Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ПЕРКІЙ ЮРІЙ БОГДАНОВИЧ**

**УДК 613.287:579.62**

**РОЛЬ БАКТЕРІЙ ГРУПИ КИШКОВИХ**

**ПАЛИЧОК У САНІТАРІЇ МОЛОКА**

**16.00.06 – гігієна тварин та ветеринарна санітарія**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**кандидата ветеринарних наук**

**Київ – 2007**

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті ветеринарної медицини Української академії аграрних наук

**Науковий керівник −** кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник **Крижанівський Ярослав Йосипович,** Тернопільська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини УААН, завідувач лабораторії ветеринарної гігієни та санітарії молока

**Офіційні опоненти**: доктор ветеринарних наук, професор **Демчук Михайло Васильович,** Львівська національна академія ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького, професор кафедри гігієни тварин

доктор ветеринарних наук, доцент **Яблонська Оксана Валентинівна,** Національний аграрний університет, професор кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології

Захист дисертації відбудеться “\_\_\_” \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2007р. о \_\_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.12 у Національному аграрному університеті за адресою: 03041, м. Київ-41, вул. Героїв Оборони, 15, навчальний корпус № 3, аудиторія № 65

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного аграрного університету за адресою: 03041, м. Київ-41, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, к. 28

Автореферат розісланий “\_\_\_\_” \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2007 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Л.В. Шевченко

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Однією з важливих передумов виходу вітчизняної молочної продукції на ринки Західної Європи є досягнення рівня її якості та безпеки до вимог стандартів Європейського Союзу. Це надзвичайно важливе та відповідальне завдання, адже проблема безпеки молочних продуктів є не вирішеною. За даними ВООЗ, за рівнем забруднення мікроорганізмами і частотою випадків харчових отруєнь, молоко і молочні продукти належать до першої категорії ризику. Виробництво якісних та безпечних молочних продуктів неможливе без наявності якісного та безпечного сирого молока (Бурыкина Г.В. и др., 2003).

Одним із важливих показників дотримання санітарних умов при одержанні молока та його безпеки є присутність у ньому бактерій групи кишкових паличок (БГКП) (Банникова Л.А. и др., 1990; Якубчак О.М., 1995, 2002; Хоменко В.І., 2000). Титр БГКП широко використовується для оцінки ефективності санобробки доїльного обладнання (Оксамитний М.К., 1988; Загаєвський Й.С., 2000; Даниленко І.П., 2000; Карташова В.М., 2005) та при визначенні рівня безпеки сирого молока (Кравців Р.Й., 1998, 2004; Крижанівський Я.Й., 2004; Касянчук В.В., 2005).

Порушення санітарно-гігієнічних норм і правил виробництва молока та захворювання корів на мастит призводять не тільки до зменшення харчової цінності, а й до підвищення його небезпечності для здоров’я людей, особливо дітей. Тому актуальною залишається розробка нових препаратів для санації шкіри вимені корів, які б забезпечували підтримання фізіологічного стану молочної залози, одержання безпечного молока, що відповідає новим вимогам екологічної безпеки.

У той же час залишається недостатньо вивченим поширення БГКП на молочних фермах, що не сприяє науковому обґрунтуванню санітарного значення цієї групи мікроорганізмів за різних умов одержання молока і його первинної обробки, зокрема температури охолодження та часу тимчасового зберігання на фермах.

Все це зумовило виникнення важливої комплексної проблемної ситуації, без розв’язання якої зусилля щодо підвищення безпеки сирого молока до рівня вимог міжнародних стандартів втрачають перспективу.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є частиною наукової тематики лабораторії ветеринарної гігієни та санітарії молока Тернопільської дослідної станції Інституту ветеринарної медицини УААН „Розробити систему санітарно-гігієнічних та протимаститних заходів, які забезпечать одержання молока високої санітарної якості” (номер державної реєстрації 0101U002305). Термін виконання 2001–2005 рр.

**Мета і задачі досліджень.** Мета дисертаційної роботи – встановити норматив титру БГКП у свіжонадоєному молоці, як одного із показників його санітарної безпеки та визначити рівень титру БГКП для оцінки ефективності санобробки доїльних апаратів, молочного посуду і охолодження молока; розробити засоби для підвищення безпеки молока.

Для досягнення поставленої мети необхідно було розв’язати такі задачі:

– вивчити поширення БГКП, зокрема бактерій роду Escherichia, в середовищі тваринницьких приміщень;

– вивчити надходження в молоко БГКП, зокрема ешерихій, при маститі коліформної етіології;

– вивчити рівень санітарної показовості БГКП при визначенні безпеки молока охолодженого;

– удосконалити існуючі та розробити нові засоби індикації БГКП;

– розробити засоби підвищення неспецифічної резистентності шкіри дійок вимені корів.

*Об’єкт дослідження* –свіжонадоєне та збірне молоко, секрет вимені корів, хворих на мастит, змиви зі шкіри вимені корів та доїльного обладнання, корми, підстилка, вода, повітря корівників, поживні середовища, експериментальні препарати для санації шкіри вимені корів.

*Предмет дослідження –* загальне бактеріальне обсіменіння (ЗБО), БГКП, рН препаратів для санації шкіри вимені, їх стабільність та протимікробна дія.

*Методи дослідження* ­*–* зоогігієнічні, мікробіологічні, фізико-хімічні, токсикологічні та біометричні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше показано, що БГКП, зокрема ешерихії, належать до транзитної групи мікрофлори шкіри вимені корів та молочної залози, а значення титру БГКП змивів зі шкіри >1,0 є показником ефективності переддоїльної санобробки шкіри вимені корів.

Експериментально доведено, що застосування рідких селективних середовищ типу КОДА для дослідження асептично надоєного молока з метою виділення ешерихій, як збудників маститу, призводить до одержання необ’єктивних результатів. Показано, що в окремих випадках мастити стрептококової та змішаної етіології (стрептококи, стафілококи) можуть супроводжуватися невеликою кількістю ешерихій, які знаходяться в молочній залозі як транзитна мікрофлора.

Встановлено, що бактерії роду Escherichia при охолодженні молока до 6 – 1 0С поступово гинуть, а бактерії родів Citrobacter та Enterobacter зберігають здатність розмножуватися. Титр БГКП молока охолодженого до 6 0С після добового його зберігання втрачає свою санітарну показовість. Науково обґрунтовано, що титр БГКП свіжонадоєного збірного молока ≥1,0 є показником належних санітарних умов його одержання, за яких мікробне число молока не перевищує 60 тис. бактерій.

Виходячи з популяційно-екологічної концепції, вперше сформульовано вимоги до препаратів для профілактики та лікування сухості, тріщин та ран шкіри дійок вимені корів. Наукова новизна одержаних експериментальних даних за темою дисертаційної роботи підтверджена двома деклараційними патентами України на винахід.

**Практичне значення одержаних результатів.** Визначено ветеринарно-санітарний норматив титру БГКП збірного свіжонадоєного сирого молока, який становить ≥1,0 і є показником належного дотримання санітарно-гігієнічних вимог при його одержанні. Запропоновано вважати титр БГКП змивів зі шкіри дійок >1,0 показником ефективної переддоїльної санобробки вимені корів.

Розроблено новий препарат зовнішнього застосування для санації шкіри дійок “Крем для вимені” (ТУ У 24.4–14041043–001:2005). Застосування цього крему забезпечує підтримання шкіри дійок вимені корів у доброму фізіологічному стані та сприяє одержанню безпечного молока.

Розроблено нове живильне селективно-діагностичне середовище “СДК” для індикації бактерій групи кишкових паличок (ТУ У 24.4–14041043–002:2005), яке дозволяє більш ефективно оцінювати безпеку сирого молока, ефективність санітарної обробки шкіри вимені корів та доїльного обладнання.

Результати експериментальних досліджень використані при написанні рекомендацій: “Система управління якістю та безпекою молока сирого на основі аналізу ризиків у критичних точках контролю” та “Рекомендацій з діагностики, лікування і профілактики маститів у корів”.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачсамостійно провів пошук, огляд та аналіз фахової літератури, опрацював робочі схеми, практично використав усі описані в роботі методики та провів експериментальні дослідження. За участю наукового керівника провів аналіз одержаних результатів, опублікував наукові статті. Здобувач самостійно виконав весь обсяг методичних та експериментальних робіт з виявлення належності БГКП до певної групи мікробіоценозу молочної залози та шкіри вимені корів; поширення БГКП у тваринницьких приміщеннях; визначив основні джерела контамінації БГКП сирого молока. Разом із науковими співробітниками Тернопільської дослідної станції Інституту ветеринарної медицини брав участь у розробці нового середовища “СДК” та препарату “Крем для вимені”.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати досліджень доповідались на: Міжнародній науково-практичній конференції “Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономіка лікарських засобів та біологічно-активних добавок” (Тернопіль, 2004); Міжнародних науково-практичних конференціях молодих вчених та спеціалістів „Молоді вчені у вирішенні проблем аграрної науки і практики” (Львів, 2005, 2006); Міжнародній науковій конференції „Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування” (Львів, 2005); Міжнародній науково-практичній конференції “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів” (Тернопіль, 2006); нараді-семінарі “Організація проведення державного ветеринарного нагляду та контролю за діяльністю суб’єктів господарювання щодо отримання, переробки, зберігання, транспортування й реалізації молока і молочної продукції” (Тернопіль, 2004).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано10 наукових праць у фахових виданнях, затверджених ВАК України, 3 праці − у матеріалах конференцій, отримано два деклараційні патенти на корисну модель та технічні умови України на селективно-діагностичне середовище для індикації бактерій групи кишкових паличок “СДК” і на препарат “Крем для вимені”.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 157 сторінках комп’ютерного тексту, ілюстрована 29 таблицями, 11 рисунками і складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаної літератури, який включає 299 джерел, з яких 58 – зарубіжних авторів та 8 додатків.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Робота виконана в лабораторії ветеринарної гігієни та санітарії молока (дозвіл на роботу із збудниками ІІ–IV груп патогенності від 9.07. 2003р.) Тернопільської дослідної станції Інституту ветеринарної медицини УААН (атестат акредитації № РX–158/03, чинний до 4 вересня 2006 року). Дослідження проведені на фермах з екстенсивною технологією виробництва молока, стійлово-пасовищною системою утримання корів, машинним доїнням у переносні доїльні апарати та різними санітарно-гігієнічними умовами одержання молока.

Основним напрямком досліджень було визначити норматив титру БГКП у свіжонадоєному молоці, як одного із показників його безпеки та удосконалити існуючі засоби для їх контролю; визначити рівень санітарної показовості титру БГКП для оцінки ефективності санобробки доїльних апаратів, молочного посуду і охолодження молока; розробити нові препарати для профілактики і лікування сухості, тріщин, ран шкіри дійок вимені корів та підвищення санітарної безпеки молока.

Відбір проб молока, секрету молочної залози при маститах, змивів зі шкіри вимені корів, з молочного обладнання і посуду, з об’єктів корівника, доставку їх у лабораторію та мікробіологічний аналіз проводили, згідно з ГОСТ 9225–84, ГОСТ 303417–97, ГОСТ 10444.15–94, ДСТУ IDF 122С:2003, ДСТУ IDF 100В:2003.

При дослідженні БГКП дотримувались такої схеми:

1) виділення і визначення належності штамів грам-негативних паличок до родини Enterobacteriaceae шляхом проведення мікроскопії і визначення наявності цитохромоксидази (загальноприйнятим методом);

2) належність цитохромоксидазонегативних штамів грам-негативних паличок до родів Escherichia, Citrobacter, Enterobacter та Klebsiella визначали за допомогою комплексу ознак (ЛІМАЦ) та додаткових тестів на рухливість, здатність утворювати сірководень, ферментувати адоніт, продукувати ацетоїн;

3) видову диференціацію бактерій родів Escherichia, Citrobacter, Enterobacter та Klebsiella проводили за їх здатністю ферментувати та окиснювати вуглеводи, керуючись рекомендаціями визначника бактерій Берджі (1997 р.).

Проби кормів (сіно, сінаж, зелена маса різнотрав’я) та підстилки (солома) відбирали в кількості 5–10 г у стерильні поліетиленові пакети. У лабораторії їх подрібнювали і робили наважки в кількості 1 г, які поміщали в стерильну колбу з 10 см3 ізотонічного розчину. Протягом 30 хв вміст колби струшували, після чого висівали на живильні середовища. Бактеріологічні дослідження води, повітря та конструкцій у приміщеннях проводили згідно з загальноприйнятими методами.

Бактерицидну дію антисептиків та приготовлених на їх основі експериментальних препаратів для санації шкіри вимені корів визначали лунковим методом з використанням тест-культур S. аureus та E. coli. рН 10 % розчинів експериментальних препаратів, термостабільність і колоїдну їх стабільність визначали згідно з ГОСТ 29.188.3–91 ”Изделия косметические”, токсикологічні дослідження “Крему для вимені” проводили на білих лабораторних мишах, клінічні дослідження препарату проводили шляхом аплікації на шкіру дійок вимені здорових і хворих на субклінічний мастит корів та при наявності на них ран, тріщин і сухості.

Для виявлення джерел надходжень у молоко БГКП досліджено 122 змиви зі шкіри дійок вимені корів, 160 – з доїльного обладнання та молочного посуду, 53 проби грубих кормів, 22 проби фекалій корів, 48 проб повітря корівників та 47 проб водопровідної води. При вивченні мікрофлори молока у процесі його одержання досліджено 279 проб асептично надоєного молока. Проведено ідентифікацію 1210 культур грам-негативних паличок, у тому числі бактерій групи кишкових паличок – 613.

Проводячи порівняння рідких та щільних середовищ для виділення БГКП, як збудників маститу, досліджено 90 проб секрету від хворих на мастит корів. При розробці нового селективно-діагностичного середовища для індикації бактерій групи кишкових паличок досліджено 456 змивів з доїльного обладнання та 486 проб збірного молока.

Отримані результати досліджень оброблені біометрично за методикою, описаною П.Ф. Рокіцьким (1973 р.), з використанням комп’ютера AMD Athlon 2,0 GHz. Різницю вважали вірогідною при Р≤0,05, Р≤0,01 та Р≤0,001.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

**Поширення БГКП у середовищі корівника**

У результаті досліджень (табл. 1) виявлено, що БГКП становили незначний відсоток у загальній кількості мікроорганізмів, виділених з об’єктів корівника – від 0,004±0,001 до 3,67±0,614 %. Винятком є такі об’єкти, як годівниці, де кількість БГКП досягала 16,80±2,318 %.

**Таблиця 1**

**Рівень обсіменіння БГКП об’єктів корівника та кормів, М±m, n=318**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Об’єкт дослідження | Кількість мікроорганізмів | | | Роди БГКП, % | | | |
| загальна кількість, тис./см3,  тис./г | БГКП | | Escherichia | Citrobacter | Enterobacter | Klebsiella |
| тис./см3,  тис./г | % |
| Шкіра рук операторів машинного доїння | 14,3±2,49 | 0 | 0 | – | – | – | – |
| Вода | 68,3±  12,16 | 0 | 0 | – | – | – | – |
| Повітря, м3 | 101,0±  16,32 | 3,2±0,63 | 3,17±  0,721 | 4,1±  0,65 | 6,3±  1,13 | 89,6±8,65 | – |
| Сіно | 260,5±  40,11 | 0,6±0,10 | 0,23±  0,052 | 16,2±1,52 | 22,4±4,62 | 61,4±  6,72 | – |
| Солома | 180,0±  30,25 | 0,1±0,02 | 0,05±  0,013 | 25,0±3,48 | 9,4±  1,48 | 65,6±  8,27 | – |
| Сінаж | 360,0±  20,58 | 1,4±0,38 | 0,39±  0,082 | 8,7±  1,51 | 21,7±  4,31 | 69,6±  14,12 | – |
| Зелена маса різнотрав’я | 18620,6±  2100,26 | 0,8±0,20 | 0,004±  0,001 | 40,6±7,16 | 14,1±2,63 | 40,6±  8,28 | 4,7±  0,53 |
| Фекалії корів | 90,0±  13,44 | 3,3±0,64 | 3,67±  0,614 | 81,4±13,36 | 13,5±1,85 | 3,4±  0,41 | 1,7±  0,36 |
| Стіна | 3120,7±  231,11 | 0,6±0,17 | 0,02±  0,004 | 50,0±8,92 | 16,7±2,82 | 33,3±  3,69 | – |
| Підлога | 3700,0±  180,07 | 9,5±1,32 | 0,25±  0,023 | 88,3±9,33 | 3,2±  0,42 | 7,4±  1,35 | 1,1±  0,24 |
| Годівниця | 250,0±  26,92 | 42,0±  5,47 | 16,80±  2,318 | 11,6±2,21 | 11,2±1,91 | 52,4±  8,43 | 24,8  ±5,82 |

Шкіра рук операторів машинного доїння, за умови дотримання елементарних умов гігієни, та вода, яка подається на ферми з артезіанських свердловин централізованим методом, не є джерелом надходження БГКП у молоко.

У складі БГКП, виділених з грубих та зелених кормів, кількість ешерихії становила від 16,2±1,52 до 40,6±7,16 %. У зовнішнє середовище з фекаліями корів надходять, в основному, бактерії родів Escherichia та Citrobacter, в меншій кількості – бактерії родів Enterobacter та Klebsiella.

Встановлено, що рід Escherichia у мікробіоценозі корівника представлений двома видами: E. coli та E. vulneris, які виділяються з кишечника великої рогатої худоби у співвідношенні 80,0±8,65 та 20,0±3,43 % відповідно. Характерною особливістю є те, що E. vulneris виділялася з усіх об’єктів середовища корівника, тоді як E. coli – з фекалій та забруднених ними об’єктів. Очевидно, бактерії E. vulneris краще зберігають життєздатність в умовах середовища корівника.

Рід Enterobacter посідав у складі БГКП, виділених з об’єктів корівника, значне місце. Так, Enterobacter у складі БГКП повітря приміщень становив 89,6±8,65 %, грубих і соковитих кормів – від 40,6±8,28 до 69,6±14,12 %. На об’єктах, тісно пов’язаних з кормами (годівниці), рід Enterobacter становив 52,4±8,43 % від загальної кількості родів БГКП. Це пояснюється, очевидно, більшою їх стійкістю до зовнішніх впливів.

Із роду Citrobacter на внутрішньому обладнанні приміщення, повітрі, кормах найбільше поширений вид C. freundii, який становив 16,7±2,81 – 22,4±4,63 % від загальної кількості БГКП; з роду Enterobacter – E. agglomerans до 43,5±9,48 %, E. asburiae – до 13,0±2,42 %, E. amnigenus та E. intermedius – до 16,2±3,25 %; з роду Klebsiella поширені лише два його види – K. planticola та K. pneumoniae subsp. pneumoniae – до 3,1±0,34 %.

**БГКП у складі мікробіоценозу молочної залози корів**

При дослідженні асептично відібраних проб секрету з молочної залози здорових корів виявлено, що в пробах цистернального молока, відібраних до доїння, БГКП були відсутні, через 1 год після доїння БГКП виділялися в невеликих кількостях у 8,3±1,16 % проб секрету. Перед наступним доїнням цих же корів БГКП не виділялися. Отже, БГКП в процесі доїння можуть проникати в молочну залозу, але через декілька годин молочна залоза звільняється від цієї мікрофлори.

На молочних фермах з незадовільними санітарними умовами одержання молока (неочищені стійла, не проводилася переддоїльна санобробка вимені корів, тощо) БГКП виділялися в 2,5 раза (Р≤0,01) частіше з секрету молочної залози, взятого після доїння. У 2,4±0,33 % проб БГКП виділялися ще протягом 24 год з секрету вимені взятого перед доїнням.

Доведено, що у молочній залозі корів протягом року грам-позитивні палички становили від 21,7±3,25 до 30,0±4,86 % від всієї кількості мікроорганізмів, стафілококи – 28,3±3,19 – 45,7±6,25 %, стрептококи – 10,4±0,94 – 15,6±2,82 % та мікрококи – 14,3±1,75 – 26,3±4,34 %. Нами виявлено сезонні зміни кількості грам-позитивних паличок та стрептококів у молочній залозі. При цьому кількість грам-позитивних паличок та стафілококів у молочній залозі корів взимку та навесні була вищою у 1,3–1,6 раза (Р≤0,01), ніж влітку і восени, стрептококів та мікрококів, навпаки, влітку і восени було більше в 1,5–1,8 раза (Р≤0,01). БГКП виділялися з проб молока лише влітку та восени і становили 3,8±0,62 – 4,2±0,85 % мікрофлори молочної залози корів.

Таким чином, мікрофлора молочної залози корів в основному представлена коковими формами (стафілококи, стрептококи, мікрококи) та грам-позитивними паличками. Очевидно, їх можна вважати нормальною мікрофлорою (аутофлорою), а БГКП – транзитною мікрофлорою молочної залози корів.

**Обсіменіння БГКП шкіри вимені корів**

Встановлено, що загальна кількість мікроорганізмів на шкірі дійок вимені корів залежно від її санітарного стану коливалася від 12,7±2,34 до 8035,6±1050,63 тис. КУО/см3 змиву. Загальна кількість мікроорганізмів у 1 см3 змиву зі шкіри дійок вимені корів взимку і восени була більша, ніж навесні і влітку в 4,8 раза (Р≤0,05) та 4,6 раза (Р≤0,01) відповідно, тоді як кількість бактерій групи кишкових паличок, навпаки – влітку і навесні більша, а взимку і восени менша. Ці дані вказують на те, що в теплу пору року БГКП тривалий час знаходяться на об’єктах корівника і при контакті зі шкірою дійок вимені корів відбувається значне її обсіменіння.

Виявлено, що мікрофлора поверхневих шарів шкіри вимені корів представлена коковими формами (стафілококи, стрептококи, мікрококи) в 61,6±8,22 – 74,9±7,34 %, грам-позитивними паличками – 20,5±3,24 – 33,3±4,12 % та БГКП до 5,1±0,92 %. Із загальної кількості БГКП мікроорганізми роду Escherichia становили 57,2±5,61 %, роду Enterobacter – 25,0±3,12 %, роду Citrobacter – 10,7±2,43 % і роду Klebsiella – 7,1±1,37 %.

Виявлено, що після проведення переддоїльної санобробки вимені корів загальна кількість мікроорганізмів на шкірі вимені зменшувалася в 12,4 раза (Р≤0,001), кількість БГКП у всіх змивах була відсутня, а титр БГКП – >1,0 (табл. 2). Через 30 хв після обробки відбувалося збільшення загальної кількості мікроорганізмів в 4,6 раза (Р≤0,01), зміни кількості БГКП та їх титру не спостерігали.

**Таблиця 2**

**Загальна кількість мікроорганізмів та БГКП у змивах**

**зі шкіри вимені корів до і після обробки, М±m, n=64**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Час  взяття  змиву | ЗБО змиву,  тис./см3 | Кількість БГКП у змивах, тис./см3 | Кількість проб з титром БГКП | | | |
| >1,0 | 1,0 | 0,1 | 0,01 |
| До обробки | 98,2±13,41 | 5,2±0,74 | 39 | 18 | 4 | 3 |
| Після обробки | 7,9±0,46\*,\*\* | 0 | 64 | 0 | 0 | 0 |
| Через 30 хв  після обробки | 36,1±4,30\*,\*\* | 0 | 64 | 0 | 0 | 0 |

*Примітка: \* – Р≤0,01; \*\* – Р≤0,001 – щодо кількості бактерій до та після обробки*

Оскільки шкіра вимені корів після обробки не мала контакту з предметами зовнішнього середовища, то можна стверджувати, що збільшення кількості мікроорганізмів відбувалося внаслідок їх виходу з проток залоз шкіри вимені та розмноження наявних на ній мікроорганізмів.

Виявлено, що мікрофлора глибоких шарів шкіри вимені корів представлена коковими формами мікроорганізмів (до 56,3±7,23 %) та грам-позитивними паличками (до 43,7±4,82 %). Виходячи з того, що мікрофлора глибоких шарів шкіри колонізована лише резидентними бактеріями, можна стверджувати, що БГКП на шкірі вимені та дійок є транзитними мікроорганізмами.

Отже, переддоїльна санітарна обробка вимені корів забезпечує звільнення шкіри вимені від БГКП, як транзитних мікроорганізмів, і виключає її як потенційне джерело надходження БГКП у свіжонадоєне молоко.

Титр БГКП змивів зі шкіри дійок корів >1,0 ми пропонуємо вважати показником ефективної переддоїльної обробки вимені корів.

**БГКП як збудники маститу корів**

При обстеженні 463 корів виявлено 26 голів (5,7 %), хворих на клінічну та 127 голів (27,5 %), хворих на субклінічну форми маститу. При посіві секрету молочної залози хворих корів на МПА з 5 % крові великої рогатої худоби, середовище Ендо та середовище КОДА встановлено, що при клінічній і субклінічній формах маститу стрептококової та змішаної етіології (стрептококи та стафілококи) можуть бути випадки, коли БГКП виявляються в молочній залозі. БГКП одночасно виділяли на МПА, середовищах Ендо та КОДА, але в 6,6 % проб секрету БГКП були виділені лише на середовищі КОДА. При посіві 1 см3 молока у середовище КОДА, яке відоме своєю елективністю щодо ешерихій, відбувається розмноження навіть незначної кількості ешерихій, що і сприймається як виділення їх у якості збудників маститу.

Аналогічне явище спостерігали при дослідженні асептично надоєного цистернального молока від здорових корів, коли в молочній залозі одразу після доїння можуть бути присутні БГКП. Отже, БГКП, виділені при маститі у корів, можуть знаходитися в молочній залозі як транзитна мікрофлора. Використання рідких селективних середовищ з метою виділення збудників маститу для даних досліджень не є показовим.

У пробах секрету молочної залози хворих на мастит корів виділяли стрептококи в 43,4 % або стафілококи – 32,2 % випадках, а кількість E. сoli коливалася від 3,1 до 9,4 % від загальної кількості мікроорганізмів. У двох пробах секрету молочної залози корів (мастит субклінічний) кількість E. coli по відношенню до числа патогенних стафілококів і стрептококів досягала 40,6–46,8 %. Якщо кількість E. coli у молочній залозі хворих на мастит корів становить більше 40 %, то її можна вважати збудником маститу.

Отже, обидва випадки виникнення субклінічного маститу у корів можна вважати поліетіологічними, спричиненими S. agalactiae, S. aureus і E. coli.

**Обсіменіння молока БГКП у процесі його одержання**

Встановлено, що під час доїння у свіжонадоєне молоко 85,7±9,13 % БГКП надходило із доїльних апаратів та 14,3±3,06 % − із охолоджувача. При зберіганні молока на фермі в охолодженому стані (до 6 0С) загальна кількість мікроорганізмів збільшувалася в 1,5 раза (Р≤0,01), кількість БГКП – в 1,2 раза (Р≤0,001).

Виявлено, що родовий склад БГКП на доїльних апаратах практично ідентичний до свіжонадоєного молока корів, що свідчить про значний вплив санітарного стану доїльного обладнання на мікробне обсіменіння молока. Родовий склад БГКП, виділених із охолоджувача, характеризувався зменшенням кількості ешерихій у 6,3 раза (Р≤0,01) порівняно зі складом цієї групи бактерій на доїльних апаратах. Очевидно, температурний режим охолоджувача активно впливає не тільки на кількісну характеристику бактерій цієї групи, але і на її родовий склад.

При дослідженні змивів з доїльних апаратів та охолоджувача за різного санітарного стану виявлено, що молоко, яке за якістю відповідало мікробному нормативу (≤60 тис. КУО/см3), можна одержати тільки за рівня чистоти молочного обладнання 5 тис. КУО/см3 змиву (500 КУО/см2 поверхні обладнання).

При наявності в 1 см3 змиву з доїльного обладнання 220,5±9,72 тис. КУО, титр БГКП в 36,4±6,28 % був більшим одиниці, в 13,6 ±2,61 % – 1,0, а при наявності 102,7±2,53 тис. КУО – титр БГКП більше одиниці виявляли в 70,0±16,12 % випадків. У той же час кількість мікроорганізмів у свіжонадоєному молоці становила 99,2±3,08 – 105,0±7,34 тис./см3. За такого рівня чистоти молочного обладнання титр БГКП втрачає придатність для оцінки ефективності санобробки молочного обладнання. Очевидно, що для об’єктивної оцінки ефективності санобробки молочного обладнання в межах названих нормативів необхідно шукати інші, більш об’єктивні показники.

В той же час ефективна санобробка молочного обладнання дає можливість одержувати молоко з мінімальною кількістю мікроорганізмів та з титром БГКП більше одиниці в 88,9±11,36 % випадків. Виходячи з даних результатів досліджень, титр БГКП свіжонадоєного збірного молока ≥1,0 є показником належних санітарних умов його одержання, за яких мікробне число молока не перевищує 60 тис. КУО/см3.

**Вплив температури зберігання молока на вміст у ньому БГКП**

При дослідженні впливу різних температур зберігання на безпеку молока виявлено, що глибоке охолодження молока до 0,5 – 2 0С можна розглядати як спосіб консервування, коли при значній кількості бактерій їх розмноження не відбувається (табл. 3).

**Таблиця 3**

**Наявність мікроорганізмів у молоці при його зберіганні, КУО/см3, М±m, n=20**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показники | Час дослідження молока | | | |
| після доїння | через 24 год зберігання при температурі | | |
| 1 0С | 6 0С | 15 0С |
| Загальна кількість бактерій | 308000±  52000 | 309000±  49000 | 541000±  63000\* | 8400000±  1600000\* |
| БГКП | 390±31 | 320±28 | 496±30\* | 17500±3100\* |

*Примітка: \* – Р≤0,001 – щодо кількості бактерій після доїння*

Зберігання молока при 6 0С сприяло збільшенню кількості мікроорганізмів у 1,7 (Р≤0,001) та БГКП – у 1,2 раза (Р≤0,001). При більш високих температурах у молоці відбувалося значне збільшення загальної кількості бактерій і БГКП – в 27,0 і 44,8 раза (Р≤0,001) відповідно. Крім цього, нами встановлено, що протягом 24–годинного зберігання охолодженого молока відбувалося суттєве кількісне перегрупування родового складу БГКП (рис. 1).

Так, кількість ешерихій у молоці при температурі 1 і 6 0С зменшувалася в 2,1–2,8 раза відповідно (Р≤0,001). В той же час кількість бактерій родів Citrobacter та Enterobacter у молоці зростала в 1,5–1,8 раза (Р≤0,01), а кількість неідентифікованих бактерій збільшувалася в 5–5,2 раза. Вміст бактерій роду Klebsiella в молоці залишалася практично без суттєвих змін.



Рис. 1. Співвідношення родового складу БГКП у молоці при його зберіганні

У зв’язку з суттєвим зменшенням кількості ешерихій у складі БГКП значно зменшується титр БГКП як показник рівня епідемічної небезпеки молока. Крім цього, сам факт зростання кількості бактерій цієї групи в цілому свідчить про те, що вони втрачають своє показове значення для оцінки якості охолодженого молока. Титр БГКП має значення тільки для оцінки молока збірного свіжонадоєного як показник санітарних умов його одержання.

**Удосконалення існуючих, розробка нових засобів**

**і методів виділення та ідентифікації БГКП**

Нами розроблено нове середовище під назвою “СДК” (середовище для коліформ) з підвищеною чутливістю до бактерій за рахунок введення до його складу комплексної системи, яка сприяє зростанню біохімічної активності мікроорганізмів і складається з натрію гідрокарбонату, натрію глутамату, сульфонолу та індикатора бромтимолового блакитного.

Встановлено, що титр БГКП свіжонадоєного молока при використанні середовищ СДК та КОДА практично ідентичний. В той же час, при дослідженні молока, витриманого при температурі 7–8 0С протягом 24 год виявлено, що середовище СДК на порядок чутливіше за середовище КОДА (табл. 4). Так, на середовищі СДК титр БГКП 0,0001 у молоці охолодженому через 24 год виявляли на 8,7 % частіше (Р≤0,01), ніж на середовищі КОДА, а титр БГКП 0,00001 виявлявся лише на середовищі СДК.

**Таблиця 4**

**Чутливість середовища СДК та КОДА, %, M±m, n=942**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Об’єкт дослідження | Середовище | Кількість проб з титром БГКП | | | | | |
| 1,0 | 0,1 | 0,01 | 0,001 | 0,0001 | 0,00001 |
| Доїльні апарати,  молочний посуд | СДК | – | 19,3±3,41 | 36,8±  3,83 | 33,8±  4,28\*\* | 6,6±  0,84\*\* | 3,5± 0,72 |
| КОДА | – | 16,7±2,76 | 63,6±  7,11 | 17,1±  2,41 | 2,6±  0,43 | – |
| Молоко охолоджене через 24 год | СДК | – | 11,5±2,42 | 15,2± 3,13 | 35,0± 4,76 | 28,0±  3,39\* | 10,3±  1,46 |
| КОДА | – | 17,3±2,51 | 21,8± 3,62 | 41,6± 5,28 | 19,3±  2,95 | – |

*Примітка: \*Р≤0,01, \*\*Р≤0,001 – щодо титру БГКП у середовищі КОДА*

Середовище СДК за титром БГКП 0,001 та 0,0001 у змивах з доїльних апаратів та молочного посуду було чутливіше за середовище КОДА на 16,7 та 4,0 % (Р≤0,001) відповідно, титр БГКП 0,00001 виявлявся лише на середовищі СДК.

Отже, застосування середовища СДК дозволяє більш ефективно оцінити безпеку сирого молока та ефективність санітарної обробки доїльного обладнання та молочного посуду.

**Вплив препаратів зовнішнього застосування на стан шкіри**

**вимені корів та безпеку молока**

При створенні препарату для лікування сухості, тріщин та ран шкіри дійок вимені корів нами розроблені основні критерії, яким повинен відповідати препарат: мати широкий спектр бактеріостатичної дії, не порушувати склад нормомікробіоценозу шкіри вимені, зберігати свої властивості в присутності біоорганічних субстратів, не бути токсичним, не мати алергізуючої та сенсибілізуючої дії, не порушувати газо- і теплообмін шкіри, запобігати пересиханню шкіри і появі на ній тріщин, не мати запаху та не забарвлювати шкіру, легко наноситися і добре змиватися водою.

З урахуванням зазначеного, розроблено дослідні варіанти препарату на поліетиленоксидних та емульсійних гідрофільно-ліпофільних основах, у яких як протимікробну речовину використано один з антисептиків: хлоргексидин, етоній та бензалконіумхлорид. Проведення фізико-хімічних (антимікробна дія, рН, стабільність при зберіганні) та виробничих досліджень (всмоктування препарату шкірою, змивання водою, зменшення мікробного обсіменіння шкіри) показало, що кращим є варіант препарату на емульсійній гідрофільно-ліпофільній основі з вмістом 1% бензалконіумхлориду, який ми назвали “Крем для вимені”. Водні розчини (10%) препарату “Крем для вимені” мали слабо кисле значення рН (5,1–5,3), що близьке до величини рН шкіри. Зони затримки росту бактеріальних культур (S. aureus, E. coli) знаходилися в межах 15–25 мм, що відповідає показнику чутливості даних мікроорганізмів до препарату.

Встановлено, що препарат щодо вказаних тест-культур володіє бактеріостатичною дією.

Проведені токсикологічні дослідження показали, що пероральне введення препарату білим лабораторним мишам в дозі 10000 мг/кг маси тіла не викликало їх загибелі, тобто відповідало LD0. Згідно з ГОСТ 12. 1.007-88 ССБТ “Крем для вимені” належить до нетоксичних засобів. Кумулятивного ефекту та сенсибілізуючої дії під час хронічного досліду на білих лабораторних мишах виявлено не було.

Показано, (табл. 5) що препарат при нанесенні на шкіру дійок вимені корів зменшував мікробне обсіменіння шкіри в 6–9 разів (Р≤0,001) порівняно з контролем, не порушуючи при цьому склад резидентної мікрофлори.

**Таблиця 5**

**Родовий склад мікрофлори шкіри дійок вимені корів**

**при застосуванні “Крему для вимені”, %, М±m, n=32**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Група тварин | Термін дослідження, діб | Загальне мікробне число змиву, тис./см3 | Мікрофлора | | | | | |
| грам-негативні палички | грам-позитивні палички | стафілококи | стрептококи | мікрококи | неідентифіковані |
| Контрольна | 1 | 328±56 | 6,6  ±0,71 | 40,5  ±3,72 | 42,2 ±4,48 | 4,3 ±0,44 | 5,6 ±0,84 | 0,8  ±0,27 |
| 14 | 267±29 | 6,0  ±0,64 | 42,5  ±4,49 | 39,7 ±2,76 | 4,1 ±0,63 | 4,8 ±0,25 | 0,9  ±0,12 |
| Дослідна | 1 | 313±31 | 6,7  ±0,52 | 44,6  ±3,43 | 36,7 ±2,53 | 5,3 ±1,26 | 4,1 ±0,46 | 1,7  ±0,35 |
| 14 | 36±5\*\* | 3,1  ±0,27\* | 52,1  ±2,91 | 29,3±1,62\* | 4,3 ±0,91 | 7,8  ±1,13\* | 1,2  ±0,24 |

*Примітка: \* – Р≤0,01; \*\* – Р≤0,001 – щодо показників 1-ї доби*

Встановлено, що застосування препарату “Крем для вимені” протягом семи діб сприяло зменшенню кількості мікроорганізмів у асептично надоєному молоці здорових корів у 1,4 раза (Р≤0,01) та в 2,5 раза (Р≤0,01) у хворих на субклінічний мастит (табл. 6).

**Таблиця 6**

**Кількість мікроорганізмів у асептично надоєному молоці при**

**застосуванні препарату “Крем для вимені”, тис. КУО/см3, М±m, n=64**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Реакція секрету вимені з мастидином у “хрестах” | Кількість мікроорганізмів у секреті вимені корів | |
| 1-а доба | 7-а доба |
| “–” | 0,63±0,03 | 0,46±0,02\* |
| “++++” | 8,25±1,10 | 3,30±0,65\* |

*Примітка: \* – Р≤0,01 – щодо кількості бактерій у 1-у добу*

Виявлено, що застосування препарату, хворим на субклінічний мастит коровам, сприяло зменшенню кількості соматичних клітин у молоці в 2–4 рази (Р≤0,01), у 15,6±3,11 % корів кількість соматичних клітин у молоці знизилася до норми (400 тис.). При застосуванні крему у здорових корів також спостерігали зменшення кількості соматичних клітин у молоці в 1,7 раза (Р≤0,05).

Отже, застосування препарату ”Крем для вимені” забезпечує одержання безпечного молока і його можна рекомендувати при комплексній терапії маститів.

**Економічно-соціальна ефективність впроваджених розробок**

Як показали результати проведених експериментів, при виконанні комплексу заходів, передбачених розробленими нами підстандартними нормативно-правовими документами, молочна ферма гарантовано одержуватиме до 95 % молока вищим ґатунком і 5 % – першим. Економічний ефект від впровадження нормативно-методичних документів при виробництві 1 т молока становить 430–440 грн. Річний економічний ефект від застосування препарату “Крем для вимені” в результаті профілактики маститів та підвищення безпечності молока з розрахунку на 100 корів становить 2460 грн.

**ВИСНОВКИ**

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення експериментального матеріалу, одержаного в результаті дослідження поширення БГКП у середовищі тваринницьких приміщень. Обґрунтовано необхідність використання титру БГКП, як показника ефективності переддоїльної санобробки вимені корів та титру БГКП свіжонадоєного молока – як показника санітарних умов його одержання. Розроблено антимікробний препарат “Крем для вимені”, який стимулює життєдіяльність нормомікробіоценозу шкіри дійок, профілактує запалення молочної залози корів, у результаті цього значно поліпшуються показники безпеки молока за кількістю соматичних клітин та збудників маститу.

1. Встановлено, що БГКП щодо загальної кількості мікроорганізмів, виділених з об’єктів корівника, складають від 0,004 до 3,67 %. Винятком є стінки годівниці, де кількість БГКП досягає 16,80 % від загального числа мікроорганізмів. Рід Escherichia у мікробіоценозі ферми представлений двома видами E. coli та E. vulneris. При цьому E. vulneris виділяється з усіх об’єктів корівника, E. coli – з фекалій та фекально забруднених об’єктів.

Із роду Citrobacter на внутрішньому обладнанні приміщення, повітрі, кормах найбільше поширений вид C. freundii, який становить 16,7–22,4 % від загальної кількості БГКП; з роду Enterobacter – E. agglomerans до 43,5%, E. asburiae – до 13,0 %, E. amnigenus та E. intermedius – до 16,2 %; з роду Klebsiella поширені лише два його види – K. planticola до 3,1 % та K. pneumoniae subsp. pneumoniae – до 1,7 %.

2. Молочна залоза корів має свою специфічну постійну мікрофлору, яка складається з грам-позитивних паличок – 21,7–30,0 %, стафілококів – 28,3– 45,7 %, стрептококів – 10,4–15,6 % та мікрококів – 14,3–26,3 %. Грам-негативна паличкова мікрофлора в молочній залозі є транзитною.

3. Титр бактерій групи кишкових паличок у змивах із шкіри дійок корів більше одиниці є показником ефективної переддоїльної санітарної обробки вимені корів. Молочна залоза корів та шкіра вимені за умови ефективної переддоїльної обробки перестає бути джерелом обсіменіння молока БГКП.

4. На молочних фермах субклінічні мастити змішаної етіології, спричинені S. agalactiae, S. aureus та E. coli, діагностували в 2,2 % випадків від загальної кількості маститів корів. Мастити стрептококової та змішаної етіології (стрептококи, стафілококи) можуть супроводжуватися присутністю ешерихій у невеликих кількостях, які знаходяться в молочній залозі як транзитна мікрофлора.

5. Титр БГКП свіжонадоєного молока ≥1,0 можна вважати нормативом ефективних санітарних умов його одержання, за якого мікробне число молока не перевищує 60 тис. КУО/см3.

6. Виявлено, що норматив мікробіологічної якості свіжонадоєного молока становить 40–50 тис. КУО/см3. Одержати таке молоко можна тільки за умови забезпечення нормативу чистоти доїльного обладнання при 500–600 мікроорганізмів на 1 см2 площі. Титр БГКП змиву виявився непридатним для визначення такого рівня мікробного обсіменіння доїльних апаратів та молочного посуду.

7. У молоці, охолодженому до 6 0С, протягом 24 год кількість E. coli знижується в 2,1–2,8 раза (Р≤0,001), бактерій родів Citrobacter та Enterobacter підвищується в 1,5–1,8 раза (Р≤0,01). Титр БГКП має значення тільки для молока збірного свіжонадоєного як показник ефективних санітарних умов його одержання.

8. Розроблене нами живильне селективно-діагностичне середовище “СДК” для індикації БГКП чутливіше порівняно з середовищем КОДА в 1,5–2,5 раза (Р≤0,001).

9. Препарат “Крем для вимені” має бактеріостатичну, ранозагоюючу та пом’якшувальну дію. Він знижує мікробне обсіменіння шкіри дійок корів у 6–9 разів (Р≤0,001), кількість мікроорганізмів у молочній залозі – в 1,4–2,5 раза (Р≤0,01), соматичних клітин у молоці – у 2–4 рази (Р≤0,05), що дає можливість одержувати безпечне молоко.

10. Економічний ефект від впровадження розроблених нами нормативно-правових документів при виробництві 1 т молока становить 430-440 грн. Річний економічний ефект від застосування препарату “Крем для вимені” в результаті профілактики маститу та підвищення безпеки молока з розрахунку на 100 корів становить 2460 грн.

**ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

1. Державним лабораторіям ветеринарної медицини використовувати:

* для визначення титру БГКП у молоці та змивах з доїльного обладнання живильне селективно-діагностичне середовище “СДК” для індикації бактерій групи кишкових паличок (ТУ У 24.4–14041043–002:2005);
* визначення титру БГКП збірного свіжонадоєного молока для оцінки санітарних умов його одержання (титр БГКП ≥1,0 – належні санітарні умови).

2. На молочно-товарних фермах для виробництва безпечного молока використовувати:

– для санації шкіри дійок вимені “Крем для вимені” (ТУ У 24.4–14041043–001:2005);

– “Рекомендації з діагностики, лікування і профілактики маститів у корів”, схвалені Управлінням ветеринарної медицини в Тернопільській області (протокол №1 від 17 січня 2007 року);

– методичні рекомендації “Система управління якістю та безпекою молока сирого на основі аналізу ризиків у критичних точках контролю”, схвалені Управлінням ветеринарної медицини в Тернопільській області (протокол №2 від 17 січня 2007 року).

**СПИСОК ОСНОВНИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ**

**ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Система управління якістю та безпекою молока сирого на основі аналізу ризиків у критичних точках контролю. Методичні рекомендації / Крижанівський Я.Й., Кухтин М.Д., Даниленко М.П., Моткалюк Н.Ф., **Перкій Ю.Б.** – Тернопіль, 2006. – 16 с. *(Здобувач брав участь у проведенні досліджень та оформленні рекомендацій).*
2. Рекомендації з діагностики, лікування і профілактики маститів у корів / Крижанівський Я.Й., Голик М.П., Даниленко М.П., Стравський Я.С., Кухтин М.Д., **Перкій Ю.Б.** – Тернопіль, 2005. – 16 с. (*Здобувач виконав частину досліджень, які ввійшли у ці рекомендації).*
3. **Перкій Ю.Б.** Бактерії групи кишкових паличок у мікробіоценозі шкіри молочної залози корів // Ветеринарна біотехнологія. – К.: Аграрна наука, 2004. – №5. – С. 89–93.
4. **Перкій Ю.Б.** Методи виділення збудників маститу корів // Ветеринарна біотехнологія. – К.: Аграрна наука, 2005. – №6. – С. 123–125.
5. **Перкій Ю.Б.** Рівень санітарної показовості бактерій групи кишкових паличок при виробництві молока // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З.Гжицького. – Л.: ЛНАВМ ім. С.З.Гжицького, 2005. – Т.7, №4 (27). – Ч.1. – С. 123–125.
6. Збірні пункти молока селянських присадибних господарств – об’єкти підвищеного ризику / Крижанівський Я., Голик М., **Перкій Ю.** та ін. // Ветеринарна медицини України. – 2005. – №5. – С. 35–36. (*Здобувач виконав частину досліджень, які використані для написання статті*).
7. Крижанівський Я.Й., **Перкій Ю.Б.** Значення санітарної обробки доїльного обладнання для виробництва молока згідно ДСТУ 3662–97 // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З.Гжицького. – Л.: ЛНАВМ ім. С.З.Гжицького, 2006. – Т.8, №2 (29). – Ч.4. –С. 108–111. (*Здобувач виконав експериментальну роботу, статистичну обробку та підготував матеріал до публікації*).
8. Технологія індикації бактерій групи ешерихій в СДК–середовищі / Кухтин М.Д., Крижанівський Я.Й., **Перкій Ю.Б.** та ін. // Ветеринарна біотехнологія. – К.: Аграрна наука, 2006. – №8. – С. 138–143. (*Здобувач брав участь у проведенні дослідження та обробці результатів*).
9. Бензалконіумхлорид та етоній у складі протимаститних препаратів зовнішнього застосування / Крижанівський Я.Й., Моткалюк Н.Ф., Климик В.Т., **Перкій Ю.Б.** // Ветеринарна біотехнологія. – К.: Аграрна наука, 2004. – №4. – С. 119–123. (*Здобувач виконав експериментальну частину роботи та провів статистичну обробку результатів*).
10. Пошук основи-носія для профілактичних протимаститних препаратів зовнішнього застосування / Крижанівський Я.Й., Моткалюк Н.Ф., Климик В.Т., **Перкій Ю.Б.** // Ветеринарна медицина: Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Х.: ІЕКВМ, 2004. – №84. – С. 390–392. (*Здобувач брав участь у проведенні досліджень та підготовці матеріалу до друку*).
11. Крижанівський Я.Й., Моткалюк Н.Ф., **Перкій Ю.Б.** Розробка профілактичного протимаститного препарату зовнішнього застосування “Крем для вимені”// Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – Л.: ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок, 2005. – Вип. 6. – №3. – С. 201–204. (*Здобувач виконав частину експериментальних досліджень та брав участь у оформленні статті*).
12. Крижанівський Я.Й., Моткалюк Н.Ф., **Перкій Ю.Б.** Дослідження протимаститних препаратів зовнішнього застосування у виробничих умовах // Ветеринарна біотехнологія. – К.: Аграрна наука, 2005. – №6. – С. 82–85. (*Здобувач провів дослідження та статистичну обробку матеріалу*).
13. Деклараційний патент на корисну модель № 10168 А 61 К 35/00 Україна. Селективно-діагностичне середовище для індикації бактерій групи кишкових паличок / Касянчук В.В., Крижанівський Я.Й., Даниленко І.П., Кухтин М.Д., **Перкій Ю.Б.** № u 2005 01409; Заявл. 15.02.2005; Опубл. 15.11.2005, Бюл. №11. (*Здобувач брав участь в проведенні досліджень та обробці результатів*).
14. Деклараційний патент на корисну модель № 22250 МПК А 61 D 7/00 Україна. Крем для вимені / Крижанівський Я.Й., Моткалюк Н.Ф., **Перкій Ю.Б.**, Кухтин М.Д. № u 2006 08793; Заявл. 07.08.2006; Опубл. 25.04.2007, Бюл. №5. (*Здобувач провів дослідження, статистичну обробку та аналіз результатів*).
15. Крижанівський Я.Й., Моткалюк Н.Ф., **Перкій Ю.Б.** НТД: “Профілактичний протимаститний препарат зовнішнього застосування “Крем для вимені”. – Київ, 2005. – Технічні умови України (ТУ У 24.4–14041043–001:2005).
16. НТД: “Живильне селективно-діагностичне середовище “СДК” для індикації бактерій групи кишкових паличок” / М.Д. Кухтин, **Ю.Б. Перкій**, Я.Й. Крижанівський та ін.. – Київ, 2005. – Технічні умови України (ТУ У 24.4–14041043–002:2005).
17. Метод визначення лактози в живильному середовищі / Кухтин М.Д., Крижанівський Я.Й., Моткалюк Н.Ф, **Перкій Ю.Б.** // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2006. – С. 200–201.
18. Підбір антимікробних речовин для створення ветеринарних протимаститних препаратів зовнішнього застосування / Крижанівський Я.Й., Моткалюк Н.Ф., Кухтин М.Д., **Перкій Ю.Б.** // Створення, виробництво, стандартизація, фармако-економіка лікарських засобів та біологічно активних добавок: Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – С. 536–539.
19. Ідентифікація бензалконій хлориду в препараті “Крем для вимені”/ Крижанівський Я.Й., Моткалюк Н.Ф., Климик В.Т., **Перкій Ю.Б.** // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2006. – С. 199–200.

**Перкій Ю.Б. Роль бактерій групи кишкових паличок у санітарії молока. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.06 – гігієна тварин та ветеринарна санітарія. – Національний аграрний університет, Київ, 2007.

Дисертація присвячена встановленню нормативу титру БГКП у свіжонадоєному молоці, як одного із показників його безпеки та розробці засобів підвищення безпеки молока.

Встановлено що БГКП, зокрема ешерихії, належать до транзитної групи мікрофлори шкіри дійок та молочної залози корів. Показано, що в окремих випадках мастити стрептококової та змішаної етіології (стрептококи, стафілококи) можуть супроводжуватися присутністю ешерихій у невеликих кількостях, які знаходяться в молочній залозі як транзитна мікрофлора. Встановлено рівень санітарної показовості БГКП при визначенні ефективності окремих технологічних операцій, зокрема санобробки доїльних апаратів та молочного посуду, охолодження молока.

Науково обґрунтовано норматив титру БГКП свіжонадоєного збірного молока ≥1,0, який є показником належних санітарних умов його одержання, за яких мікробне число молока не перевищує 60 тис./см3 бактерій.

Розроблено новий препарат зовнішнього застосування для санації шкіри дійок “Крем для вимені”. Запропоновано для індикації бактерій групи кишкових паличок нове живильне селективно-діагностичне середовище “СДК”.

**Ключові слова:** бактерії групи кишкових паличок, молоко, безпека, норматив, протимаститні препарати.

**Перкий Ю.Б. Роль бактерий группы кишечных палочек в санитарии молока. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.06 – гигиена животных и ветеринарная санитария. – Национальный аграрный университет, Киев, 2007.

Диссертация посвящена изучению уровня санитарных показателей бактерий группы кишечной палочки (БГКП) при исследовании эффективности отдельных технологических операций, в том числе санобработки доильных аппаратов и молочной посуды, охлаждения молока, установлены нормативы количества БГКП в свежевыдоенном молоке и разработаны средства повышения качества и безопасности молока.

Изучение распространения БГКП на молочных фермах свидетельствует о том, что данные бактерии относительно общего количества микроорганизмов, выделенные из объектов, составляют от 0,004±0,001 до 3,67±0,614 %. Исключение – стенки кормушек, где содержание БГКП составляет 16,80±2,318 % от всего количества микроорганизмов. БГКП на фермах представлены видами: род Escherichia – E. coli и E. vulneris – до 88,3±9,33 и 33,3±6,42 % соответственно; род Citrobacter – C. freundii – до 22,4±4,63 %; род Enterobacter – E. agglomerans до 43,5±9,48 %, E. asburiae – 13,0±2,42 %, E. amnigenus – до 16,2±3,25 %, E. intermedius – до 15,6±3,72 %; из рода Klebsiella распространены только два его вида – Kl. planticola и Kl. pneumoniae subsp. рneumoniae, которые составляют до 3,1±0,34 и 1,7±0,36 % от общего количества.

Экспериментально установлено, что БГКП, в том числе эшерихии, относятся к транзитной микрофлоре кожи молочной железы и сосков коров, а значение титра БГКП смывов кожи сосков больше единицы (>1,0) является надежным показателем эффективной переддоильной санобработки. Нами установлено, что в отдельных случаях маститы стрептококковой и смешанной этиологии (стрептококки и стафилококки) могут сопровождаться наличием небольших количеств ешерихий, которые находятся в молочной железе в качестве транзитной микрофлоры. Использование жидких селективных сред для выделения возбудителей мастита при данных исследованиях не является показательным.

Доказано, что бактерии рода Escherichia при охлаждении молока до 6– 1 0С постепенно гибнут, а бактерии родов Citrobacter и Enterobacter сохраняют способность к размножению. Титр БГКП для молока, охлажденного после суточной его выдержки, теряет свою санитарную показательность. В то же время, нами научно обоснован норматив титра БГКП свежевыдоенного сборного молока ≥1,0, который является показателем хороших санитарных условий его получения, микробное число молока при этом не превышает 60 тис. КОЕ/см3.

Установлено, что при нормативе микробной чистоты молочного оборудования 100–500 тис. КОЕ/см3 титр БГКП теряет санитарную показательность и не может быть использован для оценки эффективности его санитарной обработки.

Сформулированы основные требования к препаратам наружного применения для санации кожи сосков вымени коров. Для санации кожи сосков предложено использовать “Крем для вымени”, который имеет бактериостатическое, ранозаживляющее и смягчающее действия. “Крем для вымени” уменьшает микробное обсеменение кожи в 6–9 раз (Р≤0,001), количество бактерий в молочной железе в 1,4–2,5 раза (Р≤0,01), соматических клеток в 2–4 раза (Р≤0,001). Применение данного крема способствует поддержанию кожи сосков в хорошем физиологическом состоянии и получению безопасного и качественного молока.

Предложено для индикации БГКП пользоваться новой питательной селективно-диагностической средой “СДК”, которая чувствительнее в 1,5–2,5 раза (Р≤0,001) по сравнению со средой КОДА и позволяет более эффективно оценить безопасность сырого молока и эффективность санитарной обработки доильного оборудования и молочной посуды.

**Ключевые слова:** бактерии группы кишечных палочек, молоко, безопасность, норматив, противомаститные препараты.

**Perkiy Yu.B. Coliforms’ role in the sanitation of milk. – The Manuscript.**

The dissertation is presented for the scientific degree of Philosophy Doctor of veterinary medicine sciences competition on specialty 16.00.06 – hygiene of animals and veterinary sanitary. – National Agrarian University, Kyiv, 2007.

Dissertation is devoted to definition of the standard of coliforms’ content in fresh milk, as one of parameters of its safety and elaboration of milk safety means.

There was ascertained that coliforms including Esherichia, are belong to transit group of cows mammillas’ and mammary gland’s skin. There was gave evidence of esherichiae presence in small quantity at mastitis which induced by streptococci or mixed etiology (streptococci, staphylococci). In such cases esherichiae are representatives of transit microflora of mammary gland. There was established level of coliforms sanitary significance at definition of certain technologic operations effectiveness, including sanitary processing of milking machine and milk ware, milk cooling.

There was scientifically based standard of coliforms titre in fresh combined milk ≥1,0, which is index of good sanitary conditions of its deriving, at which microbial amount doesn’t exceed 60 000/cm3.

There was designed new prophylactic antimastitis preparation for external use for mammillae skin sanation “Cream for udder”. There was proposed new selective-diagnostic nutrient medium for indication of coliform bacteria “СДК”.

**Key words:** coliform, milk, safety, standard, antimastitis preparations.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>



