й евгенол виробництва ЗАО «ОЭЗ ВладМиВа» (Росія). З цією метою з фільтрувального паперу виготовляли диски діаметром 6 мм, які просочували 0,02 см^3 евгенолу

або 0,02 $см^3$ ефірної олії монарди. Визначення мінімальної пригнічуючої концентрації евгенолу й ефірної олії монарди щодо культур грибів проводили за стандартною методикою Е-тест (епсилометричний метод).

Вивчення ефективності застосування композицій евгенолу й ефірної олії монарди для зниження рівня контамінації повітря закритих приміщень грибами родів *Mucor* та *Aspergillus* проводили седиментаційним методом в аерозольній камері об'ємом 0,5 $м^3$ за допомогою пульверизатора та компресора з продуктивністю 0,8 атм. У повітрі камери було створено концентрацію спор $2{,}1 \times 10^4$ КУО/$м^3$. Розпилення композицій проводили із розрахунку 1 мг/$м^3$ повітря та експозицією 1 год. Як емульгатор використовували Tween-20 виробництва «Bio-Rad» (США), як розчинник — фізіологічний розчин, й отримували емульсію об'ємом 10 $см^3$. Контролем слугувало розпилення 10 $см^3$ стерильного фізіологічного розчину.

Розрахунок очікуваних витрат на одну обробку приміщення проводили на прикладі пташника розміром 96 × 12 × 3 м. Кількість і вартість компонентів для обробки приміщення вираховували за допомогою геометричної пропорції.

Для визначення впливу ультрафіолетового випромінювання на спори грибів використовували метод експозиції суспензії спор грибів *Mucor* та *Aspergillus* (Жданова Н. Н., 1982) з використанням бактерицидної камери «Panmed» з лампою «Phillips» типу TUV 30 (15) W LL з інтенсивністю бактерицидного потоку 35 Вт та довжиною хвилі 253,7 нм, бактерицидна густина потоку випромінювання — 44,56 Вт/$м^2$.

Статистичну обробку даних проводили з використанням програми MS Excel з визначенням середнього арифметичного (M), його похибки (m) та рівня вірогідності (p) за t-критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Аналіз офіційної статистики щодо захворювань грибкової етіології, санітарно-мікологічних досліджень кормів і повітря тваринницьких приміщень на території Полтавської області. Установлено, що в період 2011–2015 рр. державними лабораторіями ветеринарної медицини було досліджено на мікози 82 628 зразків, з них лише 1 671 (2,0 %) зразків були позитивними щодо патогенних грибів, включаючи дерматофіти. З них гриби роду *Aspergillus* від птиці виділено з 77 зразків (4,1 % від усіх позитивних результатів і 6,1 % від усіх проведених досліджень на аспергільоз), збудників мукормікозу птиці ізольовано з 4 зразків (0,2 % від усіх позитивних результатів мікологічних досліджень). За результатами санітарно-мікологічних досліджень кормів, з 222 897 зразків позитивним на контамінацію грибами виявився 281 (0,1 % від усіх досліджених). За п'ятирічний період державними лабораторіями ветеринарної медицини досліджено 7 358 зразків повітря на наявність спор грибів, 696 з них виявилися позитивними (9,5 % від усіх проведених досліджень).

Ступінь розповсюдження та індикація збудників мукормікозу й аспергільозу птиці в умовах Полтавської області. За результатами власних

досліджень 69 зразків патологічного матеріалу від загиблої птиці на мікози було отримано 43 позитивні результати (62,3 % від усіх проведених досліджень). З легень і повітроносних мішків птиці виділено гриби наступних родів: *Aspergillus* (*A. fumigatus, A. flavus, A. niger, A. nidulans*), *Mucor* (*M. ramosissimus, M. racemosus, Mucor* spp.), *Rhizomucor* (*R. pusillus*), *Rhizopus* (*R. microsporus*), *Candida* (*C. albicans*), *Penicillium* (*Penicillium* spp., *P. notatum*), *Helmintosporium* (рис. 2).

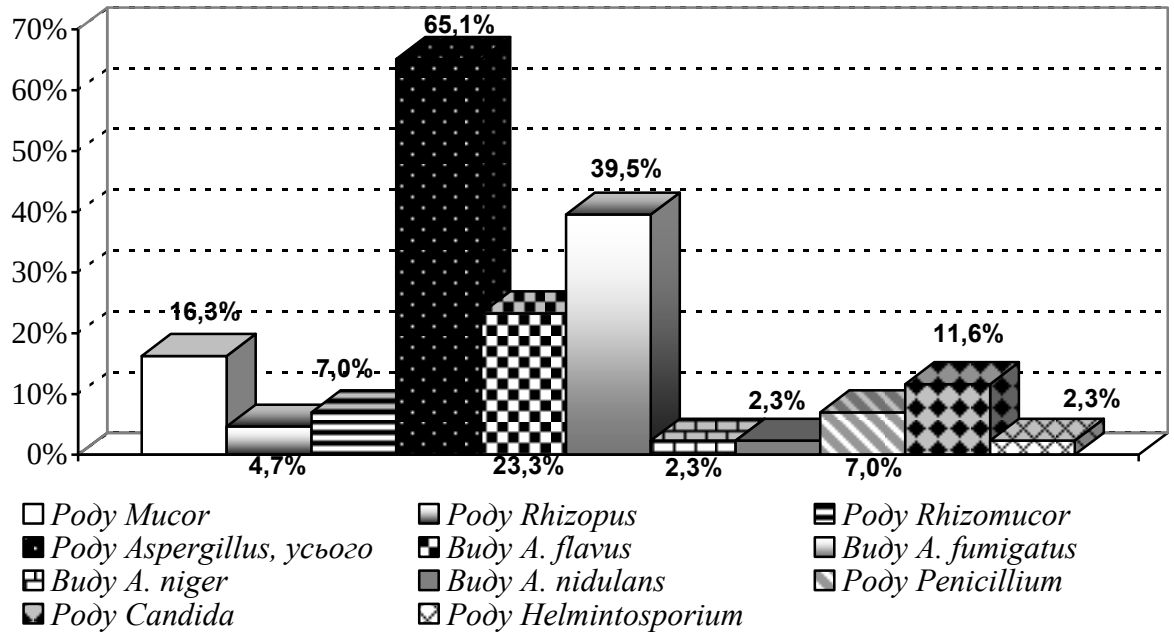

Рис. 2. Склад мікобіоти, виділеної з патологічного матеріалу від птиці на території Полтавської області.

Так, на гриби роду *Aspergillus* усього припало 65,1 % позитивних результатів досліджень, *Mucor* — 18,6 %, *Rhizopus*, *Rhizomucor* і *Penicillium* — по 7,0 %, *Candida* — 11,6 %.

Визначено, що моноінфекції ізолюються від птиці частіше (81,4 %), ніж асоціативні форми грибів (18,6 %). Представниками моноізолятів були гриби родів *Aspergillus* (58,1 %), *Penicillіun* (4,7 %), *Candida* (2,3 %) та родини *Mucoracea* (16,3 %). Водночас, асоційовані форми мікобіоти були представлені наступним складом грибів: роду *Aspergillus* та родини *Mucoraceae* (14,0 %), роду *Penicillium* та родини *Mucoraceae* (2,3 %), роду *Candida* та *Mucoraceae* (2,3 %), *Aspergillus, Mucoracea* та *Helmintosporium* (2,3 %).

Ступінь контамінації підстилки, кормів рослинного походження та забрудненості повітря птахівничих приміщень грибами родини *Mucoraceae* та роду *Aspergillus.* Було проведено 293 санітарно-мікологічні дослідження кормів, з них 139 зразків виявилися позитивними на контамінацію епіфітними мікроміцетами (47,4 % від загальної кількості досліджень). Визначено, що найбільш поширеними контамінантами кормів були гриби родини Mucoraceae (68,6 % від усіх виділених грибів), а саме родів *Mucor* (55,1 % від усіх ізолятів мікроміцетів, виділених з кормів), *Rhizopus* (11,4 %), *Rhizomucor* (7,3 %), *Aspergillus* (13,0 %), *Penicillium* (8,7 %) й *Alternaria* (5,8 %). Найменш

поширеними контамінантами кормів виявилися гриби родів *Helmintosporium* (1,9 % від усіх ізолятів мікроміцетів, виділених з кормів), *Acremonium* (1,0%), *Fusarium* і *Cladosporium* (по 0,5 % відносно загальної кількості ізолятів) (рис. 3).

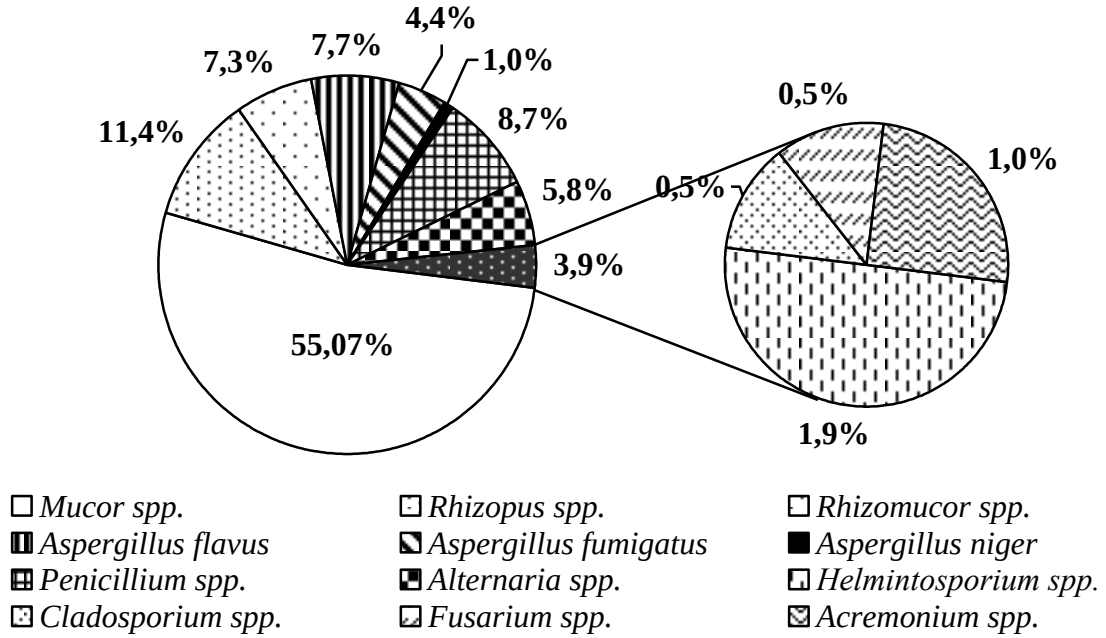

Рис. 3. Співвідношення ізолятів грибів, виділених з кормів (2013–2015 рр.).

Доведено, що спори пліснявих грибів присутні в повітрі всіх птахівничих приміщень, різною є лише їхня концентрація. Мікологічними дослідженнями повітря птахівницьких приміщень установлено, що мінімальна концентрація спор грибів становила $30 \pm 17{,}3$, максимальна — $2\,406{,}7 \pm 100{,}7$ КУО/м^3. Загальне мікробне число у повітрі птахівницьких приміщень коливалося від $3\,400 \pm 882{,}7$ до $36\,353 \pm 1\,540$ мікробних тіл. Найвищий ступінь забрудненості повітря виявляли у пташниках з підлоговим типом утримання.

У результаті дослідження мікрофлори повітря птахівницьких приміщень виявлено бактерії різних груп, плісняві та дріжджеподібні гриби. Бактеріальна флора була представлена сапрофітними бактеріями роду *Bacillus*, стафілококами, тетракоками, бактеріями групи *Escherichia coli*. Мікобіота приміщень найчастіше була представлена грибами роду *Mucor (M. ramosissimus), Rhizopus (R. microsporus), Aspergillus* (*A. flavus, A. fumigatus, A. niger),* дріжджеподібними грибами, у тому числі *Rhodotorula rubra*. У поодиноких зразках зустрічали *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Trichoderma longibrachiatum*.

Вивчення культурально-морфологічних властивостей польових ізолятів грибів родини Mucoraceae та роду *Aspergillus.* Критерієм оцінки відповідності поживного середовища потребам гриба виступала інтенсивність спороутворення. Установлено, що для польових ізолятів грибів роду *Mucor* та *Rhizopus* оптимальним є їх висів на агар Сабуро. На даному середовищі інтенсивність спороутворення становила від $96{,}3 \pm 2{,}0 \times 10^7$ до

$98{,}8 \pm 5{,}8 \times 10^7$ КУО/см^2 субстрату; інтенсивний розвиток культур спостерігався за температури 25–26 °С протягом 5–6 діб; потреби в освітленні не виявлено. Для польових ізолятів грибів роду *Aspergillus* оптимальними були середовище Сабуро (інтенсивність спороутворення від $90{,}2 \pm 7{,}4 \times 10^7$ до $116{,}3 \pm 5{,}9 \times 10^7$ КУО/см^2) та агар Чапека (інтенсивність спороутворення від $107{,}8 \pm 8{,}6 \times 10^7$ до $119{,}3 \pm 6{,}0 \times 10^7$ КУО/см^2); інтенсивний розвиток культур спостерігався за температури 25–37 °С протягом 5–6 діб; потреби в освітленні не виявлено.

Морфологія грибів за вирощування на оптимальних поживних середовищах (ріст міцелію, спороносних структур, кількість спор, утворення пігменту) залежала від фази росту. Так, у грибів роду *Mucor* і *Rhizopus* на 2-гу добу реєстрували утворення дрібної колонії з поодинокими нитками міцелію; на 3–4-ту доби — формування колонії із розростанням міцелію сірого кольору, утворення темнозабарвлених спорангієносців, помітних неозброєним оком; на 5–6-ту доби виявляли розростання міцелію по всій площині поживного середовища; на 6-ту добу внаслідок старіння культури міцелій темнів, стоншувався й осідав на дно чашки. У грибів роду *Aspergillus* на агарі Чапека на 3-тю добу відмічали утворення ледь помітної безбарвної колонії; на 3–4-ту доби — формування дрібної колонії до 2–3 мм у діаметрі, інтенсивний ріст і появу пігменту; на 4–5-ту доби колонії збільшувалися в діаметрі, набували характерного для свого виду забарвлення; на 5–6-ту доби ріст припинявся.

Особливості патогенезу за спонтанного асоційованого мукормікозу й аспергільозу. *Клінічні, патологоанатомічні та гістоморфологічні зміни в організмі інфікованих курей віком 10–12 місяців за спонтанного асоційованого перебігу мукормікозу й аспергільозу.* Установлено, що клінічні ознаки за асоційованого перебігу мукормікозу й аспергільозу не є характерними. У хворої птиці спостерігали пригнічення, відмову від корму та води, фотофобію. В окремих особин спостерігали утруднене дихання, сухий кашель і витоки з носових отворів. Загибель наставала на 14–20-ту доби після прояву ознак захворювання. За результатами патоморфологічних досліджень установлено, що асоційований перебіг мукормікозу й аспергільозу характеризується катаральним або катарально-фібринозним фарингітом, трахеїтом, нефрозом, катаральним або крупозним уретритом, сальпінгітом. Гістологічно виявлено некротичні та гранулематозні ураження шкіри, бронхопневмонію, гранульоми в легенях і стінці шлунка, некротичні ураження підшлункової залози, некроз і десквамацію епітелію кишечника, дистрофічні зміни у серці та нирках.

Морфологічні та біохімічні дослідження крові курей за спонтанного асоційованого перебігу мукормікозу й аспергільозу вказують на зміни, що характеризуються вірогідним зниженням кількості еритроцитів на 12,5 % відносно контрольних показників, лейкоцитів — на 19,4 %, вмісту гемоглобіну — на 14,0 %, кількості псевдоеозинофілів — на 28,6 %, а також підвищенням кількості базофілів на 46,3 %, еозинофілів — на 62,0 % і моноцитів — у 2,9 разу. У сироватці крові хворих курей відзначалося вірогідне зростання активності ЛДГ в 1,4 разу, АлАТ — у 4,6 разу та зниження вмісту альбумінів — на 23,3 %.

Особливості перебігу за експериментального мукормікозу. *Патологоанатомічні та гістоморфологічні зміни в організмі білих мишей за експериментального мукормікозу.* За експериментального мукормікозу на білих мишах клінічні ознаки захворювання були відсутні. Патологоанатомічні та гістоморфологічні зміни характеризувалися серозною пневмонією, гепатозом, вогнищевим некрозом селезінки, десквамацією ворсинок кишечника та гіперплазією лімфоїдних фолікулів, гіаліново-крапельною дистрофією нирок, з боку центральної нервової системи — негнійним енцефалітом. Спостерігалася виражена клітинна реакція епітеліоїдних, лімфоїдних, плазматичних і окремих гігантських клітин у відповідь на присутність збудника у паренхіматозних органах.

Клінічні, патологоанатомічні та гістоморфологічні зміни в організмі курей за експериментального мукормікозу. Основні клінічні ознаки розвивалися впродовж двох тижнів після зараження та характеризувалися специфічними проявами: статичними та динамічними порушеннями координації, фотофобією, серозним кон'юнктивітом, ринітом, некротичними змінами рогової речовини дзьобу з його подальшим руйнуванням. Патогістологічні зміни виявляли у легенях і головному мозку, міокарді, печінці, нирках, селезінці, тонкому та товстому кишечнику. Динаміка патоморфологічних змін свідчила про поступове переважання продуктивного запального процесу над лейкоцитарно-лімфоцитарною реакцією. Активність проліферативних процесів залежить від стадії розвитку захворювання — починаючи від поодиноких скупчень клітин і до формування інфекційних гранульом.

Морфологічні та біохімічні зміни крові курей за експериментального мукормікозу характеризувалися вірогідним зниженням вмісту гемоглобіну на 5,0 % порівняно з контрольними показниками, кількості псевдоеозинофілів — у 2 рази, збільшенням кількості лейкоцитів — у 2,3 разу, еозинофілів — у 5 разів і моноцитів — у 3,5 разу. У сироватці крові хворих на мукормікоз курей установлено зростання активності АлАТ — у 4,8 разу, ЛДГ — у 1,5 разу, збільшення вмісту загального білка на 20,3 % та зниження вмісту альбумінів — на 17,6 %.

Визначення фунгіцидних і фунгіостатичних властивостей препаратів відносно грибів родів *Mucor* та *Aspergillus.* *Визначення чутливості польових ізолятів грибів родів Mucor та Aspergillus до поліенових антибіотиків та похідних азолів.* Установлено, що дослідні культури виявили вірогідно вищу чутливість до ністатину й амфотерицину В у порівнянні з кетоконазолом і клотримазолом. Показники діаметру затримки росту (ДЗР), індуковані ністатином, для всіх культур були відносно стабільними (від 20,0 ± 1,0 до 28,2 ± 1,4 мм). До амфотерицину В високочутливими виявилися ізоляти *Mucor ramosissimus* (20,5 ± 1,3 мм) та *Aspergillus niger* (33,5 ± 0,5 мм), що вірогідно більше від ДЗР, індукованого ністатином (28,2 ± 1,4 мм). Однак, культури *Aspergillus fumigatus* та *Aspergillus flavus* виявили вірогідно нижчу чутливість до амфотерицину В у порівнянні з ністатином. Найчутливішим з досліджуваних ізолятів виявився *Aspergillus niger*, найменш чутливим — *Aspergillus fumigatus.*

Визначення чутливості польових ізолятів грибів родів Mucor та Aspergillus до ефірної олії монарди та евгенолу. Польові ізоляти грибів родів *Mucor* та *Aspergillus* виявили вірогідно високу відносно контролю чутливість до ефірної олії монарди та евгенолу: ДЗР *Aspergillus niger* становили 34,7 ± 1,78 мм і 42,0 ± 2,54 мм, *Aspergillus flavus* — 35,2 ± 1,67 мм і 30,0 ± 3,94 мм, *Aspergillus fumigatus* — 35,7 ± 3,19 мм і 50,3 ± 2,27 мм, *Mucor ramosissimus* — 49,7 ± 2,48 мм і 44,3 ± 3,19 мм відповідно. Вірогідно нижча затримка росту навколо дисків з ефірною олією монарди порівняно до евгенолу спостерігалася лише у культури *Aspergillus flavus.*

Визначення мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК) ефірної олії монарди та евгенолу щодо польових ізолятів грибів роду Mucor та Aspergillus. Для *Aspergillus fumigatus* МПК евгенолу склала 0,52 мг/см^3, ефірної олії монарди — 7,30 мг/см^3, для *Aspergillus niger* — 16,69 і 29,22 мг/см^3, для *Aspergillus flavus* — 1,04 і 7,30 мг/см^3, для *Mucor ramosissimus* — 1,04 і 29,22 мг/см^3 відповідно. Результати досліджень свідчать, що найбільш чутливими грибами є ізоляти видів *Aspergillus fumigatus* і *Mucor ramosissimus*. Найбільш стійким до впливу евгенолу та ефірної олії монарди виявився ізолят гриба *Aspergillus niger,* для інгібування його росту у порівнянні з рештою тест-культур необхідні були вищі концентрації діючих речовин.

Визначення антагоністичної активності пробіотичних бактерій групи Bacillus subtilis відносно польових ізолятів грибів роду Mucor та Aspergillus. За прямого сумісного культивування виявлено слабку антагоністичну активність бактерій групи *Bacillus subtilis* щодо пліснявих грибів — 1 бал за шкалою Джонсона та Карла. Водночас, за результатами досліджень методом відстроченого культивування реєстрували виражену антагоністичну активність щодо тест-культур. Виявилося, що бактерії групи *Bacillus subtilis* найбільше пригнічують ріст гриба *Aspergillus niger*. Антагоністична активність пробіотичних організмів щодо *Mucor ramosissimus* та *Aspergillus fumigatus* була дещо нижчою.

Визначення фунгіцидної ефективності ультрафіолетового опромінення щодо польових ізолятів грибів роду Mucor та Aspergillus. Фунгіцидна ефективність для культури *Aspergillus niger* дорівнювала нулю, оскільки за опромінення ультрафіолетом спостерігалося збільшення кількості спор, які вижили, до 5,5 % відносно контролю. У той же час, зі зростанням експозиції відбувалося зниження інтенсивності конідієутворення та пігментації гриба, що свідчить про віддалений фунгіостатичний ефект ультрафіолетового опромінення на культуру. Фунгіцидна ефективність ультрафіолетового опромінення щодо *Mucor ramosissimus* за експозиції 60 хв становила 85 %, *Aspergillus flavus* — 75 % та *Aspergillus fumigatus* — 59 %. Спостерігали виражений фунгіостатичний ефект ультрафіолетового опромінення щодо польових ізолятів грибів роду *Aspergillus* (у тому числі *A. niger*), про що свідчило знебарвлення колоній і порушення конідієутворення починаючи з експозиції у 20 хв.

Розробку способів зниження забрудненості повітря закритих приміщень грибами роду *Mucor* та *Aspergillus* проводили, базуючись на

результатах досліджень щодо мінімальної пригнічуючої концентрації ефірної олії монарди та евгенолу. Розрахунок співвідношення ефірної олії монарди та евгенолу в композиції проводили за відсотковим співвідношенням величин їх мінімальних пригнічуючих концентрацій для кожного виду гриба. Установлено, що в умовах експерименту запропоновані композиції евгенолу та ефірної олії монарди знижували забрудненість повітря грибами виду *Mucor ramosissimus* — на 82 %, *Aspergillus flavus* — на 64 %, *Aspergillus niger* — на 43 % та *Aspergillus fumigatus* — на 75 %.

Економічна оцінка запропонованих заходів. Економічна оцінка на прикладі вартості обробки пташника розміром 96 × 12 × 3 м вказує на різницю у вартості композицій для зниження забрудненості повітря закритих приміщень залежно від виду гриба-контамінанта. Так, найвищу вартість має композиція для зниження забрудненості грибами роду *Mucor,* найнижчу —*Aspergillus niger.* Досить високовартісною є обробка препаратом PIP AHS — 1 553,18 грн. на одну обробку.

ВИСНОВКИ

1. У дисертації викладено дані щодо поширення вісцеральних мікозів птиці на території Полтавської області за результатами скринінгових досліджень та аналізу даних офіційної звітності. Вивчено спектр мікобіоти, що циркулює серед сільськогосподарської птиці в господарствах різних форм власності. Наведено нові дані щодо особливостей патогенезу мікозів птиці, зумовлених грибами родини Mucoraceae та роду *Aspergillus*. Розроблено, випробувано та впроваджено екологічно безпечні способи обробки закритих птахівничих приміщень, спрямовані на зниження забрудненості повітря грибами родини Mucoraceae та роду *Aspergillus.*

2. Випадки вісцеральних мікозів птиці на території Полтавської області носять спорадичний характер. Мікологічними дослідженнями патологічного матеріалу від птиці окремо та в асоціаціях виявлено гриби родів *Aspergillus* (65,1 %), *Mucor* (18,6 %), *Rhizopus* (7,0 %), *Rhizomucor* (7,0 %), *Penicillium* (7,0 %) і *Candida* (11,6 %).

3. Гриби родини Mucoraceae та роду *Aspergillus* є найбільш поширеними контамінантами кормів рослинного походження (68,60 і 13,04 % від загальної кількості ізолятів відповідно). Рівень мікогенної контамінації повітря птахівничих приміщень варіює у широких межах — від 30 ± 17,3 до 2 406,7 ± 100,7 КУО/м^3.

4. За спонтанного асоційованого мукормікозу й аспергільозу у птиці відсутні патогномонічні ознаки. Результати гематологічних і патоморфологічних досліджень вказують на хронічний перебіг інфекційного процесу.

5. Виділені ізоляти гриба *Mucor ramosissimus* є патогенними для білих мишей та курей. Експериментальний мукормікоз у курей супроводжується специфічними симптомами ураження центральної нервової системи й органів

дихання. Результати гематологічних і патоморфологічних досліджень свідчать про наявність гострого інфекційного процесу.

6. Гриби родини Mucoraceae та роду *Aspergillus* є більш чутливими до ністатину й амфотерицину В у порівнянні з кетоконазолом і клотримазолом. Евгенол та ефірна олія монарди трубчастої виявляють високу фунгіцидну та фунгіостатичну активність щодо польових ізолятів грибів роду *Mucor* (МПК для *Mucor ramosissimus* — 1,04 і 29,22 мг/см^3 відповідно) й *Aspergillus* (для *Aspergillus fumigatus* — 0,52 і 7,30 мг/см^3, для *Aspergillus niger* — 16,69 і 29,22 мг/см^3, для *Aspergillus flavus* — 1,04 і 7,30 мг/см^3 відповідно). Ефективність застосування композиції ефірних олій з метою зниження мікогенної забрудненості повітря закритих птахівничих приміщень коливається в межах 42–82 %.

7. Бактерії групи *Bacillus subtilis* за прямого сумісного культивування виявляють слабку антагоністичну активність щодо пліснявих грибів, але за умов відстроченого культивування вона є вираженою, особливо по відношенню до *Aspergillus niger*.

8. Фунгіцидна ефективність ультрафіолетового опромінення (довжина хвилі 253,7 нм, доза 44,56 Вт/м^2, експозиція 60 хв) щодо *Mucor ramosissimus* становить 85 %, *Aspergillus flavus* — 75 %, *Aspergillus fumigatus* — 59 %, *Aspergillus niger* — 0 %. Спостерігається виражена фунгіостатична дія цього чинника щодо польових ізолятів грибів роду *Aspergillus* (у тому числі *A. niger*), яка проявляється у знебарвленні колоній і порушенні конідієутворення починаючи з експозиції у 20 хв.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

Методичні рекомендації «Мукормікоз птиці», затверджені колегією Головного управління Держпродспоживслужби в Полтавській області (протокол № 3 від 06.04.2016 р.), пропонуються до використання в роботі практичних фахівців ветеринарної медицини у птахівничих господарствах різних форм власності та лабораторіях Держпродспоживслужби, а також під час підготовки студентів факультетів ветеринарної медицини ВНЗ II–IV рівнів акредитації.

При проведенні оздоровчих і профілактичних заходів на об’єктах птахівництва пропонується застосовувати схему оброблення закритих приміщень для зниження забрудненості повітря грибами роду *Mucor* та окремих видів грибів роду *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*). Перший етап включає розпилення композицій евгенолу та ефірної олії монарди у вигляді аерозолю дисперсністю 1–5 мкм у присутності птиці із розрахунку 1 мг/м^3. На другому етапі, для попередження подальшого розвитку патогенних грибів, рекомендується регулярно застосовувати препарат PIP AHS згідно настанови.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Аранчій С. В., Зон Г. А., **Кінаш О. В.** Результати міко-токсикологічного моніторингу кормів щодо забрудненості мікроміцетами в умовах Центрального регіону України. *Вет. медицина* : міжвідом. тем. наук. зб. Харків, 2016. Вип. 102. С. 194–196. *(Дисертант провела дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих результатів, підготувала статтю до друку)*.

2. Зон Г. А., **Кинаш О. В.** Динамика патологоанатомических и гистологических изменений при экспериментальном мукормикозе кур. *Учён. зап. УО «Витеб. ордена «Знак почёта» гос. акад. вет. медицины»*. 2016. Т. 52, вып. 1. С. 30–34. *(Дисертант провела патоморфологічні дослідження, узагальнила результати, підготувала статтю до друку).*

3. Зон Г. А., **Кінаш О. В.** Чутливість патогенних для птахів мікроміцетів *Mucor* та *Aspergillus* до синтетичних протигрибкових препаратів. *Вісн. Сум. нац. аграр. ун-ту. Сер. : Вет. медицина*. 2016. Вип. 6 (38). С. 124–128. *(Дисертант провела дослідження та підготувала статтю до друку).*

4. Зон Г. А., **Кінаш О. В.** Визначення дії ультрафіолетового опромінення на збудників мукормікозу та аспергільозу. *Наук.-техн. бюл. ДНДКІ вет. препаратів та корм. добавок і Ін-ту біології тварин НААН*. Львів, 2016. Вип. 17, № 1. С. 118–124. *(Дисертант провела експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих результатів, підготувала статтю до друку).*

5. **Кісільова О. В.** Патологоанатомічні зміни за асоціативного перебігу аспергільозу та мукормікозу птиці. *Наук. вісн. Нац. ун-ту біоресурсів і природокористування України. Сер. : Вет. медицина, якість і безпека продукції тваринництва*. Київ, 2010. Вип. 151, ч. 2. С. 98–100.

6. Скрипка М. В., **Кісільова О. В.** Особливості патолого-анатомічних змін за експериментального мукормікозу курей. *Вісн. Полтав. держ. аграр. акад*. 2011. № 2 (61). С. 102–104. *(Дисертант провела частину експериментальних досліджень, узагальнила отримані результати, підготувала статтю до друку).*

7. **Кінаш О. В.** Патогістологічні зміни при експериментальному мукормікозі. *Пробл. зооінженерії та вет. медицини* : зб. наук. праць Харків. держ. зоовет. акад. Харків, 2015. Вип. 31, ч. 2 : Вет. науки. С. 107–112.

8. **Кінаш О.** Біохімічні показники крові при аспергільозі та мукормікозі птиці. *Тваринництво України*. 2014. № 11. С. 28–30.

9. **Кінаш О. В.**, Полянська В. П., Зачепило С. В. Спосіб зниження забрудненості повітря закритих приміщень грибками виду *Aspergillus flavus* : пат. на корисну модель 98377, Україна. № u201412199 ; заявл. 12.11.14 ; опубл. 27.04.15, бюл. № 8. 4 с.

10. **Кінаш О. В.**, Полянська В. П., Зачепило С. В. Спосіб зниження забрудненості повітря закритих приміщень грибками виду *Aspergillus fumigatus* : пат. на корисну модель 98378, Україна. № u201412200 ; заявл. 12.11.14. ; опубл. 27.04.15, бюл. № 8. 4 с.

11. **Кінаш О. В.**, Полянська В. П., Зачепило С. В. Спосіб зниження забрудненості повітря закритих приміщень грибками виду *Aspergillus niger* : пат. на корисну модель 98375, Україна. № u201412197 ; заявл. 12.11.14. ; опубл. 27.04.15, бюл. № 8. 4 с.

12. **Кінаш О. В.**, Полянська В. П., Зачепило С. В. Спосіб зниження забрудненості повітря закритих приміщень грибками роду *Mucor* : пат. на корисну модель 98376, Україна. № u201412198 ; заявл. 12.11.14.; опубл. 27.04.15, бюл. № 8. 4 с.

13. **Кінаш О. В.** Вплив ультрафіолетового опромінення на спори грибів *Mucor ramosissimus* та *Aspergillus niger*. *Пробл. вет. паразитології та якість і безпека продукції тваринництва* : матеріали Всеукр. наук.-практ. інтернет-конф. (Полтава, 18–19 лютого 2014 р.). Полтава : ТОВ НВП «Укрпромторг-сервіс», 2014. С. 144–146.

14. **Кінаш О. В.** Визначення мінімальної фунгіцидної та фунгіостатичної концентрації ефірної олії монарди дудчастої щодо грибків *Aspergillus fumigatus*. *Роль науки у вирішенні актуальних проблем тваринництва* : матеріали Всеукр. наук.-практ. інтернет-конф. (Полтава, 17–18 лютого 2015 р.). Полтава : ТОВ НВП «Укрпромторг-сервіс», 2015. С. 30–32.

15. Зон Г. А., Аранчий С. В., **Кинаш О. В.** Выявление антагонистических свойств *Bacillus subtillis* по отношению к грибам *Mucor ramosissimus, Aspergillus fumigatus, Aspergillus niger*. *Материалы V науч.-практ. конф. Междунар. ассоц. паразитоценологов «Паразитарные системы и паразитоценозы животных»* (Витебск, 24–27 мая 2016 г.). Витебск, 2016. С. 69–71. *(Дисертант провела мікробіологічні дослідження, узагальнила отримані результати, підготувала тези до друку).*

16. Аранчій С. В., Зон Г. А., **Кінаш О. В.** Мукормікоз птиці : метод. реком. : затв. колегією Гол. упр. вет. медицини в Полтав. обл. (протокол № 3 від 6 квіт. 2016 р.). Полтава , Полтава : ТОВ НВП «Укрпромторг-сервіс»2016. 40 с. *(Дисертант узагальнила методи діагностики, профілактики та заходи боротьби з мукормікозом птиці, підготувала рукопис до друку).*

Кінаш О. В. Асоційовані мікози птиці (*Aspergillus*, Mucoraceae) та розробка засобів боротьби з ними. — Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 — ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія. Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини». Харків, 2017.

Встановлено рівень поширення вісцеральних мікозів серед птиці. Наведено результати мікологічних досліджень кормів і повітря у птахогосподарствах Полтавської області.

Визначено культурально-морфологічні властивості польових ізолятів грибів роду *Aspergillus, Mucor, Rhizopus* за культивування на різних поживних середовищах.

Вивчено особливості патогенезу мукормікозу за експериментального відтворення на білих мишах. З'ясовано особливості клінічного перебігу, патологоанатомічних та патогістологічних змін у курей за експериментального мукормікозу й асоційованого його перебігу з аспергільозом у польових умовах.

Визначено чутливість польових ізолятів грибів родів *Mucor* та *Aspergillus* до синтетичних протигрибкових препаратів. Вивчено фунгіцидні властивості ефірної олії монарди трубчастої та евгенолу відносно грибів родів *Mucor* та *Aspergillus.* На основі проведених досліджень розроблено нові екологічно безпечні способи зниження забрудненості повітря закритих приміщень грибами роду *Mucor* та *Aspergillus* і доведено їхню ефективність. Виявлено антагоністичну активність пробіотичних бактерій групи *Bacillus subtillis* щодо грибів родів *Mucor* та *Aspergillus.*

З'ясовано фунгіцидну ефективність ультрафіолетового опромінення щодо грибів родів *Mucor* та *Aspergillus*.

Ключові слова: мукормікоз, аспергільоз, птиця, *Mucor ramosissimus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, ефірна олія монарди, евгенол, бактерії групи *Bacillus subtilis*.

Кинаш О. В. Ассоциированные микозы птицы (*Aspergillus*, Mucoraceae) и разработка мер борьбы с ними. — Рукопись.

Диссертация на соискание учёной степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.03 — ветеринарная микробиология, эпизоотология, инфекционные болезни и иммунология. Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины». Харьков, 2017.

Установлен уровень распространения висцеральных микозов среди птицы. Приведены результаты микологических исследований кормов и воздуха в птицехозяйствах Полтавской области.

Определены культурально-морфологические свойства полевых изолятов грибов родов *Aspergillus, Mucor, Rhizopus* при культивировании на различных питательных средах.

Изучены особенности патогенеза мукормикоза при экспериментальном воспроизведении на белых мышах. Выяснены особенности клинического течения, патологоанатомических и патогистологических изменений у кур при экспериментальном мукормикозе и ассоциативном его течении с аспергиллёзом в полевых условиях.

Определена чувствительность грибов родов *Mucor* и *Aspergillus* к синтетическим противогрибковым препаратам. Изучены фунгицидные свойства эфирного масла монарды дудчатой и эвгенола в отношении грибов родов *Mucor* и *Aspergillus*. На основе проведённых исследований разработаны новые экологически безопасные способы снижения загрязнения воздуха закрытых помещений грибами родов *Mucor* и *Aspergillus* и доказана их эффективность. Выявлено антагонистическую активность пробиотических бактерий группы *Bacillus subtillis* по отношению к грибам родов *Mucor* и *Aspergillus*.

Выяснена фунгицидная эффективность ультрафиолетового облучения относительно грибов родов *Mucor* и *Aspergillus*.

Ключевые слова: мукормикоз, аспергиллёз, птица, *Mucor ramosissimus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, эфирное масло монарды, эвгенол, *Bacillus subtilis*.

Kinash O. V. Associated mycoses of poultry (*Aspergillus,* Mucoraceae) and development of measures to control it. — Manuscript.

The dissertation thesis for the scientific degree of the candidate of veterinary sciences, speciality 16.00.03 — veterinary microbiology, epizootology, infectious diseases and immunology. National Scientific Center 'Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine'. Kharkiv, 2017.

The thesis presents data on mucormycosis, aspergillosis and other visceral avian mycoses incidence, defines the level of mycogenic contamination of feed and air in poultry breeding premises at poultry farms of Poltava region. New promising fields of mucormycosis and aspergillosis preventing and treatment have been determined environmentally safe compared to the traditional methods. First in Ukraine, measures are developed to reduce air pollution with fungi spores, agents of avian mucormycosis and aspergillosis, depending on their species by means of the suggested methods.

According to the results of the in-house studies on pathologic material taken from the dead birds, positive samples as to the presence of mycoses agents were 62.3%. Avian mono-infections were isolated more frequently (81.4%), than associated forms (18.6%). Out of 293 samples in the sanitary-mycological studies of feeds, 139 samples (47.4%) were positive being contaminated with epigenous micromycetes. The most wide-spread feed contaminants were fungi belonging to the Mucoraceae family (68.6% of the total isolated fungi). Mycological studies of air in the poultry farms premises have determined that the minimum fungi spores concentration made 30 ± 17.3 CFU/м^3, whereas the maximum was $2{,}406.7 \pm 100.7$ CFU/м^3.

Features of the *Aspergillus fumigatus, A. flavus, A. niger, Mucor* spp., *Rhizopus* spp. isolates growth were studied by means of their cultivation in various nutrient media. Expediency has been proved of using the Sabouraud agar for isolation and identification of fungi belonging to the Mucoraceae family, whereas the Sabouraud and Czapek agar should be used for isolation and identification of fungi belonging to the *Aspergillus* genus.

Features of the mucormycosis pathogenesis have been clarified at its experimental reproduction in white mice. Peculiarities of the clinical progression, pathological and pathohistological changes in hens at experimentally induced mucormycosis and its aspergillosis-associative clinical progression were studied in the field conditions.

Susceptibility of fungi belonging to *Mucor* and *Aspergillus* genera to synthetic antifungal agents, wild bergamot (*Monarda fistulosa* L.) essential oil and eugenol has been determined. Assessment of the isolated fungi cultures susceptibility to wild bergamot essential oil and eugenol compared to that to synthetic antifungal agents

demonstrates higher susceptibility of fungi cultures to essential oils. Based on the results of studying the minimal inhibiting wild bergamot essential oil and eugenol concentration, methods to reduce the closed premises air pollution with *Mucor* and *Aspergillus* genera fungi have been developed. It was determined that under the experimental conditions, the suggested combinations of eugenol and wild bergamot essential oil reduced the air pollution with *Mucor ramosissimus* fungi by 82%, *Aspergillus flavus* — by 64%, *A. niger* — by 43% and *A. fumigatus* — by 75 %.

Antagonistic activity of probiotic bacteria of the *Bacillus subtillis* group, isolated from PIP AHS, was proved as to *Mucor* and *Aspergillus* genera fungi.

It was clarified that fungicidal efficiency of ultraviolet emission (at the wave length of 253.7 nm and at the 60 min exposition) as to *Mucor ramosissimus* made 85%, that of *Aspergillus flavus* — 75% and that of *A. fumigatus* — 59%. The pronounced fungistatic effect of ultraviolet emission on *A. flavus* and *A. fumigatus* was observed. As to *A. niger* culture, the fungicide efficiency was zero, because under the ultraviolet emission, growth of the survived spores' amount up to 5% was observed. Simultaneously, the delayed ultraviolet emission's fungistatic effect on the fungi culture was registered.

Key words: mucormycosis, aspergillosis, poultry, *Mucor ramosissimus, Aspergillus fumigatus, A. flavus, A. niger,* wild bergamot essential oil, eugenol, *Bacillus subtilis.*