

7. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: Довід. / ред.: В. В.Влізло; упоряд.: Л. В. Андреева; Ін-т біології тварин УААН. - 3-є вид., переробл. і доповн. - Л., 2004. - 399 с.

8. Templeton CB, Bottoms GD, Fessler JF, Turek JJ, Boon GD: Effects of repeated endotoxin injections on prostanooids, hemodynamics, endothelial cells, and survival in ponies. *Circ. Shock* 1985, 16, 253-264.

9. Ward DS, Fessler JF, Bottoms GD, Turek J: Equine endotoxemia: cardiovascular, eicosanoid, hematologic, blood chemical, and plasma enzyme alterations. *Am. J. Vet. Res.* 1987, 48, 1150-1156.

10. van Miert Asjpm: Inhibition of gastric motility by endotoxin (bacterial lipopolysaccharide) in conscious goats and modification on this response by splanchnectomy or adrenergic blocking agents. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 1971, 193, 405-414.

Стаття надійшла до редакції 12.10.2015

УДК 619:518.19–002:636.2

Куртяк Б. М., д. вет. н., проф. (e-mail: kurtakbohdan@gmail.com)

Собко Г. В., аспірант (e-mail: sobko2312@gmail.com) ©

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, м. Львів

Бойко О. П., к. вет. н., головний наук. співробітник, (e-mail: Ibor_ua@rambler.ru)

Дослідна станція епізоотології Інституту епізоотології НААН

БАКТЕРІОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ ПРИХОВАНИХ ФОРМ МАСТИТІВ – ВАЖЛИВА СКЛАДОВА У ПРОГРАМІ ПРОФІЛАКТИКИ МАСТИТІВ

Бактеріологічним дослідженням кількісного та якісного складу мікрофлори секрету вимені від корів, хворих на субклінічні мастити, встановлено, що всі вони обумовлюються асоціаціями умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів, кожен із яких володіє властивою для нього резистентністю до антибактеріальних препаратів, без врахування яких лікування та санація молочної залози ускладнюється. Результати наших досліджень доводять, що бактеріологічний моніторинг секрету вимені корів, хворих на будь-яку форму маститу повинен проводитися на кожній молочно-товарній фермі.

Ключові слова: соматичні клітини молока, субклінічні мастити, умовно-патогенні мікроорганізми, антибіотикорезистентність.

УДК 619:518.19–002:636.2

Куртяк Б. М., Собко Г. В., Бойко О. П.

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С. З. Гжицкого

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ СКРЫТЫХ ФОРМ МАСТИТОВ – ВАЖНАЯ СОСТАВЛЯЮЩАЯ ПРОГРАММЫ ПРОФИЛАКТИКИ МАСТИТОВ

Бактериологическим исследованием количественного и качественного состава микрофлоры секрета вымени от коров, больных субклинические маститы, установлено, что все они усложняются ассоциациями условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, каждый из которых обладает присущей ему резистентностью к антибактериальным препаратам, без учета которых лечение и санация усложняются. Результаты наших исследований показывают, что бактериологический мониторинг секрета вымени коров, больных маститом должен проводиться на каждой молочно-товарной ферме.

Ключевые слова: соматические клетки молока, субклинические маститы, условно-патогенные микроорганизмы, антибиотикорезистентность.

УДК 619:518.19–002:636.2

Kurtyak B., Sobko G., Boiko O.

*Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies
named after S. Z. Gzhytskyj*

BACTERIOLOGICAL MONITORING OF SUBCLINICAL MASTITIS – IS AN IMPORTANT PART OF MASTITIS PREVENTION PROGRAMS

We conducted bacteriological examinations of quantitative and qualitative composition milk samples' microflora of cow's suffering from subclinical mastitis. It was found that they are specified by complex associations of opportunistic and pathogenic microorganisms. Each of them (microorganisms) is characterized by specific resistance to antibiotics, without which the treatment and rehabilitation is complicated. Our results showed that bacteriological milk monitoring of cows suffering from any form of mastitis should be implemented on each dairy farm.

Key words: Milk somatic cells, subclinical mastitis, opportunistic pathogens, antibiotic resistance.

Постановка проблеми. З року в рік у нашій країні зростають вимоги щодо якості та безпечності молока і молочних продуктів [1].

Основними показниками оцінки якості та безпеки молока є рівень бактерійної забрудненості та кількості соматичних клітин. Не менш важливе значення мають й інші показники, що мають вплив на якісну характеристику цього продукту [2].

Захворювання дійних корів на різні форми маститів негативно впливає на якість молока [3].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Мастити є найпоширенішою незаразною патологією корів, що завдає значних економічних збитків. Мастит є однією із найважливіших причин передчасної вибраковки великої кількості корів у молочних комплексах [4]. Молоко, отримане від корів хворих на мастит, становить ризик виникнення харчових токсикоінфекцій у споживачів молока та молочних продуктів [5].

Захворювання корів на мастит наносить господарствам значні економічні збитки, адже захворюваність на клінічні та субклінічні форми маститу у весняно-літній період може сягати 25–30 % [6], а за сучасної промислової технології виробництва молока – до 60% [7].

Мета дослідження. Виявлення прихованих форм маститів корів шляхом дослідження проб молока від кожної дійної корови на вміст соматичних клітин та загальну бактерійну забрудненість, з наступною індикацією та ідентифікацією мікрофлори і визначенням її чутливості до антибіотиків у пробах молока, які за вмістом соматичних клітин давали підставу віднести їх до таких, що характерні для маститу.

Матеріал і методи дослідження. Об'єктом дослідження були корови чорно-рябої породи (n=71) та молоко (секрет) вимені від них у господарствах Самбірського району, Львівської області. Кількість соматичних клітин у пробах молока визначали за допомогою аналізатора соматичних клітин «Екомілк АМВ-01-03» [9]. Для бактеріологічного дослідження відбирали проби молока, у яких виявлено високий вміст соматичних клітин (більше 1×10^6 КУО/см³).

Відібрані проби молока досліджували на вміст МАФАНМ (мезофільні аеробні і факультативно анаеробні мікроорганізми), а також виділяли та ідентифікували мікроорганізми – потенційні збудники маститів корів [9, 10, 11,12].

Чутливість виділених ізолятів до антибактеріальних препаратів визначали диско-дифузійним методом [13].

Результати дослідження та їх обговорення. Бактеріологічними дослідженнями 10 проб молока (секрету) вимені корів, хворих на субклінічні мастити, виділено 139 ізолятів мікробів. Їх видовий склад та питома вага кожного у загальному масиві виділених ізолятів відображено на рис. 1.

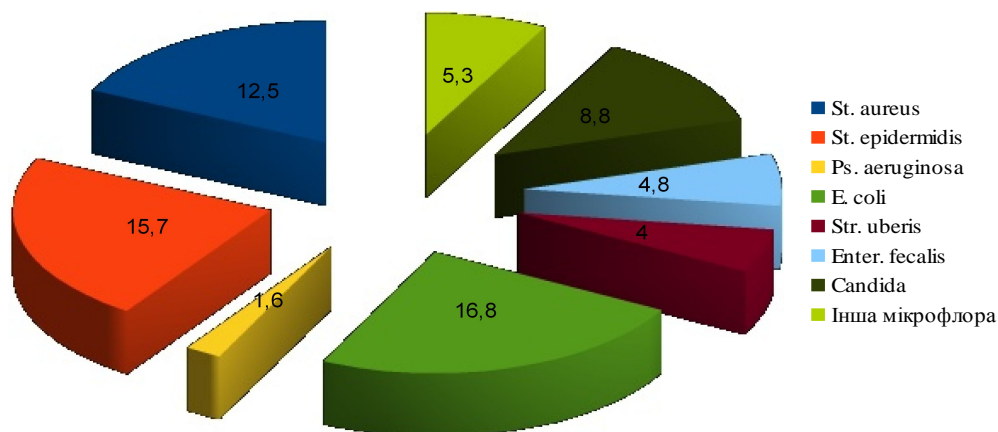


Рис. 1. Видовий склад ізолятів, виділених із секрету вимені корів, хворих на мастит, та питома вага кожного з них у загальній популяції виділених мікроорганізмів.

Як видно з даних рис. 1, мікрофлора секрету вимені від хворих на мастит корів представлена, як грампозитивними (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. uberis*), так і грамнегативними (*E. coli*, *P. aeruginosa*) мікроорганізмами та дріжджовими грибами (*Candida*).

Найбільшу частку у загальному масиві виділених ізолятів становили культури *E. coli* (16,8%), *S. epidermidis* (15,7%) та *S. aureus* (12,5%).

На перебіг захворювання негативний вплив мають мікроорганізми із роду *Candida*, що, у свою чергу, може бути обумовлене наявністю фізіологічного імунодефіцитного стану у тварин, або ж безсистемним використанням антибіотиків [14]. Їх концентрація у досліджених пробах молока становила у межах $1,2-6 \times 10^2$ КУО/см³, що складало приблизно 8,8% від загальної кількості виділених мікроорганізмів.

Частота виділень *S. uberis* і *P. aeruginosa* становила 4% і 1,6% відповідно, а не ідентифікованої мікрофлори – 5,3% від загальної кількості виділених мікроорганізмів.

Інтенсивність колонізації зразків молока різними видами мікробів відображено у табл. 1.

Із даних, наведених у табл. 1, видно, що лише три види мікроорганізмів – *S. aureus*, *S. epidermidis* і *E. coli* виділено з усіх досліджуваних проб молока, *E. fecalis*

– із 5 проб, *S. uberis*, *Candida* та не ідентифікована мікрофлора – з 4, *P. aeruginosa* – з 2 проб.

Таблиця 1

Концентрація мікроорганізмів (за видами) у досліджуваних пробах молока від корів, хворих на мастит, у КУО/см³

Вид мікробів	№ проби молока та кількість мікробів у пробі								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>S. aureus</i>	2x10 ⁷	1,8x10 ⁵	3,6x10 ⁷	2,8x10 ⁶	1,8x10 ⁵	1,6x10 ⁴	1,0x10 ⁶	1,2x10 ⁶	1,7x10 ⁵
<i>S. epidermidis</i>	5x10 ⁷	1,2x10 ⁴	4,0x10 ⁶	3,2x10 ⁵	2,6x10 ⁴	1,2x10 ⁴	2,2x10 ³	1,5x10 ⁴	1,2x10 ⁴
<i>P. aeruginosa</i>	1,2x10 ³	–	–	–	1,1x10 ³	–	–	–	–
<i>E. coli</i>	4x10 ⁵	1,6x10 ⁵	1,2x10 ³	1,5x10 ⁴	1,0x10 ⁴	1,2x10 ³	8,0x10 ²	3,2x10 ³	1,8x10 ²
<i>S. uberis</i>	2x10 ³	–	–	1,2x10 ³	1,4x10 ²	–	–	–	1,1x10 ²
<i>E. fecalis</i>	1,2x10 ⁵	–	1,6x10 ⁴	–	1,7x10 ³	1,0x10 ⁴	1,3x10 ⁴	–	–
<i>Candida</i>	–	2x10 ²	–	–	–	–	2,1x10 ²	6x10 ²	1,2x10 ²
Інша мікрофлора	–	3,3x10 ³	–	–	1,1x10 ³	–	1,7x10 ³	1,4x10 ²	–

Результати бактеріологічних досліджень свідчать, що не було жодної проби молока, яка була б представлена лише одним видом мікроорганізмів. Так, по 4 види культур містили 3 проби молока, по 5 видів культур – 3 проби, по 6 видів культур – 2 проби і по 7 видів – 1 проба.

Дослідженням біохімічних та ферментативних властивостей ідентифікованих ізолятів встановлено, що культури *S. aureus*, зброджували глюкозу та манніт, продукували плазмокоагулазу, викликали α - чи β -гемоліз, що свідчить про їх потенційну патогенність.

Культури *S. uberis* викликали α -гемоліз, добре росли на сироватковому МПБ з 40 % жовчі, ферментували сахарозу та лактозу, але не ферментували манніт.

Культури *E. coli* мали типові для кишкової палички морфологічні ознаками, володіли типовими культуральними (росли на Ендо із типовим металічним блиском), біохімічними (ферментували глюкозу і лактозу, утворювали індол і не утворювали сірководню, не засвоювали цитратно-амонійних солей) та антигенними (давали позитивну РА із комплексними О-колі аглютинуючими сироватками, тобто були віднесені до ентеропатогенних ізолятів) властивостями.

Отримані дані свідчать про потенційну здатність культур *S. aureus*, *S. uberis* та *E. coli* спричиняти захворювання корів на мастит на тлі зниження загальної імунної опірності організму корів, що може бути спричинене негативним впливом на організм дійних корів сприяючих та схиляючих факторів.

Наступним кроком нашої роботи було визначення чутливості змішаних культур кожної проби молока до антибактеріальних препаратів (табл. 2).

Як видно із даних табл. 2, чутливість асоційованих культур до антимікробних препаратів виявилася неоднаковою. Найбільш ефективними препаратами виявились ампіцилін, амоксицилін, бензилпеніцилін, амоксиклав, цефатаксим (зона затримки росту 17–35 мм). Помірну бактеріостатичну активність проявили спектиноміцин, доксициклін, лінкоміцин (діаметри зон затримки росту – 13–20 мм). Колістин та сульфадіазин не проявили бактеріостатичної дії на мікрофлору жодної із досліджуваних проб молока.

Таблиця 2.

Чутливість мікробних асоціацій досліджуваних проб молока до антибактеріальних препаратів.

Антибактеріальний препарат	Вміст у диску, мкг	Діаметри зон затримки мікробних асоціацій у пробах молока: (мм)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ампіцилін	10	25ч	26 ч	26 ч	20 п	25 ч	25 ч	21 ч	19 п	25 ч
Амоксицилін	10	27 ч	22 ч	28 ч	20 п	18 п	20 п	21 ч	15 р	26 ч
Бензилпеніцилін	10	25 ч	14	27 ч	22 ч	26 ч	18 п	15	17 п	23 ч
Амоксиклав	30	36 ч	19	35 ч	23 ч	20 п	18 п	17 п	18 п	22 ч
Цефатаксим	30	33 ч	23 ч	35 ч	27	27 ч	21 ч	22 ч	20	19 п
Енрофлоксацин	10	33 ч	14 р	33 ч	17 п	15 р	16 п	11 р	17 п	20 п
Стрептоміцин	10	21 ч	14 р	22 ч	18	20 п	20 п	13 р	21 ч	0 р
Гентаміцин	10	27 ч	24 ч	28 ч	21	25 ч	21 ч	19 п	20 п	17 п
Спектиноміцин	100	21 ч	14р	0 р	18 п	0	13 р	0	20 п	15 р
Тилозин	150	0 р	17 п	0 р	16	22 ч	0 р	0 р	0 р	0 р
Колістин	10	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р
Окситетрациклін	30	8 р	0 р	0 р	12 р	0 р	0 р	10р	0 р	0 р
Доксициклін	30	17 п	13 р	20 п	10р	0 р	12 р	10 р	10 р	0 р
Лінкоміцин	15	24 ч	22 ч	17п	0 р	0 р	25 ч	0	18 п	0 р
Спіраміцин	30	0 р	23 ч	0 р	0 р	20 п	0	15 п	0 р	0 р
Сульфадіазин	100	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р
Триметоприм	10	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р	0 р

Примітка: Ч – чутливі (зона затримки росту від 21 мм і вище);

П – помірно-чутливі (зона затримки росту 16–21 мм); Р – резистентні (зона затримки росту 12–16 мм);

Результати цих досліджень можна використати для санації молочної залози у період сухоостою корів або у випадку клінічного прояву маститу.

У табл. 3 наведено результати дослідження чутливості виділених та ідентифікованих культур мікробів до антибіотиків.

Як видно із даних табл. 3, ідентифіковані культури із проб молока мали неоднакову чутливість до антибактеріальних препаратів у вказаних дозах. Це, з одного боку, свідчить про те, що цілий ряд антибіотиків зовсім не мають бактеріостатичного впливу на виділені культури мікроорганізмів, тобто їх застосування не має лікувального ефекту, а лише криє у собі ризик забруднення молока та молочної продукції [13].

З іншого боку, кожна із досліджених проб молока містить асоціацію мікроорганізмів, які різняться між собою не лише за патогенністю, але й за чутливістю до тих чи інших АБП, що передбачає комплексне застосування антибактеріальних препаратів з метою санації молочної залози у період сухоостою. Подібні результати отримані іншими дослідниками [15, 16].

Тільки з врахуванням мікробного пейзажу секрету молочної залози кожної корови, хворої на мастит, з подальшим визначенням чутливості до антибактеріальних препаратів потенційно патогенних ізолятів і на цій основі розробки схеми лікування та санації молочної залози можна проводити ефективну профілактику маститів у корів.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. Концентрація соматичних клітин та мікроорганізмів в 1 мл визначає санітарну безпеку молока – сировини та якість продуктів його переробки.

2. Рівень соматичних клітин у молоці є підставою для проведення бактеріологічного моніторингу секрету молочної залози «скомпрометованих» корів.

Таблиця 3

Чутливість отриманих ізолятів мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів

Антибактеріальний препарат	Вміст у диску, мкг	Діаметри зон затримки росту культур (мм)						
		S. aureus	S. epidermidis	E. coli	Str. uberis	Enter. fecalis	Ps. aeruginosa	Candida
Ампіцилін	10	28	24	20	29	25	18	14
Амоксицилін	10	30	23	25	29	15	17	19
Бензилпеніцилін	10	28	18	0	28	0	0	14
Амоксиклав	30	26	19	12	29	18	12	16
Цефатаксим	30	22	16	14	19	21	15	17
Енрофлоксацин	10	32	29	34	31	36	32	30
Стрептоміцин	10	26	21	26	21	23	15	15
Гентаміцин	10	14	12	32	14	30	29	14
Спектиноміцин	100	14	13	20	15	18	16	18
Тилозин	150	12	11	18	0	14	13	10
Колістин	10	10	0	12	0	0	0	10
Окситетрациклін	30	19	16	14	26	24	13	18
Доксициклін	30	34	29	15	29	17	12	12
Лінкоміцин	15	30	24	22	21	20	21	20
Спіраміцин	30	16	13	12	23	15	10	14
Сульфадіазин	100	10	0	0	0	10	0	0
Триметоприм	10	0	12	10	11	10	0	0

3. Постійний моніторинг концентрації соматичних клітин у пробах молока від дійних корів дає можливість виявляти корів хворих на скриті форми маститів і на основі цього своєчасно організувати ефективне лікування та профілактику субклінічних форм маститів.

4. Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення антигенних та імуногенних властивостей виділених від маститних корів місцевих ізолятів з метою конструювання аутогенних вакцин.

Література

1. ДСТУ 3662-97 Молоко коров'яче незбиране. Вимоги при закупівлі.
2. Король С. А. Основні захворювання ВРХ на молочних фермах України. Частина 2. Профілактика маститу корів. / С. А. Король. – Сучасна ветеринарна медицина. – 2013. – № 6. 56–58.
3. Рубцов В. И. Лечение коров при серозном и катаральном мастите / В. И. Рубцов // Ветеринария – 1998. – № 1. – С. 36–37.
4. Карташова В. М. Маститы коров / В. М. Карташова, А. И. Ивашура. – М.: ВО «Агропромиздат», 1988. – 256 с.
5. Даниленко І. П. Санітарний контроль виробництва молока на фермах / І. П. Даниленко. – К.: Урожай, 1973. – 72 с.
6. Краєвський А. Й. Побічні ефекти нестероїдних протизапальних препаратів за маститу корів / А. Й. Краєвський // Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. – 2013. – Випуск 22. – С. 264–269.
7. Бойко П. К. Особливості мікробного пейзажу за прихованої форми маститу у корів / Бойко П. К., Бойко О. П. – Сучасна ветеринарна медицина. – 2014. – № 1. – С. 64–67.

8. Підрахунок соматичних клітин. Частина 1. Метод із застосуванням мікроскопа (контрольний метод) (ISO 13366-1:2008 IDF 148-1:2008): ДСТУ ISO 13366-1:2008. – [Чинний від 2008-01-01]. – К.: Держстандарт України, 2008. – 12 с. – (Національний стандарт України).

9. Молоко та молочні продукти. Методи мікробіологічного контролювання. ДСТУ 7357:2013. – К.: Мінекономрозвитку України, 2014. – 35с. – (Національний стандарт України).

10. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Загальні настанови з підрахунку дріжджів і мікроскопічних грибів. Техніка підрахування колоній, культивованих за температури 25°C (ISO 7954:1997, IDT): ДСТУ ISO 7954:2006 – К.: Держспоживстандарт України, 2008. – 6 с. – (Національний стандарт України).

11. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (коли формных бактерий). ГОСТ 30518-972006 – К.: ГОСТСТАНДАРТ Украины, 2001. – 8с.

12. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахування коагулазо-позитивних стафілококів (*Staphylococcus aureus* та інших видів) Частина 1. Метод з використанням агарового середовища Беард-Паркера (ISO 6888-1:1999, IDT): ДСТУ ISO 6888-1:2003 – К.: Держспоживстандарт України, 2005. – 8 с. – (Національний стандарт України).

13. Методичні вказівки «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів», Київ-2015 / [Т. О. Гаркавенко, О. М. Невольмо, Т. Г. Козицька, Д. О. Ординська, Н. А. Меженська]. – Київ, ДНДІЛДВСЕ, 2015.-79с.

14. Nelson V. How to liquidate mastitis at the dairy farms / V. Nelson, G. Filpot, S. Nikkerson // Manuscript. – 1999. – 1000 p.

15. Бойко О. П. Особливості контролю епізоотичного процесу за прихованої форми маститу у корів / О. П. Бойко // Сільський господар. – 2015. – № 1/2. – С. 32-37.

16. Скляр О. І. Роль ветеринарно-санітарних заходів та правил доїння корів у профілактиці субклінічного маститу / О. І. Скляр // Наук. вісник Львівської державної академії вет. медицини ім. С. З. Гжицького. – Л., 2010. – № 3 (45), Т. 12 – С. 278–282.

Стаття надійшла до редакції 12.10.2015

УДК 619:616.071:615.331:619:616.34:636.4

Лукашук Б. О., аспірант (E-mail: lukaw4yk@gmail.com)

Слівінська Л. Г., д.вет.н., професор[©]

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Львів, Україна

ВПЛИВ ФІТОБІОТИКА НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПІДСИСНИХ ПОРОСЯТ ТА ЇХ ЗБЕРЕЖЕНІСТЬ ЗА НЕЗАРАЗНИХ ХВОРОБ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ

У статті представлені результати впливу фітобіотика ЕКСТРАКТ™ 6930 в складі основного раціону підсисних поросят на їх гематологічні показники та його профілактична ефективність за незаразних хвороб шлунково-кишкового тракту.

Встановлено, що застосування ЕКСТРАКТ™ 6930 поросятм дослідної групи сприяло збільшенню кількості еритроцитів, концентрації гемоглобіну та величини гематокриту, а також лейкоцитів в крові, значення яких були вірогідно вищими порівняно з показниками поросят контрольної групи.

Використання ЕКСТРАКТ™ 6930 поросятм дослідної групи знизило відсоток їх захворюваності і загибелі від хвороб шлунково-кишкового тракту незаразної етіології, а отже підвищило їх збереженість в підсисний період.