

Діагностика маститів на ранньому етапі постнатального онтогенезу

Анотація. Одним із шляхів зниження захворюваності тварин на мастити є використання в молочному стаді стійких до ураження вимені корів і вибракування з нього сприйнятливих ще на ранньому етапі постнатального онтогенезу. Зважаючи на те, що більшість захворювань є генетично обумовленими, для вирішення поставленого завдання можна використовувати антигени гістосумісності.

Для індивідуальної оцінки схильності корів до захворювань вимені на основі методу статусметрії розроблено лінійну модель, до якої увійшли 17 антигенів гістосумісності.

Ключові слова: корови, мастит, антигени ГКГ, статусметрія, лімфоцитарні маркери, постнатальний онтогенез.



Т. СУПРОВИЧ, канд. біол. наук, доцент
Подільський державний аграрно-
технічний університет
В. ВЛІЗЛО, докт. вет. наук
Інститут біології тварин НААН

Світовий ринок органічних продуктів харчування оцінюється понад \$ 56 мільярдів, з яких на органічні молочні продукти припадає понад \$ 7 мільярдів. Молоко залишається другим серед рідких продуктів за обсягом споживання після води.

Серед великої кількості чинників, які визначають показники продуктивності та якості молока, стан здоров'я молочної залози є визначальним. Поміж хвороб, які завдають найбільших збитків виробництву молока, як кількісно, так і за якістю молока, перше місце утримує мастит [6]. В

Україні в 2012 році стадо молочних корів налічувало понад 2620 тис. корів. Аналітичний розрахунок збитків від маститів за методикою [10] для ферми в 1000 голів за цінами 2011 року (3,9 грн./л) показує, що середні втрати на 1 корову становлять близько 2 тис. грн.

Численні дослідження свідчать, що серед багатьох причин, які спричиняють виникнення інтрамамарної інфекції, передусім генетична схильність тварин до захворювання [8, 12]. Саме це визначає інтерес до генетичних маркерів, застосування яких допомагає здійснювати маркерасоційовану селекцію і прогнозувати здоров'я тварин.

Для відбору худоби, резистентної до захворювання, використовують різні маркери, але з відкриттям головного комплексу гістосумісності (ГКГ) з'явилася перспектива прогнозувати стійкість або чутливість конкретної тварини до захво-

рювання на ранньому етапі постнатального онтогенезу.

Головний комплекс гістосумісності є кластером тісно зчеплених генів, який виявлений у риб, птахів, амфібій, рептилій і ссавців. Спочатку передбачалося, що головна функція ГКГ полягає у визначенні частки трансплантата. Зараз окреслилася концепція, згідно з якою даний комплекс відповідальний за формування імунної відповіді: взаємодію макрофагів, Т- і В-лімфоцитів, підтримку імунологічного гомеостазу в цілому. ГКГ забезпечує регуляцію імунної відповіді, здійснює взаємодію всіх імунокомпетентних клітин організму, розпізнавання «свого» і «чужого», у тому числі, змінених власних клітин, запуск і реалізацію імунної відповіді, що в цілому, забезпечує виживання тварини в умовах екзогенної та ендогенної агресії. Саме ГКГ належить головна роль у визначенні схильності до різних захворювань [9, 11].

Головний комплекс гістосумісності великої рогатої худоби (BoLA-комплекс) був постульований у 1978 році та встановлено, що він розташований на двадцять третій хромосомі. З того часу проводяться дослідження, направлені на можливість використання в якості маркерів стійкості та сприйнятливості до захворювань антигенів гістосумісності BoLA-системи (лімфоцитарні маркери). Вони несуть генетичну інформацію про ступінь чутливості організму до етіологічних факторів багатьох патологій, властивих популяції: лейкозу, туберкульозу, зокрема й до захворювань молочної залози [5].

Встановлення лімфоцитарних маркерів, асоційованих з маститами, допомагає виявити, по-перше, потенційно сприйнятливих до маститів корів у період раннього постнатального онтогенезу і вибракувати їх з молочного стада до початку продуктивного використання; по-друге, - потенційно стійких до маститів корів для використання їх в селекційній роботі при створенні стад, невразливих до захворювань молочної залози.

Мета роботи: розробка методики виявлення стійких та сприйнятливих до маститів корів в період раннього постнатального онтогенезу з використанням антигенів головного комплексу гістосумісності.

Матеріали та методи дослідження. Визначення антигенів проводили у двоступінчастому цитотоксичному тесті в мікроеваріанті за Kissmeyer-Nielson у модифікації для великої рогатої худоби. Вплив конкретного антигена на імунореактивність тварин визначали комплексом біометричних показників, таких як частота в популяції

(f), відносний ризик захворюваності (RR), етіологічна фракція (EF) і атрибутивний ризик (AR) при достатньому рівні достовірності (χ^2).

Вивчення антигенного спектра BoLA-системи проведено на 649 коровах української чорно-рябої молочної породи.

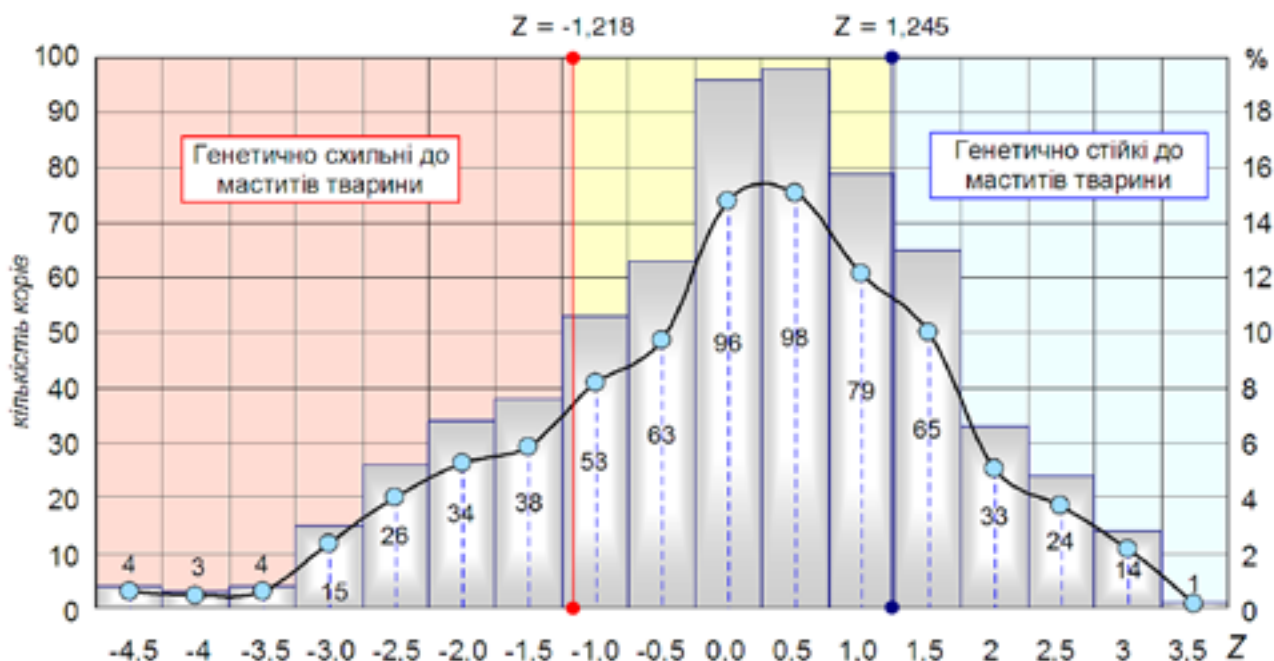
Результати досліджень та їх обговорення. Обробка одержаних результатів стандартними біометричними методами дала змогу встановити наявність антигенів, тісно зв'язаних як зі стійкістю, так і зі сприйнятливістю до маститів. Сприятливими щодо стійкості корів до маститів є 2 антигени BoLA-системи A17 (RR = -2,88; EF = -0,229; AR = -0,539; f = 0,419; $\chi^2 = 41,5$) і A6 (RR = -2,32; EF = -0,112; AR = -0,234; f = 0,26; $\chi^2 = 20,3$). Асоціативний зв'язок із сприйнятливістю до маститів проявляють 6 антигенів: W2 (RR = 6,38; EF = 0,117; AR = 0,2; f = 0,136; $\chi^2 = 50,0$), W6 (RR = 3,67; EF = 0,195; AR = 0,314; f = 0,293; $\chi^2 = 52,7$), W31 (RR = 2,31; EF = 0,127; AR = 0,214; f = 0,288; $\chi^2 = 22,7$), W19 (RR = 2,17; EF = 0,143; AR = 0,239; f = 0,351; $\chi^2 = 21,6$), W15 (RR = 2,05; EF = 0,121; AR = 0,206; f = 0,319; $\chi^2 = 17,9$) і A13 (RR = 2,32; EF = 0,176; AR = 0,286; f = 0,398; $\chi^2 = 26,7$). Означені антигени і є тими самими лімфоцитарними маркерами, які допомагають прогнозувати резистентність чи сприйнятливість корів до маститів.

Але зоотехніка-практика або простого фермера цікавить конкретне питання: «Як використати результати типування для прийняття рішення: ставити теличку в робоче стадо чи ні?»

Дослідивши антигенний спектр конкретної тварини можна виявити різні комбінації антигенів. Зрозуміло, що наявність маркерів A17 і A6 свідчить про високу ймовірність того, що протягом всього життєвого циклу корова буде стійкою до маститів. Навпаки, якщо у корови виявляються антигени W2, W6, W31, W19, W15 і A13, вірогідність прояву маститів буде надто високою. Але в генотипі тварини найчастіше зустрічаються антигени різної спрямованості. У цьому випадку прийняти зважене рішення просто неможливо.

Більшість дослідників намагається віднайти взаємозв'язок між ризиком захворюваності і наявністю одного (рідше двох і більше) BoLA-антигенів. Принциповий недолік такого підходу – висока ймовірність помилки при оцінці імунного статусу конкретної тварини. Бажання знайти «головний» антиген з кількох десятків призводить до помилки тому, що частота знаходження антигена – популяційна ознака, а схильність до захворювання – суворо індивідуальна і визначається персональним набором антигенів кожної тварини [2].

Необхідно мати зважену індивідуальну оцінку кожної тварини на основі виявлених лімфоцитарних антигенів. Реальна оцінка сприйнятливості до захворювання може базуватися лише на моделях,



Генетично стійкі та схильні до маститів корови української чорно-рябої молочної породи на основі індивідуальної інтегральної оцінки, одержаної за статусметричною моделлю

які враховують всі або більшість антигенів, що характеризують імуногенетичний статус організму. Вирішення поставленого завдання проводиться на основі статусметрії.

Це комплексна автоматизована кількісна оцінка й аналіз стану складних багатопараметричних об'єктів за мінімізованими комплексами інформативних показників, відібраних із великого числа параметрів, що характеризують ці об'єкти. До складу комплексу входять методи теорії розпізнання образів, математична теорія експерименту, теорія відбору (мінімізація) інформативних ознак, критеріальний апарат математичної статистики і автоматизований машинний експеримент. Даний метод дає змогу перейти від аналізу окремих параметрів до аналізу станів об'єкта в цілому за багатомірним комплексом вивчених показників, на основі кількісної оцінки складних об'єктів [7].

Оцінка схильності до захворювання обчислюється відповідно до поліному першого ступеня:

$$Z = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + \dots + B_nX_n = B_0 + \sum_{i=1}^n B_iX_i, \quad (1)$$

де Z – індивідуальна інтегральна оцінка;

X_i – бінарні показники стану індивіда;

B_i – коефіцієнт впливу показника X_i на величину Z (знак біля коефіцієнта характеризує напрям впливу: «+» позитивний, «-» – негативний);

n – кількість показників.

У статусметричній моделі для визначення індивідуальної оцінки в зв'язку з маститами бінарні показники X_1, X_2, \dots, X_n – це відповідні антигени

BoLA-системи. Якщо антиген відсутній, відповідне значення $X_i = 0$, інакше $X_i = 1$. За результатами математичної обробки одержано лінійну модель для аналізу на стійкість до маститів корів української чорно-рябої молочної породи:

$$Z = 0,599 - 1,556W2 - 1,133W6 + 0,747W10 - 0,563W31 - 0,33W14 - 0,657W19 - 0,695W15 + 0,231A1 + 0,387A3 + 0,799A6 - 0,685A9 - 0,285A12 - 0,619A13 + 0,332A16 + 1,121A17 + 0,447A22 - 0,244A24 \quad (2)$$

Інформативними є 17 антигенів BoLA-системи (W2, W6, W10, W31, W14, W19, W15, A1, A3, A6, A9, A12, A13, A16, A17, A22 і A24). Для двох альтернативних станів «хворі-здорові» на шкалі Z визначені умовні одиниці стану об'єкта $\alpha_1 = -0,075$ і $\alpha_2 = 0,188$. При $Z < -0,075$ тварина чутлива до маститів, а при $Z > 0,188$ – стійка. Якщо $-0,075 \leq Z \leq 0,188$ рішення невизначене.

Одержана модель допомагає знайти відповідь на поставлене раніше запитання щодо прийняття рішення про використання корови в робочому стаді. Для цього необхідно провести типування телички по 17 антигенам гістосумісності. Для виявлених антигенів у формулу 2 підставляється «1», для інших «0». Підраховується значення Z і за його знаком і величиною роблять висновок про сприйнятливості чи стійкості корови до маститів.

Зрозуміло, що виникає запитання, за яких значень індивідуальної оцінки приймати однозначне рішення про вибракування телички. Адже в зону з негативним значенням Z потрапляє майже половина протестованих тварин.

Для цього за формулою 2 визначено Z для всіх корів дослідної вибірки. Характеристика розподілу оцінок на ведена на рис.. Гістограма та графік побудовані в діапазонах Z кроком 0,5, що дає змогу оцінити розподіл в широких межах з достатньою точністю (кількість тварин) в кожному діапазоні. Пропонований розподіл наближений до нормального.

Ранжування дослідних вибірок за величиною Z від найменшого значення дає змогу не лише розташувати корів у порядку зростання резистентності до маститів, але й виявити значення інтегральної оцінки, при якому вибракування теличок буде обґрунтованим.

При рівні довірчої ймовірності у 95% перше помилкове рішення припадає на корову, яка має величину $Z = -1,218$. Це означає, що корови, які розташовані на рис. ліворуч даного значення (червона зона) з дуже високим рівнем ймовірності протягом життєвого циклу будуть хворіти на мастити. В червону зону потрапляє близько 11,7%.

Аналогічні міркування можна використати для виявлення генетично стійких до маститів корів. Перше помилкове рішення в зоні позитивних значень індивідуальної оцінки припадає на корову, для якої $Z = 1,245$. Тому тварин, які мають значення $Z > 1,245$ можна вважати такими, у яких протягом життєвого циклу не будуть проявлятися мастити. У блакитну зону потрапляє близько 21% протестованих корів. Тварин, які за імуногенетичним статусом входять у блакитну зону, в першу чергу повинні використовувати в селекційних заходах, спрямованих на створення стада, стійкого до маститів.

А як же бути із жовтою зоною? Адже там знаходиться більша частина поголів'я? Якщо результат індивідуальної оцінки знаходиться в межах $-1,218 \leq Z \leq 1,245$ рішення може бути прийняте лише після постановки тварини у робоче стадо і спо-

стереження за нею протягом перших лактацій. При цьому необхідно зважати на частоту проявів маститів, їхню форму і тривалість захворювання, молочну продуктивність корови тощо. Мабуть вирішальним в такому випадку буде матеріальна сторона справи, коли визначальним у рішенні бути чи не бути відіграє прибуток чи збиток, який приносить корова, котра часто хворіє на мастити.

Існує й інший шлях розв'язання даної проблеми. Для уточнення імуногенетичного статусу тварини можна використати ще один вид генетичних маркерів, а саме ДНК-маркери на основі алелів гена *BoLA-DRB3*. Це наступний крок наукового пізнання, який чекає свого вирішення.

Висновки. Таким чином, для визначення корів, стійких або сприйнятливих до захворювань молочної залози, необхідно на ранньому етапі постнатального онтогенезу провести тестування тварин за «інформативними» антигенами і обчислити значення індивідуальної інтегральної оцінки за статистичною моделлю. Рішення про вибракування корови з молочного стада або використання її в селекційних програмах приймається на основі індивідуальної інтегральної оцінки, яку визначають на основі статистичної моделі за індивідуальним набором антигенів гістосумісності.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Головко А.М.* Мікрофлора молока від хворих на субклінічні мастити корів. // *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* – X., 2000. – Вип.77. – С.84–88.
2. *Зарецкая Ю. М.* Клиническая иммуногенетика. – М.: Медицина. – 1983. – 208 с.
3. *Кому нужно ваше молоко? Молочная карта мира // ИА Dairynews (28.12.2012) [Електронний ресурс]. – Режим доступу до матеріалів: <http://www.dairynews.ru/dairyfarm/>*



komu-opo-nuzhno-vashe-moloko.html. – Заголовок з екрану.

4. **Кухтин М.Д.** Концепція розробки та застосування нормативів для виробництва сирого молока татунку «Екстра» за вмістом мікроорганізмів // *Ветеринарна медицина України*. – 2010. – №10. – С.42–43.
5. **Эрнст Л.К.** Особенности распространения антигенов *BoLA-A* и аллелей гена *BoLA-DRB3* у черно-пестрого скота в связи с ассоциацией с лейкозом. // *Генетика*. – 1997. – Т.33. – С.87–95.
6. **Пешук Л. В.** Проблема маститу в стадах великої рогатої худоби молочного напрямку. // *Вісник аграрної науки*. – 2001. – №9. – С.32–35.
7. **Разоренов Г.И.** Автоматизированная количественная оценка и анализ состояния организма. – Л.: *Препринты ЛИИАН*, 1986. – Ч.1,2. – 96 с.
8. **Сулимова Г.Е.** ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения. // *Успехи соврем. биологии*. – 2004. – Т.124. – № 3. – С.260–271.
9. **Хаитов Р.** Генетика иммунного ответа. // *Inter. J. on Immunorehabilitation*. – 1998. – №10. – P.30–37.
10. **Хансєв В.В.** Захворювання корів на мастит: рахуємо збитки. // *Ветеринарна медицина України*. – 2011. – № 11(189). – С.36–37.
11. **Klein J.** Polymorphism and Balancing Selection at Major Histocompatibility Complex Loci. // *Genetics*. – 1992. – V.130(4). – P.925–938.
12. **Yoshida T.** Association of *BoLA-DRB3* alleles identified by a sequence-based typing method with mastitis pathogens in Japanese Holstein cows // *Anim. Sci. J.* – 2009. – V.80. – №5. – P.498–509.

Т. І. ЛЕЙБІНА, асистент
Луганський національний
аграрний університет

Серед технологічних чинників, які позначаються на інтенсивності росту худоби, особливе значення має споживання сухої речовини кормів, якому ефективно сприяє фазова годівля [1].

У науковій літературі [2] доведений позитивний вплив на активізації розвитку бугайців зміни поживності раціонів з 80 до 120 % понад норму через кожних 20 діб. Таким чином, можна підвищити середньодобові прирости живої маси молодняку на 17,0 %, а витрати кормів на 1 кг приросту живої маси тварин зменшити на 15,9 %. За іншими даними [3] спосіб фазової годівлі також був ефективним, проте найкращі результати були при 12-добовому ритмі зміни поживності раціонів. У наших власних дослідженнях [4] використання фазового способу годівлі допомогло збільшити живу масу бугайців симентальської породи, масу парної туші та кількість м'якуша в тушах. При цьому ритм зміни поживності раціонів у 10 діб був ефективніший, ніж тривалістю 15 та 20 діб.

Необхідно відзначити, що періодичне підвищення поживності раціонів на 40 % попередні дослідники здійснювали за рахунок підвищення в їх структурі питомої ваги зернових концентратів. Тоді як у сучасному виробництві важливішим є максимальне використання сухої речовини консервованих об'ємистих кормів. Відповідно, виникає завдання збільшити їх привабливість для худоби, особливо у наступні етапи годівлі за фазовим принципом, коли поживність раціонів і кількість сухої речовини в них значно зростають.

У цій ситуації може бути ефективною активізація кормової поведінки бугайців за уведення до складу кормосумішей ароматичних добавок штучного або природного походження, оскільки велику рогату худобу відносять до тварин з гострим нюхом і ароматичні властивості корму для неї відіграють велику роль [5].

Виходячи з цього було поставлено мету досліджень – вивчити хімічний склад яловичини, провести її дегустаційну оцінку та дослідити конверсію протеїну кормів у білок м'якуша туш бугайців за використання кормової ароматичної добавки у технології інтенсивної фазової годівлі.

Матеріал і методика досліджень. Для досягнення поставленої мети був проведений науково-господарський дослід на трьох групах бугайців симентальської породи комбінованого напрямку продуктивності, яких з 12- до 18-ти місяців відгодували повнораціонною сумішшю (кукурудзяний силос, злаково-бобове сіно, патока і комбікорми). Поживність раціонів становила 8,1-10,4 корм. од. за загального вмісту перетравного протеїну 810-990 г, а концентрація обмінної енергії в 1 кг сухої речовини кормів досягала 10,2-10,5 МДж, відповідно до деталізованих норм годівлі [7].

У процесі відгодівлі бугайців використовували фазовий спосіб і змінювали поживність раціонів з 80 до 120 % понад норму через кожних 10 діб. Ароматичну добавку вводили до складу кормової суміші (з комбікормом, разом з додатковим преміксом) для бугайців II та III груп у дозі 1,5 г на 1 кг сухої речовини. У кормосуміш бугайців II групи її додавали постійно протягом усього періоду дослідження, а для тварин III групи – через кожних