

Доброжан Ю. В., Шевченко Л. В.

УДК 636.5.09:615.33

ЗАЛИШКОВИЙ ВМІСТ АМОКСИЦИЛІНУ В ПОСЛІДІ КУРЕЙ ЗА МЕЗОФІЛЬНОГО СПОСОБУ ЗБЕРІГАННЯ

Ю. В. ДОБРОЖАН, головний фахівець, лікар ветеринарної медицини,
хімік-токсиколог лабораторії рідинної хроматографії,

*Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та
ветеринарно-санітарної експертизи*

E-mail: alamerster@gmail.com

Л. В. ШЕВЧЕНКО, доктор ветеринарних наук, професор

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: shevchenko_laris@ukr.net

Анотація. *Встановлено особливості накопичення антибіотиків у посліді курей промислового та ремонтного стада за їх застосування з терапевтичною метою. Виявлено, що залишковий вміст амоксициліну у посліді курей промислового стада знаходиться на рівні 12,22 – 121,96 мкг/кг, у посліді ремонтного стада півнів -19,45 мкг/кг і ремонтного стада курей – 28,94 мкг/кг. Зберігання посліду курей промислового стада в умовах мезофільного режиму сприяло зростанню концентрації амоксициліну до 276,3-337,3 мкг/кг посліду, що практично досягло одного рівня у пробах, відібраних в торцях і центрі пташника. Наявність у посліді курей промислового стада залишкового*

вмісту окситетрацикліну, амоксициліну і колістину сприяє збільшенню рівня амоксициліну в посліді за зберігання його мезофільним способом в 1,2 - 7,5 рази порівняно з вихідною концентрацією. Наявність у посліді курей ремонтного стада амоксициліну в поєднанні з колістином сприяє забезпеченню стабільної концентрації амоксициліну протягом 17 місяців зберігання в умовах мезофільного режиму. За наявності у посліді ремонтного стада півнів лише амоксициліну, його залишки розклалися в навколишньому середовищі протягом 3 тижнів.

Ключові слова: *антибіотики, послід, кури, мезофільний спосіб зберігання*

Актуальність. *Ефективність виробництва харчових яєць зумовлена запровадженням інтенсивних технологій у птахівництві, що передбачає використання сучасних кросів і ліній птиці, яка володіє високою*

інтенсивністю обміну речовин, що обумовлена рівнем її продуктивності. Створення належних умов утримання, годівлі та експлуатації поголів'я курей-несучок передбачає цілорічне безвигульне утримання у пташниках на підлозі або в кліткових

Доброжан Ю. В., Шевченко Л. В.

батареях. Це, у свою чергу, спричиняє накопичення у приміщеннях значної кількості умовно патогенної та патогенної мікрофлори, яка за певних умов (технологічні, фізіологічні, транспортні стреси тощо) може викликати ряд інфекційних захворювань, які спричиняють зниження продуктивності, безпечності продукції, загибель і вибракування поголів'я.

У таких випадках з терапевтичною метою використовують ряд лікарських засобів з антимікробним спектром дії, у тому числі антибіотики, які здатні виділятися з організму курей як у складі яєць, так і з послідом.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Виділення антибіотиків з послідом птиці спричиняє їх надходження у навколишнє середовище, що може бути причиною забруднення ґрунтів [1, 2], води відкритих і підземних джерел [3], а також впливати на процеси біоферментації у посліді, які відбуваються за участю мікрофлори [4]. Крім того, надходження антибіотиків зі стічними водами та гноєм і послідом від тварин спричиняє їх міграцію у рослини, які використовуються як корми для тварин і харчові продукти для людей [5, 6]. Останнє є важливим фактором виникнення антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів, появою у людей і

тварин рядну алергічних захворювань та імунодефіцитних станів.

Мета досліджень – визначити залишковий вміст антибіотиків у посліді курей промислового стада за інтенсивної технології виробництва яєць протягом періоду зберігання посліду в мезофільних умовах.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проведені на базі науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Об'єктом досліджень був послід курей промислового та ремонтного стада та півнів ремонтного стада кросу Хай лайн білий з птахофабрики Київської області.

Середні проби посліду в дослідних господарствах відбирали в трьох місцях кожного пташника, а саме в торцях і в центрі. Маса відібраних проб становила 200-300 г.

Послід відбирали від курей промислового стада, ремонтного стада півнів, і ремонтного стада курей, яким застосовували антимікробні препарати шляхом випоювання у складі води. Після відбору проби посліду зберігали мезофільним способом.

Система утримання курей господарствах – безвигульна, спосіб утримання – на підлозі з використанням підстилки. Годівлю

Доброжан Ю. В., Шевченко Л. В.

курей здійснювали повнораціонними комбікормами, які забезпечували потребу птиці в поживних та біологічно активних речовинах.

В посліді курей визначали залишки таких препаратів: амоксицилін, енрофлоксацин, норфлоксацин, тетрациклін, хлортетрациклін, окситетрациклін, доксициклін, сульфатіазол, сульфадиметоксин, сульфагуанідін, сульфадіозин, сульфамеразин, сульфаметазин, сульфаметоксипіридазин, сульфаметоксазол, сульфаніламід, тилозин, еритроміцин, колістин [7, 8].

Вміст сульфаніламідних препаратів та антибіотиків у посліді курей визначали за загальноприйнятими методиками та відповідними інструкціями, а саме послідовною екстракцією розчинами буферу та трихлорооцтової кислоти, твердофазною очисткою, концентрацією в тоці азоту та відновленням з фільтрацією шприцевим фільтром з використанням рідинного хроматографа з мас-спектрометричними детекторами фірми «Waters» (США).

Отриманні дані оброблено статистично за допомогою комп'ютерної програми M.Excel 2000 із визначенням середньої арифметичної (M) та статистичної помилки середньої арифметичної (m).

Результати дослідження та їх обговорення. Як показали одержані дані, у посліді курей промислового стада, а також у посліді півнів і курей ремонтного стада залишків сульфаніламідних препаратів не було виявлено. З групи антибіотиків у посліді курей промислового стада виявляли залишковий вміст амоксициліну, окситетрацикліну і колістину в різних концентраціях.

У посліді ремонтного стада півнів було виявлено лише амоксицилін, а в посліді курей ремонтного стада – амоксицилін і колістин.

Амоксицилін – напівсинтетичний антибіотик пеніцилінового ряду, який являє собою органічну сполуку, основою якої є 6-амінопеніциланова кислота, яку отримують з культур цвілевого гриба *Penicillium chrysogenum*. Механізм його дії полягає у порушенні синтезу клітинних стінок бактерії, гальмуючи ензими транспептидази і карбоксипептидази, викликаючи порушення осмотичного балансу, що призводить до загибелі бактерії на етапі росту. Амоксицилін володіє широким спектром дії відносно грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів, таких як: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus, spp.* (*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*), *E. coli*, *Arcanobacteria* (включаючи *A. pyogenes*), *Corynebacteria spp.*, *Clostridia spp.*, *Bacillus anthracis*,

Доброжан Ю. В., Шевченко Л. В.

Actinomyces bovis, *Bacillus cereus*, *Bacteroides* (включаючи β -лактамазо-продукуючі штами), *Campilobacter spp.*, *Klebsiella spp*, *Pasteurella spp.*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Proteus spp*, *Fusobacterium necrophorum*, *Haemophilus spp*, *Moraxella spp*, *Actinobacillus lignieresii* [9].

Аналіз динаміки залишкового вмісту амоксициліну в посліді курей промислового стада на фоні залишкового вмісту окситетрацикліну і колістину при зберіганні в умовах мезофільного режиму показав, що в пробах, відібраних у торцях пташника, знаходилась мінімальна концентрація цього антибіотика, тоді як у центрі пташника його вміст перевищував її майже в 10 разів, що пов'язано з дещо вищим скупченням птиці в центрі приміщення і виділенням посліду у цьому місці (табл. 1).

Незважаючи на вихідну концентрацію амоксициліну, через 3 тижні зберігання у посліді,

відібраному в торцях пташника, спостерігалось зростання рівня цього антибіотика в 2,6 та 1,6 рази, а в посліді, відібраному у центрі – лише тенденція до збільшення вмісту. Характерно, що при цьому найбільш інтенсивне збільшення вмісту амоксициліну відмічалось у пробах з мінімальною його концентрацією, тоді як у пробах посліду, відібраних в центрі приміщення, це зростання було незначне.

Аналогічна закономірність щодо збільшення рівня амоксициліну в пробах посліду курей продовжувала зберігатися і через 3 місяці зберігання посліду в мезофільних умовах. При цьому в посліді, відібраному в торцях пташника, залишковий вміст амоксициліну збільшився у 3,5 та 1,8 раза, а в центрі – на 23 % порівняно з вихідним вмістом.

1. Залишковий вміст амоксициліну в посліді курей промислового стада при зберіганні, мкг/кг, $M \pm m$, n=3

Період дослідження	Місце відбору проб у пташнику		
	торець 1	центр	торець 2
Вихідна концентрація	12,22±0,37	121,96±1,39	29,57±0,54
Через 3 тижні	31,87±1,65	128,59±1,65	46,16±2,36
Через 3 місяці	42,85±1,88	149,71±3,63	52,32±2,31
Через 12 місяців	121,30±4,33	261,40±12,54	122,50±4,20
Через 15 місяців	194,80±21,48	281,00±14,20	186,20±9,24
Через 17 місяців	322,30±15,03	337,30±29,36	276,30±10,35

Через 12 місяців зберігання у умовах мезофільного режиму посліду курей промислового стада в залишковий вміст амоксициліну

Доброжан Ю. В., Шевченко Л. В.

збільшився у 2,8 та 2,3 раза у пробах, відібраних у торцях, і в 1,7 раза – в пробах, відібраних у центрі пташника, порівняно з аналогічними даними через 3 місяці зберігання.

Аналіз залишкового вмісту амоксициліну в посліді курей промислового стада через 15 місяців зберігання показав аналогічну тенденцію в усіх пробах. Так, рівень амоксициліну у посліді, відібраному в торцях пташника, зріс у 1,6 та 1,5 раза порівняно з аналогічними даними через 12 місяців; у 4,5 та 3,6 раза порівняно з аналогічними даними через 3 місяці зберігання. Залишкова концентрація амоксициліну в посліді курей промислового стада, відібраному в центрі приміщення, збільшилася у цей же період на 7 % та в 1,9 раза відповідно, порівняно з даними через 12 та 3 місяці зберігання.

Збільшення терміну зберігання посліду курей промислового стада з вмістом амоксициліну до 17 місяців спричинило подальше підвищення накопичення цього антибіотика. Причому у посліді курей, який відбирали в торцях пташника, його вміст перевищував аналогічні показники через 15; 12 та 3 місяці зберігання відповідно в 1,6 та 1,5 раза; 2,6 та 2,3 раза; 7,5 та 5,3 раза. Така ж закономірність відмічалась і щодо зміни концентрації амоксициліну в посліді курей промислового стада, відібраному в центрі пташника, де його рівень

через 15; 12 та 3 місяці зберігання збільшувався на 20 %; 30 % і в 2,2 рази відповідно.

Одержані дані свідчать про те, що в посліді курей, яким застосовували амоксицилін, його концентрація не лише не знижувалась у процесі зберігання мезофільним способом, а й навпаки, безперервно зростала, навіть до 17 місяця зберігання.

Такі дані свідчать про те, що на фоні пригнічення більшості видів кишкової мікрофлори, яка належить до патогенної, умовно патогенної, а також до симбіотичної, гриби, особливо представники роду *Penicillium*, у тому числі *Penicillium chrysogenum*, який належить до ґрунтової мікрофлори і широко розповсюджений в навколишньому середовищі, здатні продовжувати свою життєдіяльність на субстраті, яким є послід курей [4].

Останнє пояснює не лише відсутність розпаду амоксициліну у пробах посліду від курей промислового стада, в посліді яких одночасно виявляли залишковий вміст амоксициліну, окситетрацикліну і колістину, але й значне збільшення концентрації амоксициліну протягом періоду зберігання посліду курей.

Як показав аналіз одержаних результатів досліджень, залишковий вміст амоксициліну у посліді півнів ремонтного стада вже зникав через 3 тижні його зберігання і не виявлявся

2. Залишковий вміст амоксициліну у посліді курей ремонтного стада при зберіганні, мкг/кг, $M \pm m$, $n=3$

Період дослідження	Ремонтне стадо	
	півні	кури
Вихідна концентрація	19,45±0,19	28,94±0,99
Через 3 тижні	Не виявлено	32,6±0,58
Через 3 місяці	Не виявлено	44,46±2,16
Через 12 місяців	Не виявлено	31,9±1,05
Через 15 місяців	Не виявлено	30,8±0,95
Через 17 місяців	Не виявлено	28,6±2,02

Залишковий вміст амоксициліну в посліді курей ремонтного стада, практично коливався на одному рівні протягом всього періоду зберігання.

Виявлені в посліді курей промислового і ремонтного стада антибіотики свідчать, ймовірно, про їх терапевтичне призначення і дози. Однак, період виведення з організму вказаних антибіотиків, особливо в суміші, виявився дещо подовжений, що могло впливати на мікробний фон самого посліду, про що і свідчать вище наведені результати досліджень.

Враховуючи, що одночасно з амоксициліном у посліді курей ремонтного стада було виявлено колістин, можна допустити, що гриби роду *Penicillium*, які знаходилися у посліді курей, хоча й продукували антибіотик, однак менш активно, ніж у випадку з аналогічними даними, наведеними у посліді курей промислового стада. Така різниця у накопиченні амоксициліну протягом періоду

зберігання посліду курей промислового і ремонтного стада, ймовірно, пояснюється бактерицидною дією окситетрацикліну на мікрофлору посліду в поєднанні з амоксициліном та колістином. У випадку без застосування окситетрацикліну, залишковий вміст якого не було виявлено в посліді курей ремонтного стада, дія амоксициліну в поєднанні з колістином на бактеріальну мікрофлору посліду, ймовірно, проявлялася менше, що сприяло виникненню видової конкуренції і незначному продукуванню амоксициліну грибами.

У випадку застосування півням ремонтного стада лише амоксициліну, інша мікрофлора, яка до цього антибіотику не чутлива, могла створити конкуренцію грибам, які могли забезпечувати продукцію цього вторинного метаболіту у посліді курей, а його залишки, що виділялись з екскрементами птиці

Доброжан Ю. В., Шевченко Л. В.

розклалися в навколишньому середовищі протягом 3 тижнів.

Висновки і перспективи:

1. Залишковий вміст амоксициліну у поєднанні з окситетрацикліном і колістином у посліді курей за зберігання мезофільним способом здатний збільшуватися пропорційно терміну зберігання протягом 17 місяців у 2,8 – 26 разів залежно від вихідного рівня.

2. Залишковий вміст амоксициліну у комбінації з

колістином у посліді курей в умовах мезофільного режиму залишається стабільним протягом періоду зберігання 17 місяців.

3. Залишковий вміст амоксициліну в посліді курей за мезофільного способу зберігання розпадається протягом 3 тижнів.

Перспективними є дослідження видового складу мікрофлори посліду курей за застосування різної комбінації і дози антибіотиків, а також факторів, що на них впливають.

Список використаних джерел

1. Forsberg, KJ Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats / Patel S, Gibson MK, Lauber CL, Knight R, Fierer N, Dantas G. // *Nature*. - 2014. - doi: 10.1038/nature13377.

2. Ding, G-C. (2014) Dynamics of Soil Bacterial Communities in Response to Repeated Application of Manure Containing Sulfadiazine / Radl V, Schloter-Hai B, Jechalke S, Heuer H, Smalla K, et al. // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9, Issue 3 – <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092958>.

3. Kim, K.-R. Decline in extractable antibiotics in manure-based composts during composting. / Owens G., Ok Y.S., Park W.-K., Lee D.B., Kwon S.-I. // *Science Direct*. – 2012. – Vol. 32, Issue 1 – P. 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.07.026>.

4. Xie, W.Y. Antibiotics and antibiotic resistance from animal manures to soil / Shen, Q., Zhao, F. J.,

W.-Y. Xie, Q. Shen, F. J. Zhao, W.-Y. Xie // *a review European Journal of Soil Science*. – 2018. – Vol. 69, Issue 1 – P. 181-195.

<https://doi.org/10.1111/ejss.12494>.

5. Pan, M. Transfer of antibiotics from wastewater or animal manure to soil and edible crops. / Chu LM // *Environ Pollut*. – 2017. – Vol. 231 (Pt 1) – P. 829-836. doi: 10.1016/j.envpol.2017.08.051.

6. Muhammad Danish Mund. Antimicrobial drug residues in poultry products and implications on public health. / Umair Hassan Khan, Uruj Tahir, Bahar-EMustafa & Asad Fayyaz // *A review, International Journal of Food Properties*. – 2017. – Vol. 20, Issue 7 – P. 1433-1446. doi: 10.1080/10942912.2016.1212874.

7. Абрамов А.В., Новожицька Ю.М., Іванова О.В. та ін.. Визначення фторхінолонів в продуктах тваринного походження методом рідинної хроматографії : Методичні вказівки. – Київ, 2008. – 17с.

Доброжан Ю. В., Шевченко Л. В.

8. Новожицька Ю.М., Іванова О.В., Ступак О.М. та ін. Визначення антибіотиків у продуктах тваринного походження за допомогою рідинного хроматомас-спектрометра: метод. рекомендації. – К.: ДНДІЛДВСЕ, 2014. – 28 с.

9. Антибиотики, сульфаниламиды и нитрофураны в ветеринарии/Ковалев В.Ф. и др. – М.: Агропромиздат, 1988. 223 с.

References

1. Forsberg KJ, Patel S, Gibson MK, Lauber CL, Knight R, Fierer N, Dantas G. (2014). Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats. *Nature*, doi: 10.1038/nature13377.

2. Ding G-C, Radl V, Schloter-Hai B, Jechalke S, Heuer H, Smalla K, et al. (2014) Dynamics of Soil Bacterial Communities in Response to Repeated Application of Manure Containing Sulfadiazine. *PLoS ONE* 9(3): e92958. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092958>.

3. Kim, K.-R. Owens G., Ok Y.S., Park W.-K., Lee D.B., Kwon S.-I. (2012). Decline in extractable antibiotics in manure-based composts during composting. *Science Direct* 32 (1), 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.07.026>.

4. Xie, W.-Y., Shen, Q., Zhao, F. J., W.-Y. Xie, Q. Shen, F. J. Zhao, W.-Y. Xie (2018) Antibiotics and antibiotic resistance from animal manures to soil: a review *European Journal of Soil Science*, 69 (1), 181-

195. November 2017 <https://doi.org/10.1111/ejss.12494>.

5. Pan M, Chu LM. (2017) Transfer of antibiotics from wastewater or animal manure to soil and edible crops. *Environ Pollut.* 231 (Pt 1): 829-836. doi: 10.1016/j.envpol.2017.08.051. Epub 2017 Sep 25.

6. Muhammad Danish Mund, Umair Hassan Khan, Uruj Tahir, Bahar-EMustafa & Asad Fayyaz (2017) Antimicrobial drug residues in poultry products and implications on public health: A review, *International Journal of Food Properties*, 20:7, 1433-1446.

7. Abramov A.V. Novozhytska Yu.M. & Ivanova O.V (2008). *Vyznachennia ftorkhinoloniv v produktakh tvarynnoho pokhodzhennia metodom ridynnoi khromatohrafiï : Metodychni vkazivky. – K, [Determination of fluoroquinolones in products of animal origin by liquid chromatography]. Kyiv: [in Ukrainian].*

8. Novozhytska Yu.M., Ivanova O.V. & Stupak O.M. (2014). *Vyznachennia antybiotykyv u produktakh tvarynnoho pokhodzhennia za dopomohoiu ridynnoho khromatomas-spektrometra: metod. rekomendatsii [Determination of antibiotics in products of animal origin by liquid chromatomas spectrometer]. Kiev: DNDILDVSE [in Ukrainian].*

9. Kovalev V.F., Kovalev, I.B. Volkov, B.V., & Violin (1988). *Antibiotiki, sul'fanilamidy i nitrofurany v veterinarii [Antibiotics, sulfonamides and nitrofurans in veterinary medicine]. Moskva: Agropromizdat [in Russian].*

Доброжан Ю. В., Шевченко Л. В.

ОСТАТОЧНОЕ КОЛИЧЕСТВО АМОКСИЦИЛЛИНА В ПОМЁТЕ КУРЕЙ ПРИ МЕЗОФИЛЬНОМ СПОСОБЕ ХРАНЕНИЯ

Ю. В. Доброжан, Л. В. Шевченко

*Анотация.**Установлены*

особенности накопления антибиотиков в курином помёте промышленного и ремонтного стада при их использовании с терапевтической целью. Выявлено, что остаточное количество амоксициллина в помёте курей промышленного стада находится на уровне 12,22 до 121,96 мкг/кг, в помёте ремонтного стада петухов – 19,45 мкг/кг и ремонтного стада курей – 28,94 мкг/кг. Хранение помёта кур промышленного стада в условиях мезофильного режима способствовало росту концентрации амоксициллина до 276,3-337,3 мкг/кг помёта, что практически достигло одного уровня в пробах отобранных в торцах и центре птичника. Наличие в помёте курей промышленного стада остаточного количества окситетрациклина, амоксициллина и колистина способствует увеличению уровня амоксициллина в помёте при его мезофильном хранении в 1,2 – 7,5 раз в сравнении с исходной концентрацией. Наличие в помёте кур ремонтного стада амоксициллина в соединении с колистином способствует обеспечению стабильной концентрации амоксициллина на протяжении 17 месяцев хранения в условиях мезофильного режима. При наличии в помёте ремонтного стада петухов только амоксициллина, его

остаток разложился в окружающей среде на протяжении 3 недель.

Ключевые слова: антибиотики, помёт, куры, мезофильный способ хранения

RESIDUAL CONTANT OF AMOXICILLIN IN CHICKEN MANUARE WITH STORAGE IN MESOPHILIC MODE

I. Dobrozhan, L. Shevchenko

Abstract. The peculiarities of accumulation of antibiotics in chicken manure of industrial and repair herds are established when they are used for therapeutic purposes. It was revealed that the residual amount of amoxicillin in the litter of hens of the industrial herd is at the level of 12.22 to 121.96 μg / kg, in the manure of the repair herd of cocks - 19.45 mkg / kg and the repair herd of chickens - 28.94 mkg / kg. Keeping the manure of commercial hen herds under mesophilic conditions promoted an increase in the concentration of amoxicillin to 276.3-337.3 μg / kg of litter, which practically reached one level in samples taken at the ends and center of the poultry house. The presence in the manure of commercial herds of a residual amount of oxytetracycline, amoxicillin and colistin promotes an increase in the level of amoxicillin in the litter during its mesophilic storage in 1,2 - 7,5 times in comparison with the initial concentration. The presence in the chickens manure of the repair flock amoxicillin in conjunction with colistin helps to ensure a stable concentration of amoxicillin for 17 months of storage under mesophilic conditions. If there is only amoxicillin in the manure of the repair herd of cocks, its residue has

Доброжан Ю. В., Шевченко Л. В.

decomposed in the environment for 3 weeks.

Keywords: *antibiotics, manure, chickens, mesophilic storage method*