

ництва продукції птахівництва і збереження її якісних показників при переробці, зберіганні та реалізації.

Список літератури

1. Микробиологические и вирусологические методы исследования в ветеринарной медицине: справочное пособие. / [А.Н. Головкин, В.А. Ушкалов, В.Г. Скрыпник и др.] — Х.: «НТМТ», 2007. — С. 472 — 475. 2. Методика визначення бактеріостатичної та бактерицидної концентрації антибактеріальних препаратів методом серійних розведень // Методичні рекомендації. Затв. Науково-методичною радою Державного департаменту ветеринарної медицини України, 2003 — 6 с. 3. Ільченко, А.В. Офіційна хроніка / А.В. Ільченко // Ветеринарна медицина України. — 2009. — № 11. — С. 9 — 16. 4. Морозова, Н.С. Поход к обоснованию выбора средств для дезинфекции в лечебно-профилактических учреждениях и тактика их применения / Н.С. Морозова, Г.И. Карманова, С.В. Коржаневский // Вестник ассоциации. — 2002. — №2. — С. 32-33. 5. Avrain L. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers / L. Avrain, F. Humbert, R. L'Hospitalier, P. Sanders // Brit. Poultry Science. — 2001. — Vol. 42, № 3. — P. 32–33. 6. Sigrid, R. Antimicrobial resistance among *Campylobacter jejuni* isolated from raw poultry meat at retail level in Denmark / S.R. Andersen, P. Saadbye, N.M. Shukri [and all] // International Journal of Food Microbiology. — 2006. — Vol. 107, № 3. — P. 250-255.

SENSITIVENESS OF MICROORGANISMS OF CAMPYLOBACTER SPP. TO DISINFECTANT

Kasyanenko O.I, Fotina T.I.
Sumy National Agrarian University

With the purpose of development of sanitary-hygienical measures in relation to the decline of microbial contamination of carcasses of poultry and maintenance of their high-quality indexes in the technological processes of production, processing, storage and realization of products of the poultry farming it was conducted determination of bactericidal concentration of disinfectant BROVADEZ-PLUS and VitOx — 1000 in relation to Campylobacter of jejuni isolated from poultry meats.

УДК 619:618.19 :636

ВИВЧЕННЯ ТА АНАЛІЗУВАННЯ НЕБЕЗПЕЧНИХ ЧИННИКІВ ЩОДО ВИНИКНЕННЯ МАСТИТУ В КОРІВ НА МОЛОЧНИХ ФЕРМАХ

Касянчук В., Скляр О., Іванникова О.
Сумський національний аграрний університет

Марченко А.

Об'єднання ветеринарної медицини, м. Київ

Проаналізовано наступні небезпечні чинники, які сприяють виникненню та особливостям перебігу маститу корів: порушення природної стійкості вимені, що пов'язано з особливостями його морфологічної будови; клітинний захист та адгезивні, цитотоксичні властивості патогенних мікроорганізмів та особливості їх взаємодії з клітинами молочної залози. Аналіз електронно-мікроскопічних досліджень клітин вимені корів при запальних процесах свідчить про те, що у патогенезі стафілококового маститу небезпечними чинниками є токсигенні, адгезивні властивості золотистого стафілококу та невисока маститорезистентність тканин вимені.

У зв'язку зі швидким темпом удосконалення методів управління якістю та безпечністю при виробництві продукції тваринництва та розвитком фермерських господарств, що виробляють молоко, все більшого значення набуває вивчення біологічних особливостей організму корів з метою підвищення резистентності їх організму до захворювань, і, в тому числі, до такого широкорозповсюдженого захворювання як мастит. Актуальним є вивчення таких факторів ризику щодо виникнення маститу в корів, як відхилення від оптимальних критеріїв певних параметрів в будові молочної залози. У даний час, у вчених не викликає сумнівів той факт, що здоров'я молочної залози корів значною мірою залежить від багатьох генетичних та фізіологічних показників їх організму. Загальновідомо, що корови різних порід у аналогічних умовах можуть бути стійкими або чутливими до певної інфекції, тобто окремі тварини при контакті зі збудником хворіють, а інші – залишаються здоровими. Експериментальними дослідженнями на молочних коровах різних порід доведено, що при однаковій годівлі та при аналогічних умовах утримування, та доїння, окремі тварини являються стійкими до маститу. У стійких до захворювання маститом молочних залозах корів, з їх суміжних четвертей різниця удою не перевищує 1-3 % (максимум 8 %), а у чвертях, що менш стійкі до цього захворювання – відповідно 5-6 % (максимально 16 %) [1, 2].

Показник рівномірності четвертей вимені став об'єктом досліджень науковців ще й тому, що він має зв'язок з такими важливими господарськими ознаками корів, як швидкість молоковіддачі та молочна продуктивність. У рівномірно розвинених чвертях вимені відмічається високий титр лізоциму та добре розвинена лактопероксидазна система молока. В той же час, в таких корів в секреті вимені налічується невелика кількість соматичних клітин (у межах фізіологічної норми), в тому числі, лейкоцитів. Дослідниками була визначена відємна кореляція між наявністю в біків такої властивості, як передача дочкам маститорезистентності та кількістю соматичних клітин в 1см³ секрету вим'я здорових корів-дочок. Тобто в дочок від біків, які мали гени спадковості щодо стійкості до маститу, кількість соматичних клітин в молоці була нижчою, ніж в дочок від біків з невисокими показниками щодо передачі генів маститорезистентності. Взаємодія таких природніх захисних факторів, як активність лізоциму, лактопероксидазної системи та оптимальна кількість соматичних клітин, створює активно виражену захисну функцію вимені корів проти дії несприятливих зовнішніх та внутрішніх чинників. Важливим є також те, що ці особливості організму корів можна коригувати в сторону їх покращення шляхом селекційних заходів. Цим заходам в країнах з розвиненим молочним сектором надається велика увага. [1, 2, 3, 7, 8].

Більшість дослідників вважають, що проведення для селекційних цілей візуальної оцінки екстер'єру вимені корів, може бути діагностичним критерієм при оцінки їх на маститорезистентність. Однією з причин більш частого ураження маститом корів з нерівномірно розвиненими чвертями є те що вони більш уразливі щодо утворення мікротравм тканин молочної залози при машинному доїнні. Мікротравми є пусковим

механізмом для розвитку патогенних мікроорганізмів у молочній залозі корів та виникнення запального процесу.

Серед патогенних мікроорганізмів, які спричиняють виникнення маститу в корів найбільше значення мають *Staphylococcus aureus* [4, 5, 6]. Більш широке розповсюдження стафілококових інфекцій пояснюється стійкістю до стафілококів до більшості антибіотиків, а також низька резистентність тканин вимені корів до цих мікроорганізмів..

У патогенезі стафілококового маститу важливу роль відіграють соматичні клітини, лейкоцити та лімфоцити. У зв'язку з цим, кількісний та якісний склад соматичних клітин вважаються важливими критеріями, що входять до програми керування маститом корів. Відмічено, що властивості соматичних клітин корів різних биків можуть по різному взаємодіяти з клітинами такого збудника маститу, як *S. aureus*. Визначено також те, що корови певних биків мають соматичні клітини, які більш активно реагують на присутність *S. aureus* у молочній залозі та протистоять цитотоксичним та інвазивним властивостям цих мікроорганізмів [5, 7, 8, 9].

Епітеліальні клітини альвеол молочної залози, (лактоцити) — природний еволюційний бар'єр між організмом та зовнішнім середовищем, вони постійно піддаються дії пошкоджуючих факторів: негативна дія вакууму доїльних апаратів, травми, охолодження тощо. Оскільки розвиток патологічного процесу залежить від ряду умов, основним з яких являється механізм взаємодії збудника маститу на тканини молочної залози, а також особливості його локалізації: у глибині клітини або на її мембрані. Вивчення клітинних мембран у теперішній час являється об'єктом всебічного вивчення, оскільки від стану структурної цілісності біомембран залежить початок захворювання. Вивчення ультраструктурних змін клітин молочної залози під дією мікроорганізмів також потрібне для отримання даних щодо патогенезу захворювання. Особливо важливе патогенетичне значення в цьому процесі має розуміння поведінки патогенної мікрофлори та реакції клітин молочної залози корів. Лактоцити та лейкоцити молочної залози безпосередньо контактують з патогенними мікроорганізмами, від стану їх мембрани і субклітинних структур залежить перебіг запального процесу. Отже, виникнення маститу в корів, в більшості випадків залежить від природніх захисних властивостей їх організму і, особливо, молочної залози. Механізм захисних функцій молочної залози корів ще до кінця не розкрито, але для вдосконалення заходів боротьби з маститом необхідно розуміти його особливості [8, 9].

У наведеному огляді акцентовано увагу на природні чинники організму корів, що сприяють розвитку патогенних мікроорганізмів у вимені корів та виникненню маститу : нерівномірно розвинені чверті вим'я, недостатня активність клітинного захисту вимені, що представлено функціями соматичних клітин в тому числі і епітеліальних. Від стану природніх захисних бар'єрів молочної залози корів залежить активність прояву патогенних властивостей збудників маститу.

Метою наших досліджень було вивчення особливостей клітинного захисту молочної залози корів щодо впливу такого небезпечного чинника, як патогенний стафілокок при маститі корів.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження проводили на молочних фермах та м'ясокомбінатах на коровах, які систематично досліджувались на мастит та за різних причин були вибраковані для забою. Проводили комплекс досліджень: клінічні дослідження вим'я корів з використанням діагностичного мастидинового тесту, мікробіологічних та цитологічних досліджень секрету вим'я корів, електронної мікроскопії. Для дослід підбирали корів з рівномірним розвитком чертей молочної залози, в яких діагностували субклінічний мастит та серозний мастит. Також в дослід брали корів, у яких чверті вим'я мали асиметричну форму, та таких, в яких часто спостерігали прояви маститу. Після забою тварин відбирали шматочки секреторної тканини молочної залози в посуд Дьюара з рідким азотом. Для досліджень підбирали проби тканин вим'я корів, де лабораторними дослідженнями був підтверджений стафілококовий мастит, для контролю брали проби тканин з неуражених чвертей. Проби фіксували в розчині глутаральдегіду на колідіновому буфері, промивали дистильованою водою, зневоднювали в етанолі та заливали в аралдит. Для ультраскопії зрізи готували на ультратомі ЛКВ-111 та вивчали їх в електронному мікроскопі Тесла Бс-500. Об'єктом електронно-мікроскопічних досліджень були лактоцити — епітеліальні секреторні клітини молочної залози корів та лейкоцити.

Результати досліджень. При вивченні дії такого небезпечного чинника, як золотистий стафілокок, на клітини молочної залози, проведено ультраструктурний аналіз взаємодії лактоцитів та лейкоцитів з цим збудником маститу.

У неуражених чвертях вимені, а також у пробах тканин вимені від корів, що мали рівномірно розвинене вим'я, форма епітеліальних клітин (лактоцити) була подібна до прямокутної. Апікальна плазматична мембрана лактоцитів мала велику кількість мікрворсинок (Рис 1)

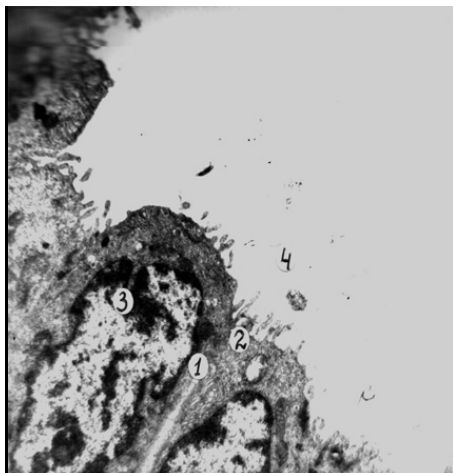


Рис 1. Електронограма лактоцитів у нормі.

У період лактації в епітеліальних клітинах молочної залози здорових корів були добре розвинуті всі органи, що відповідають за синтез та екструзію молока.

Ядра клітин мали рівні контури, рівномірно заповнені дрібно зернистим хроматином, у каріолеммі добре помітні пори. Апікальна плазмалема епітеліальних клітин була вкрита багато численними мікро ворсинками (до 25 шт. на зрізі клітини), призначення яких збільшувати секреторну поверхню клітини (Рис 1).

У більшості випадків, при гострому перебігу субклінічного та серозного маститу в маститорезистентних корів, електронікроскопічними дослідженнями ми не виявили золотистий стафілокок у досліджуваних клітинах молочної залози, але характерною була реакція з боку лактоцитів, яка проявлялася тим, що на їх апікальній поверхні відбувались зміни мікроросинок плазматичної мембрани: зменшувалась їх довжина та кількість, в окремих місцях на апікальній поверхні мікроросинки повністю були відсутні, а деякі з них набували незвичної форми, з'являлося багато мікропіноцитозних бульбашок, утворених за участю плазматичної мембрани (рис.2). Окремі лактоцити утворювали дуже збільшені мікроросинки, які містили цитоплазматичні органи, їх розміри сягали 3-5 мікрон. Такі мікроросинки, в деяких випадках, відокремлювалися від клітини. Даний процес класифікується як аутоампутація і характеризується утворенням цитоплазматичних виростів. Мікроросинки відокремлюються як частина цитоплазми лактоциту, проявляючи відповідну захисну реакцію на вплив патогенного агенту — золотистого стафілококу.

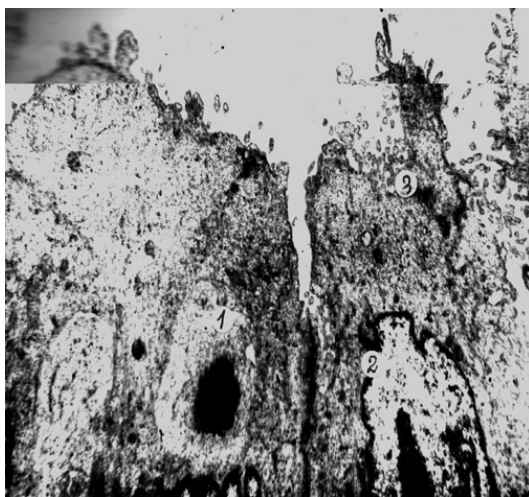


Рис 2. Лактоцити при гострому серозному маститі. Апікальна поверхня лактоциту зі зміненими мікроросинками плазматичної мембрани. 1 — осередкові некрози цитоплазми; 2 — ядро; 3 — вирости апікальної плазмалеми лактоциту.

Нами було відмічено, що у корів, які протягом лактації хворіли на мастит більше 3-х разів, частіше спостерігалися випадки безпосереднього наближення патогенних стафілококів до їх поверхні (рис.3). Зазначені реакції в меншій мірі проявлялися з боку лактоцитів молочної залози корів з більшою стійкістю до маститу.

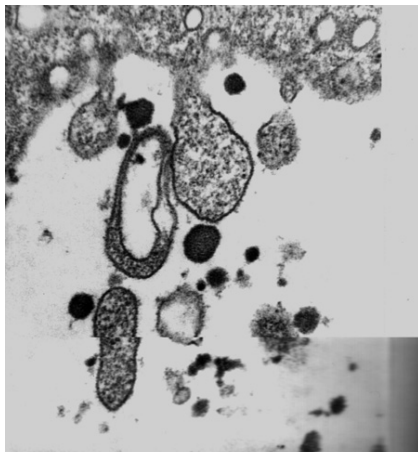


Рис 3. Електронограма апікальної частини лактоциту в стані наближення стафілококів до їх поверхні.

Крім вищезазначених ультраструктурних змін, нами виявлені стафілококи у безпосередньому контакті з лактоцитами. У ділянках контакту стафілококів з лактоцитами на апікальній поверхні останніх виявлені ділянки без ворсинок та процес адгезії цих мікроорганізмів (рис.4). В окремих лактоцитах виявлено внутрішньоклітинні скупчення стафілококів — кластерні утворення. Іноді стафілококи розташовувалися в освітлених зонах цитоплазми у вигляді овальних тіл, замкнених у одно-контурну мембрану.

На внутріклітинну локалізацію стафілококів лактоцити, у більшості випадків, відповідали утворенням мембран, за допомогою яких відбувалося відмежовування збудників від ядра та решти частини цитоплазми.

У цитоплазмі лактоцитів стафілококи локалізувалися без будь-якої чіткої орієнтації. Органели, що локалізувались біля них, в окремих випадках, не мали ознак деструкції, а в інших клітинах — у цитоплазмі, біля мікроорганізмів утворювалась просвітлена зона та з'являлися вакуолі. Крім того, в лактоцитах відмічали появу гігантських мітохондрій з вакуолізацією та деструкцією крист. Отримані нами результати електронномікроскопічних досліджень, що були поєднані з клінічними, мікробіологічними та цитологічними, дозволяють зробити висновки про те, що дія стафілококів на лактоцити при запальному процесі у вимені корів проявляється андегезивними та цитотоксичними їх властивостями. Аналіз комплексу досліджень реакцій тканин вимені на контамінацію

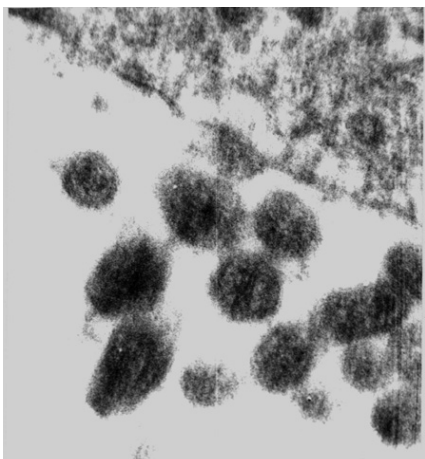


Рис 4. Адгезія стафілококів до плазмолемі лактоциту

патогенними стафілококами з різною стійкістю корів до маститу показує, що у патогенезі стафілококового маститу важливу роль відіграють як захисні функції організму корів в цілому, так і вимені зокрема. Відмічено, що в корів з оптимальною кількістю соматичних клітин у секреті вимені, мастит рееструвався значно рідше.

Висновки. 1. При вивченні захисних механізмів вимені корів, встановлено, що така властивість лактоцитів, як здатність протистояти негативному впливу патогенних стафілококів, виражається ступінню виникнення змін на їх апікальній поверхні, залежно від опірності цих клітин. Лактоцити корів являються бар'єром для подальшого проникнення мікроорганізмів у тканини вимені.

2. Захисні функції лактоцитів та лейкоцитів молочної залози в більшій мірі виявлялись у тканинах вим'я корів з вираженою маститорезистентністю.

3. Електронноскопічними дослідженнями встановлено структурні зміни при маститі корів, що характеризувалась ураженням епітеліальних клітин та проліферацією поліморфно-ядерних лейкоцитів, макрофагів, плазмочитів, лімфоцитів у інтерстиціальну тканину молочної залози та в секрет вимені.

4. У маститорезистентних корів більшість лактоцитів проявляли протидію адгезивним властивостям стафілококів. Здатність стафілококів адгезуватись до клітин епітелію молочної залози, можна розглядати як першу фазу розвитку маститу

5. Формування стада корів на молочних фермах повинно відбуватися відповідно до розробленої програми, в якій слід враховувати фактори маститорезистентності, тобто підбирати тварин, які мають високу стійкість до маститу. Корів з низькою маститорезистентністю, тобто тих, що мають значну частоту випадків виникнення клінічного маститу протягом лактації слід вилучати зі стада.

6. Визначено, що маститорезистентність корів прямо пропорційно корелює з оптимальною морфофункціональною будовою вимені та з кількістю соматичних клітин у секреті здорових корів. Розведення повинно базуватись на виведенні ліній дочок биків з невисоким рівнем соматичних клітин в секреті молочної залози

7. Одним із маркерів маститорезистентності корів є якісні та кількісні характеристики клітин вимені. Лактоцити маститорезистентних корів більшою мірою протистоять токсигенним, адгезивним властивостям золотистого стафілококу, ніж лактоцити корів з невисокою маститорезистентністю.

Список літератури

1. Касянчук, В., Іваннікова, О., Марченко, А. Визначення субклінічного маститу в корів з використанням морфофункціональних показників вимені та мтемаітичного моделювання // Тваринництво України. -2009.—№9. — С.24-27. 2. Касянчук, В.В., Бергілевич, О.М., Кухтін М.Д. / Оцінка мікробіологічного ризику в молоці та молочних продуктах щодо золотистого стафілококу.IV Міжнародна науково практична конференція «Актуальні питання гігієни харчування та безпечності харчових продуктів» 25-26 жовтня 2006року Інститут екогігієни та токсикології ім. Л.І. Медведя. — Київ 2006. С.39-40. 3. Лотоцький, В. В. Харута, В. Г. Порівняльна оцінка сучасних методів діагностики субклінічного маститу у корів.// Аграрні вісті. — 2003. — С. 13-16. 4. Михайлецька, О.З. Субклінічний мастит корів (етіологія, патогенез, методи діагностики і профілактики): Автореф.дис. ...канд.вет.наук. — Львів, 2002 — 17 с. 5. Andersen HJ, Pedersen LH, Aarestrup FM et al. Evaluation of the surveillance programme of Streptococcus agalactiae in Danish dairy herds. //J Dairy Sci. -2003.-86(4), P.1233-1239. 6. Baba T, Bae T, Schneewind O. et al. Genome sequence of Staphylococcus aureus strain Newman and comparative analysis of staphylococcal genomes: polymorphism and evolution of two major pathogenicity islands.//J Bacteriol.2008.- 190(1).-P. 300-310. 7. De Haas Y, Veerkamp R.F., Barkema H.W., Gröhn Y.T., Schukken Y.H. — Associations Between Pathogen-Specific Cases of Clinical Mastitis and Somatic Cell Count Patterns. J.Dairy Sci. 2004, 87: 95-105. 8. Fitzpatrick J.L. - Milk somatic cells — what do they do? Proceedings of British Mastitis Conference, Garstang, 2001, p 56-62. 9. J. Anim. Breeding and Genetics: Breeding for Milk Quality and Test-Day Model Applications 2008 Vol. 86, E-Suppl. 2/J. Dairy Sci. Vol. 91, E-Suppl. 1.

STUDY AND ANALYSIS OF DANGEROUS FACTORS AT THE ARISING OF MASTITIS IN COWS ON DAIRY FARMS

Kasyanchuk V., Sklyar O., Ivannikova O.
Sumy National Agrarian University

Marchenko A.
Association of Veterinary Medicine, Kiev

Analysed following hazarades, which promote to origin and particularity of the current mastitis of cows: breaches natural resistant udder that is bound by particularity its morphological construction; adhesive and citotoxic characteristic pathogenic microorganism and particularities and their interactions with hutch of the mammary gland caws. The analysis of electronic-microscopic studies of the cells of the udder caws under inflammatory process will show, that in pathogenesis of staphylococcus mastitis hazarades are toxical, adhesive characteristic of the Staphylococcus and low mastitoresistant characteristic of the udder.