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

ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ЛЕВКІВСЬКА НАТАЛІЯ ДМИТРІВНА**

УДК 619:579:636.2:619:618:619:612.017

**МІКРОФЛОРА СЕКРЕТУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ТА ІМУНОЛОГІЧНА РЕАКТИВНІСТЬ ОРГАНІЗМУ КОРІВ, ХВОРИХ НА МАСТИТ**

16.00.03 – ветеринарна мікробіологія та вірусологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата ветеринарних наук

Одеса - 2008

Дисертацією єрукопис

Робота виконана вЛьвівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького

**Науковий керівник** – **Захарів Орест Ярославович**, доктор сільськогосподарських наук, професор, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, завідувач кафедри мікробіології та вірусології

**Офіційні опоненти** – доктор ветеринарних наук, професор **Ковальов Василь Львович**, Південний філіал “Кримський агротехнологічний університет” Національного аграрного університету, завідувач кафедри епізоотології, паразитології та ветсанекспертизи

доктор ветеринарних наук, професор **Івченко Василь Мусійович**, Білоцерківський національний аграрний університет, завідувач кафедри лабораторної діагностики інфекційних захворювань сільськогосподарських тварин

Захист дисертації відбудеться “\_\_”\_\_\_\_\_\_\_\_2008р. о\_\_\_год. на засіданні спеціалізованої вченої ради К 41.372.01 в Одеському державному аграрному університеті за адресою: 65012 м. Одеса, вул. Пантелеймонівська, 13, навчальний корпус №3, ауд. 309.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеського державного аграрного університету за адресою: 65039, м. Одеса, пер. Матросова, 6.

Автореферат розісланий “\_\_”\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2008р.

**Вчений секретар**

**спеціалізованої вченої ради С.І. МасленіковаЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Основним завданням молочного скотарства є забезпечення населення країни високоякісним молоком, яке можна отримати лише від здорових корів. Проте цьому перешкоджають різні захворювання корів, і в першу чергу, на мастит.

Більшість вітчизняних і зарубіжних вчених, які працюють над даною проблемою, вважають мастит захворюванням із повільним перебігом, з глибокими запальними процесами різної складності, наслідком яких є проникнення в молочну залозу патогенних мікроорганізмів (Devriese A. Z., 1994; Демидова Л. Д., 1997; Івченко В. М., 1992; Головко А. М. зі співавт., 2001).

Мастити ― одна з найважливіших проблем молочного скотарства. За даними Міжнародної молочної асоціації, щорічно клінічною формою маститу хворіє 2 % , а субклінічною формою до ― 50 % корів. Втрати від маститів складаються із зниження молочної продуктивності, санітарної якості молока, передчасного вибракування корів, зниження на 2–3 роки середньої тривалості продуктивного життя корови, недоотримання на 100 корів відповідно 2–3 телят, зростання захворюваності і загибелі новонароджених телят (Карташова В. М., 1988; Брилин А. П. із співавт., 2006).

Мастит корів негативно впливає на внутрішньоутробний розвиток плода, клініко-фізіологічний статус новонароджених телят (Коган Г. Ф., 1990; Манойленко С., 1997; Хомин С. П., 2004).

Аналіз причин захворювання корів маститом, за даними С. П. Хомина, 2004; В. П. Гончарова, 1987, свідчить про зниження у них рівня природної резистентності, яке викликається комплексом стрес-факторів. Ці чинники негативно впливають на фізіологічний стан корів і сприяють схильності тварин до захворювання.

Г. В. Звєрєва, 1996, В. М. Івченко, 1973 вважають, що в етіології та патогенезі маститів важливу роль відіграє фактор інфікування молочної залози мікроорганізмами.

Збудником маститів у корів є переважно антибіотикорезистентна мікрофлора. Тому використання антибіотиків для лікування корів на мастити не завжди дає позитивні результати (Shan N. M. et all., 1995).

Більшість препаратів для лікування корів, хворих на мастит, на основі антибіотиків має низьку терапевтичну ефективність. Внаслідок цього збільшується термін лікування, захворювання переходить у хронічну форму. Залишкова кількість антибіотиків виділяється з молоком впродовж 2–5 діб (Сидоркин В. А. із співавт., 2004).

Окрім того, застосування антибіотиків для лікування корів, хворих на мастит, провокує реверсію Staphylococcus aureus із L-форми у вегетативну, що сприяє повторному спалаху розвитку запального процесу в молочній залозі (Демидова Л. Д. із співавт., 2003). Саме тому в останні роки ведуться наполегливі пошуки екологічно безпечних засобів для лікування корів, хворих на мастит, здатних викликати корекцію імунного статусу. Цього можна досягнути за допомогою імуномодуляторів, серед яких важливе значення мають продукти бджільництва. До таких препаратів належить природний препарат прополіс, він володіє вираженими антимікробними властивостями, протизапальною дією, стимулює захисні сили організму і не шкідливий для організму.

Дискусійним є питання про значення мікроорганізмів і вторинної імунної недостатності в етіології маститів. Недостатнє обґрунтування патогенезу захворювання стримує розробку нових нетрадиційних методів і засобів лікування та профілактики маститів. У зв’язку з цим, перспективним напрямком у розробці патогенетичної терапії корів, хворих на мастит, є вивчення імунобіологічного стану корів при маститах та розробка нових, обґрунтованих, ефективних засобів, які б володіли широким спектром антимікробної та імуномодулюючої дії. Вирішення цього питання сприятиме підвищенню ефективності лікування і профілактики маститів у корів, що має важливе теоретичне і практичне значення.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Тема дисертаційної роботи є фрагментом проблеми науково-дослідної роботи Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького «Обґрунтування етіопатогенезу та розробка комплексної програми профілактики акушерської патології та неплідності, хвороб молочної залози корів» (номер державної реєстрації 0102U001338).

**Мета і завдання дослідження.** Метою наших досліджень було вивчити мікрофлору секрету молочної залози та імунологічну реактивність корів, хворих на субклінічні мастити, розробити й апробувати метод лікування емульсією прополісу.

Для досягнення мети необхідно було вирішити наступні завдання:

― 1) з’ясувати ситуацію щодо захворювання корів маститом у господарствах з різною формою власності;

― 2) вивчити мікрофлору із проб секрету вимені корів, хворих на мастит з субклінічним перебігом, та її чутливість до антибіотиків до і після застосування емульсії прополісу;

― 3) вивчити динаміку показників імунного статусу корів, хворих маститом, до і після застосування емульсії прополісу:

― кількість лейкоцитів, лейкограму;

― абсолютну кількості Т- і В-лімфоцитів;

― показники опсонофагоцитарної реакції;

― показники БАСК і ЛАСК (бактерицидна активність сироватки крові, лізоцимна активність сироватки крові);

― циркулюючі імунні комплекси (ЦІК);

― динаміку показників Ig G, Ig М, Ig А в сироватці крові;

― за результатами вивчення імунореактивності корів після застосування емульсії прополісу розробити рекомендації для лікування корів, хворих на мастит, та профілактики захворювання.

*Об’єкт дослідження* ― корови, хворі субклінічним маститом, методи діагностики, лікування і профілактики маститів у корів.

*Предмет дослідження* ― секрет із вимені, мікроорганізми, їх чутливість до антибіотиків до і після застосування емульсії прополісу.

*Методи дослідження*. Клінічні ― визначення клінічного статусу тварин; гематологічні ― кількість лейкоцитів, показники лейкограми; мікробіологічні ― вивчення морфологічних, культуральних, біохімічних та патогенних властивостей культур мікроорганізмів, виділених із секрету молочної залози корів, хворих на мастит; епізоотологічне обстеження неблагополучних господарств ― з’ясування ступеня розповсюдження та джерела збудника інфекції; імунологічний – вивчення показників абсолютної кількості Т- і В-лімфоцитів, класів імуноглобулінів, циркулюючих імунокомплексів, БАСК і ЛАСК; статистичний ― обробка експериментальних даних.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше застосовано 3 % водну емульсію прополісу для лікування корів, хворих на мастит. Вперше отримано дані про вплив водної емульсії прополісу на організм корів та запропоновані оптимальні його дози для лікування корів, хворих на мастит. Результатами досліджень доповнено наукову інформацію про бактеріальний спектр та біологічні властивості виділеної мікрофлори, яка відіграє етіологічну роль у виникненні маститів корів. Визначено імунологічний статус корів, хворих на мастит, до і після застосування водної емульсії прополісу. Наукову новизну підтверджено патентом на корисну модель № 25104 «Спосіб лікування корів, хворих маститом та корекції імунного статусу» від 25.07.2007 р.

**Практичне значення одержаних результатів.** Теоретично обґрунтована та практично доведена можливість і доцільність застосування водної емульсії прополісу для лікування корів, хворих на мастит, та вплив її на відновлення імунного статусу, що сприяє збереженню молочної продуктивності тварини. Розроблені принципи її застосування як лікувального засобу. Отримано авторське свідоцтво № 27172 «Імуномодулюючий засіб для лікування корів хворих маститом» від 25.10.2007 р. Дані, отримані при вивченні імунобіологічної реактивності корів, дозволили розробити рекомендації з використання водної емульсії для лікування і профілактики корів, хворих на мастит з субклінічною та клінічною формами маститу без втрат молока.

Результати досліджень, викладені у дисертаційній роботі, застосовуються при лікуванні корів у господарствах Львівської області. На їх основі видані «Рекомендації щодо застосування емульсії прополісу для лікування корів, хворих на мастит, та його профілактика», які затверджені вченою радою факультету ветеринарної медицини ЛНАВМ імені С. З. Гжицького, протокол № 6 від 27.02.2007 р., та колегією управління ветеринарної медицини Львівської області 07.06.2007 р.

Особистий внесок здобувача. При виконанні роботи дисертантом самостійно отримані результати з вивчення розповсюдження маститів у корів, проведені бактеріологічні дослідження секрету молочної залози, вивчені біологічні властивості виділеної мікрофлори та показники резистентності організму корів, хворих маститом, до та після їх лікування. Розроблено методику лікування корів хворих маститом з використанням 3 % водної емульсії прополісу.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертації доповідали на річних звітах аспірантів ЛНАВМ імені С. З. Гжицького; на міжнародних науково–практичних конференціях: «Сучасність і майбутнє аграрної науки та виробництва», присвяченій 50-річчю від дня заснування факультету заочної освіти, м. Львів, 19-20 жовтня 2006 р.; на Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених: «Аграрний форум 2007», присвяченій 30-й річниці заснування Сумського національного аграрного університету, м. Суми, 4–6 квітня 2007 р.; на Міжнародній науково–практичній конференції: «Молоді вчені у вирішенні проблем аграрної науки і практики», присвяченій 100-річчю від дня народження С. З. Гжицького, м. Львів, 15-16 червня 2007 р.; на Науково-практичній конференції, присвяченій 10-річчю заснування факультету ветеринарної медицини (1997–2007), м. Луганськ, 26–28 вересня 2007 р.

Публікації. **Матеріали дисертації опубліковані одноосібно в 5 наукових працях у фахових виданнях, отримано два патенти України.**

Структура та обсяг дисертації. **Дисертація викладена на 111 сторінках комп’ютерного тексту і включає: вступ, огляд літератури, матеріал і методи досліджень, результати досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів, висновки і пропозиції, список використаної літератури, додатки. Список використаної літератури включає 264 найменування, у тому числі 80 зарубіжних. Робота ілюстрована 22 таблицями та 23 рисунками.**

**МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Роботу виконували за період 2005–2007 років на кафедрі мікробіології та вірусології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького та на молочно-тваринних фермах великої рогатої худоби різних форм власності: ТзОВ «Правда» Бродівського району, ТзОВ «Двірцівське» Сокальського району Львівської області та ВАТ «Терезине» Білоцерківського району Київської області. Всі роботи виконувались відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», «Європейської конвенції про захист домашніх тварин від 13.11.1987».

Захворювання корів на мастит з клінічно вираженою формою виявляли за допомогою відповідних методів дослідження: оглядом визначали пропорційність чвертей, пальпацією – температуру, консистенцію, болючість, стан надвим’яних лімфатичних вузлів, пробне доїння. Субклінічні форми маститу виявляли фізико-хімічними методами, шляхом дослідження секрету молочної залози з 5 % розчином димастину і в поєднанні з бактеріологічним методом. У молозивний період візуально оцінювали оглядом молозива в пробірках і постановкою реакції із 3 % розчином мастидину.

З метою виявлення етіологічної ролі мікрофлори у виникненні маститів у корів проводили бактеріологічне дослідження секрету із вим’я корів з клінічною та субклінічною формами маститу. Бактеріологічні дослідження включали: відбір проб секрету, охолодження і транспортування, виділення мікроорганізмів, їх ідентифікацію та вивчення антибіотикограм. Видову ідентифікацію виділених культур мікроорганізмів проводили за визначником «Берги», 1997.

Перед взяттям проб секрету вим’я ретельно обмивали, витирали індивідуальною серветкою, дійки протирали 70 % розчином етилового спирту. Здоювали декілька цівок секрету в окрему посудину, а потім з кожної ураженої чверті в стерильні пробірки брали дві паралельні проби по 4–5 мл секрету, які ставили в термос із льодом і доставляли в лабораторію, де проводили бактеріологічні дослідження.

**Виділення та ідентифікація стафілококів.** З метою виділення стафілококів секрет молочної залози висівали на молочно-сольовий агар з 7,5 % хлористого натрію. Ідентифікацію виділених культур стафілококів проводили шляхом визначення лецитиназної активності, для чого культуру пересівали на жовтково-сольовий агар і на кров’яний МПА з 5 % еритроцитів барана для визначення гемолітичних властивостей. Показники коагуляції плазми крові кроля вивчали за загальноприйнятими методами. Для фаготипування стафілококів використовували набір фагів ВРХ, який включає 78, 102, 107, 117, 118, 119 фаговари. Фаготипування проводили за методикою Івченка В. М., 1989.

**Виділення та ідентифікація стрептококів.** Виділення стрептококів із секрету вим’я корів проблематичні, оскільки стрептококи вимогливі до живильних середовищ. Для виділення культур стрептококів посіви проводили на кров’яний МПА з 0,5 % глюкози. Ідентифікацію стрептококів здійснювали за визначенням типу гемолізу, ростом на сироватковому МПБ з 10 % жовчі та постановкою САМР-тесту. Постановку САМР-тесту проводили за методикою Карташової В. М., 1973.

**Виділення та ідентифікація ентеробактерій.** Для виділення E. coli із секрету вим’я корів використовували середовища Ендо, Левіна. При ідентифікації культур вивчали ферментативну активність на середовищах з лактозою, сахарозою, сечовиною і ріст на середовищі Сімонса. Культури, які за морфологічними ознаками, тинкторіальними, культуральними і ферментативними властивостями відповідали E. сoli, ідентифікували в РА з специфічними О-колі сироватками і визначали патогенні серовари.

**Методи вивчення імунологічної реактивності організму корів.** Для досліду за принципом аналогів підібрали 25 корів української чорно-рябої породи. Корів розділили на 3 групи: перша ― здорові (контрольна група) ― 5 тварин; друга ― хворі маститом з субклінічним перебігом ― 10 корів; третя ― хворі з клінічно вираженими симптомами маститу ― 10 корів.

Для визначення імунологічної реактивності організму корів, брали проби крові із яремної вени вранці до початку годівлі у дві стерильні пробірки, одна з них з гепарином (200 ОД на 10 мл крові), інша ― без гепарину.

Показники імунологічної реактивності корів визначали за комплексом тестів: вміст кількості лейкоцитів ― меланжерним методом, лейкограму, абсолютну кількість лімфоцитів, Т- і В-лімфоцитів за методикою Новикова Д. К., Новикова В. И., 1976, удосконаленою Івченком В. М. з співавт., 2003; опсоно-фагоцитарну реакцію (ОФР) ― за методикою Карпутя И. М., 1993, з використанням тест-культури Staph. aureus штам 209Р; класи імуноглобулінів сироватки крові ― методом радіальної імунодифузії за методикою Маnchini, Carbonara, 1965; циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) ― за методикою Ю. Т. Гриневича, 1989.

Бактерицидну активність сироватки крові визначали методом фотонефелометрії з тест-культурою Staph. аureus за методикою В. Є. Чумаченка, 1992.

Лізоцимну активність сироватки крові визначали фотоколориметричним методом з тест-культурою Micrococcus lysodecticus, штам 265 ― за методикою А. С. Козлюка і співавт., 1987.

Статистичну обробку цифрових даних результатів досліджень проводили за допомогою комп’ютерної програми EXCEL. Коефіцієнт вірогідності визначали за Ст’юдентом.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ**

**Поширення захворювання корів хворих на мастит.** Внаслідок проведеної реформи у сільськогосподарському виробництві з’явилися різні форми господарювання, починаючи від великих ферм громадського сектора, закінчуючи дрібними фермерськими та індивідуальними селянськими господарствами. Розпаювання земель у багатьох населених пунктах позбавило фермерські і селянські господарства пасовищ та літніх таборів, що змусило перевести молочне скотарство на стійлове утримання протягом року. В таких умовах змінюється фізіологічний стан тварин. Тому виникла велика потреба вивчити стан молочної залози корів стосовно захворювання маститом, визначити частоту прояву захворювання в цих умовах.

Розповсюдження захворювання корів маститом у господарствах вивчали шляхом систематичного дослідження корів. Корів індивідуального сектора досліджували в період проведення організованих ветеринарною службою профілактичних заходів та діагностичних досліджень. Результати досліджень наведені в таблиці 1.

*Таблиця 1*

**Поширення захворювання корів маститом**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Назва  господарства | Кількість  обстежених  корів | Виявлено хворих | | | | | |
| голів | % | клінічною  формою  маститу | % | субклінічною  формою маститу | % |
| ВАТ  ″Терезине″ | 475 | 128 | 26,95 | 12 | 9,37 | 116 | 90,63 |
| ВАТ  ″Шамраївка″ | 327 | 168 | 51,38\* | 25 | 14,88 | 143 | 85,12\* |
| ТзОВ ″Правда″ | 225 | 40 | 17,77 | 10 | 25 | 30 | 75,0 |
| ТзОВ″Двірцівське″ | 60 | 34 | 56,7 | 3 | 8,82 | 31 | 91,18 |
| Індивідуальні селянські господарства | 308 | 25 | 8,1 | 2 | 8,0 | 23 | 92,0 |
| Всього | 1395 | 395 | 28,31 | 52 | 13,16 | 343 | 86,84 |

*Примітка:* у ВАТ «Шамраївка» протягом року після родів у 12 % корів були встановлені ендометрити.

Матеріали таблиці 1 свідчать про те, що захворюваність корів маститом надто висока ― 28,31 %, причому з клінічною формою перебігу становить 13,16 %, а з субклінічним перебігом ― 86,84 %, що в 6,6 раза більше**.** В громадському секторі виявлено 36,9 %, у фермерських господарствах ― 25,96 %, а в індивідуальних селянських господарствах ― 8,1 % корів, хворих маститом.

Слід зазначити, що кількість корів, хворих маститом з субклінічним перебігом, щороку збільшується. Такий стан можна пояснити тим, що в господарствах громадського і фермерського секторів корів не випасають, не проводиться систематичне обстеження на виявлення маститів, відсутні заходи боротьби та профілактики цього захворювання.

Окрім цього, захворювання корів маститом після отелення пояснюється тим, що молочна залоза ― найбільш експлуатований орган, а перевтома під час родового акту різко знижує резистентність організму і молочної залози. Інфекційний процес у молочній залозі корів може перебігати у вигляді безсимптомного бактеріоносійства, у субклінічній та клінічній формах маститу.

Для з’ясування ролі мікроорганізмів у етіології маститів проводили бактеріологічні дослідження секрету із вим’я 152 корів, із них у громадському секторі від 12 корів з клінічною формами маститу та 80 корів з субклінічною формою перебігу. В фермерських господарствах дослідили 13 корів з клінічною і 20 корів з субклінічною формою маститу. В селянських господарствах дослідили 2 корови з клінічною формою і 25 ― з субклінічною формою перебігу. Для контролю досліджували молоко із вим’я 25 клінічно здорових корів.

При клінічній формі перебігу маститу культури Staph. aureus виділено в 35,89 %, Str. аgalactiae 25,46 %, Е. coli 5,13 %, а асоціації Staph. aureus+ Е. coli ― 25,6 % проб секрету. Із проб секрету вим’я корів, хворих маститом з субклінічною формою перебігу, при бактеріологічному дослідженні виділено монокультури Staph. aureus 35,63 %, Str. аgalactiae 21,46 %, Е. coli ― 13,79 %, а в асоціації культури Staph. aureus+ Е. coli ― 14,18 %, Str. аgalactiae+ Staph. aureus ― 9,19 %. Аналіз результатів досліджень свідчить, що із секрету вим’я корів, хворих маститом, при всіх формах його перебігу частіше виділялась як у чистій культурі, так і в асоціації Staph. aureus.

При порівнянні результатів бактеріологічних досліджень секрету із вим’я корів, хворих маститом, з результатами досліджень молока від здорових корів, встановлено, що з молока виділялась переважно кокова мікрофлора Staph. epidermidis, Staph. saprophiticus, Str. lactis і Е. coli та мікрококи.

Широке розповсюдження стафілококів і ешеріхій пояснюється їх властивістю зберігати життєздатність у навколишньому середовищі. Виявлення асоціації Е. coli і Staph. aureus в молоці корів при відсутності маститу можна пояснити високою резистентністю організму корови і молочної залози.

**Біологічні властивості стафілококів.** При бактеріологічному дослідженні секрету із вим’я корів, хворих на мастит, у чистій культурі й асоціації з іншими видами мікроорганізмів виділено 178 культур Staph. aureus, 5 культур Staph. haemoliticus, 9 ― Staph. epidermidis, а з молока здорових корів виділено 7 культур Staph. aureus, 8 ― Staph. epidermidis та 19 ― Staph. saprophiticus.

При вивченні культур Staph. aureus, виділених із секрета вим’я корів, хворих маститом, встановлено, що всі вони зброджували глюкозу в анаеробних умовах і ферментували манніт, 54,5 % викликали α-гемоліз, а 45,4 %-β-гемоліз, 100 % коагулювали плазму і володіли лецитиназною активністю. Слід зазначати, що культури Staph. aureus, виділені в асоціації з іншими мікроорганізмами, володіли більш вираженою ферментативною активністю порівняно з монокультурами.

Виділені 4 культури Staph. haemoliticus володіли гемолітичною активністю, в анаеробних умовах зброджували глюкозу, але не володіли лецитиназною і фосфотазною активністю.

Отримані дані свідчать про те, що стафілококи, виділені від корів, хворих на мастит, володіли комплексом ознак вірулентності. Культури Staph. aureus, виділені із молока здорових корів, викликали гемоліз. Причому одна ― α-гемоліз і дві ― β-гемоліз, і всі коагулювали плазму крові, володіли лецитиназною активністю. Отримані дані свідчать про їх потенційну здатність спричинювати захворювання.

В ідентифікації стафілококів важливе значення має метод фаготипування, він дає можливість провести внутрішньовидову диференціацію культур. Досліджували 150 культур Staph. aureus, які коагулювали плазму, володіли гемолітичною властивістю. Фаготипування культур Staph. aureus проводили набором фагів великої рогатої худоби.

*Таблиця 2*

**Показники фаготипування культур Staph. aureus**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кількість  досліджених  культур Staph.aureus | Із них типувались | Типувались фагами | | | | |
| 78 | 102 | 107 | Комплексом фагів | |
| 102/107 | 102/117 |
| 150 | 66 | 24 (36,4 %) | 13 (19,7 %) | 9 (13,6 %) | 18 (27,3 %) | 2 (3,0 %) |

Дані таблиці 2 показують, що із 150 культур Staph. aureus фаготипувалось лише 66 культур (44 %). За результатами фаготипування 36,4 % культур віднесено до фаговару 78, а 19,7 % ― до фаговару 102, 13,6 % ― до фаговару 107, а решта типувались комплексом фагів 102/107/117. Слід зазначити, що дві культури Staph. aureus, виділені від здорових корів, віднесені до фаговару 107. Культури стафілококів Staph. haemoliticus і Staph. epidermidis, виділені з секрету вим’я корів, у жодному випадку не лізувались фагами.

100 % культур Str. аgalactiae, виділених із секрету вим’я корів, хворих маститом з клінічним проявом, давали позитивний САМР-тест, а 80 % викликали α-гемоліз. Усі росли на сироватковому МПБ з 10 % жовчі. 96,2 % культур Str. аgalactiae, виділених з секрету вим’я корів при субклінічному маститі, проявляли позитивний САМР-тест, а α-гемоліз викликали 24,05 %, β-гемоліз ― 25,32 %. Із молока здорових корів виділяли Str. lactis в асоціації з мікрококами і в жодному випадку не виділено Str. аgalactiae.

Біологічні властивості Е. coli. Культури Е. coli, виділені із секрету вим’я корів, хворих маститом з клінічною формою перебігу, в асоціації виділено в 30,8 % випадків, а при субклінічному маститі Е. coli в монокультурі виділено в 13,79 % випадків. Результати дослідження біологічних властивостей культур Е. coli показують, що за ферментативними властивостями всі культури Е. coli, виділені з секрету корів, хворих маститом, і молока здорових корів, відповідали виду Е. coli, проте аглютинуючими О-колі сироватками аглютинувалось лише 74,01 % культур. Із виділених культур Е. coli 40,74 % належало до серовару О20, а решта ― до інших. Культури Е. coli, виділені з молока здорових корів, О-колі сироватками не аглютинувались.

Біологічні властивості Ps. aeruginosa. Бактеріологічні дослідження включали: отримання чистої культури Ps. aeruginosa, видову ідентифікацію та внутрішньовидову диференціацію. Для виділення Ps. aeruginosa із секрету вим’я корів використовували середовище цетилпірідин хлориду і середовище Ендо.

Всі культури типувались: 2 з них віднесено до серовару О12 і по одній ― до сероварів О1і О3.

Чутливість виділених мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів (до 19 антибіотиків) визначали на середовищі АГВ. Виділені культури мікроорганізмів до жодного антибактеріального препарату не мали високої чутливості. Культури Staph. аureus були чутливими до канаміцину і байтрилу ― 57,79 %, неоміцину ― 55,84 %, мономіцину ― 46,1 %. 80 % культур E. coli були чутливі до байтрилу, 71,76 % до неоміцину, 63,52 % ― до гентаміцину, 56,47 % ― до канаміцину, 54,12 % ― до тетрацикліну. 100 % виділених культур Str. аgalactiae були чутливі до мономіцину, канаміцину, стрептоміцину, гентаміцину, байтрилу, левоміцетину, неоміцину. 50 % культур Ps. aeruginosa виявили чутливість до гентаміцину і 25 % ― до байтрилу, неоміцину і тетрацикліну.

Узагальнюючи результати досліджень чутливості виділених культур до антибактеріальних препаратів, слід зазначити високу резистентність Staph. аureus, E. coli та ін., які переважно є причиною маститів. Надії на успішне використання антибіотиків немає, тому слід вести пошуки інших, ефективніших препаратів.

**Показники резистентності корів, хворих на мастит.** Запальний процес молочної залози, як і інших органів, є складною реакцією організму, що виникає у відповідь на дію патогенних мікроорганізмів. Картина крові корови відображає зміни, що виникають як при гострих, так і хронічних захворюваннях. Для визначення показників резистентності корів, хворих на мастит, ми вивчали клітинні показники (вміст лейкоцитів, лейкограму, фагоцитоз, вміст Т- і В-лімфоцитів) та гуморальні (вміст у сироватці крові імуноглобулінів, імунні комплекси, БАСК, ЛАСК і Ig G, Ig М, Ig А).

*Таблиця 3*

**Показники лейкограми корів, хворих на мастит**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Група  корів | Кількість лейкоцитів,  Г/л  М±m | Базофіли,  М±m | Еозинофіли, М±m | Нейтрофіли | | Лімфоцити, М±m | Моно-  цити, М±m |
| паличко-ядерні, М±m | сегменто-ядерні, М±m |
| Здорові  n=5 | 6,0±0,34 |  |  |  |  |  |  |
| Хворі  маститом з  субкл.переб.  n=10 | 8,7±0,39 |  |  |  |  |  |  |
| Хворі  маститом з клінічним  проявом  n=10 | 9,8±0,8 |  |  |  |  |  |  |

*Примітка:* в чисельнику ― %; в знаменнику ― абсолютна кількість.

\*Р<0,001 у відношенні до здорових корів.

Результати досліджень таблиці 3 відображають зміни, які відбуваються в організмі корів, хворих на мастит. У картині білої крові корів, хворих маститом, відзначається збільшення загальної кількості лейкоцитів при субклінічній формі перебігу на 2,65 Г/л, а при клінічному прояві ― на 3,75 Г/л порівняно зі здоровими. У лейкограмі корів, хворих маститом, встановлено вірогідне збільшення абсолютної кількості еозинофілів, паличкоядерних, сегментоядерних нейтрофілів, а кількість моноцитів мала тенденцію до підвищення. При клінічному перебігу маститу на 114,8 вірогідно зменшується абсолютна кількість лімфоцитів порівняно з показниками корів, хворих маститом з субклінічним перебігом. Збільшення кількості еозинофілів можна пояснити сенсибілізуючими властивостями мікроорганізмів, особливо стафілококів. Підвищення кількості моноцитів у крові корів, хворих маститом з субклінічним перебігом, може бути пов’язане з компенсаторною реакцією організму у відповідь на дефіцит нейтрофільних гранулоцитів фагоцитозу збудників інфекції. При клінічній формі маститу кількість моноцитів знижувалась, що свідчить про тяжкий перебіг захворювання і зниження захисних сил організму.

Розвиток запального процесу в молочній залозі значно вплинув на рівень показників природної резистентності організму корів. Як видно з даних, наведених у таблиці 4, існує залежність фагоцитарної активності нейтрофілів лейкоцитів крові від ступеня перебігу запального процесу. Зокрема, фагоцитарна активність лейкоцитів крові корів, хворих маститом з субклінічним перебігом, як першого бар’єра на шляху збудників інфекції, що брали участь у фагоцитозі, була відповідно на 10,2 % вищою порівняно зі здоровими коровами, а у корів з клінічною формою маститу ― на 7,2 % меншою порівняно з коровами, хворими на мастит з субклінічним перебігом.

*Таблиця 4*

**Показники опсонофагоцитарної реакції крові корів, хворих на мастит**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Група корів | Показники ОФР | |
| ФА %  М±m | ФІ  М±m |
| Здорові n=5 | 45,0±2,1 | 8,2±1,7 |
| Хворі маститом з субкл. переб.  n=10 | 55,2±2,4\* | 8,5±2,1 |
| Хворі  маститом з клінічн. проявом  n=10 | 48,0±2,1º | 4,7±1,8 |

*Примітка:* \* ― Р<0,001 порівняно зі здоровими коровами;

о ― Р<0,001 порівняно з хворими з субклінічним перебігом.

Індекс фагоцитозу в корів, хворих на мастит з субклінічним перебігом, мав тенденцію до підвищення, а у корів з клінічно вираженою формою маститу суттєво знижувався ― на 3,5 (Р<0,001). Отримані дані свідчать про те, що чим важче протікає запальний процес, тим більше пригнічуються захисні реакції ФІ.

*Таблиця 5*

**Показники Т- і В-лімфоцитів периферійної крові корів, хворих на мастит**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показники | Контрольна  група,  n=5 | Корови, хворі маститом | |
| субклінічною формою, n=10 | клінічною формою, n=10 |
| Кількість лейкоцитів,  Г/л | 6,1±0,2 | 8,7±0,5 | 9,8±0,8 |
| Лімфоцити, % | 64,8±1,7 | 54,6±2,5 | 47,3±1,0 |
| Абсолютна кількість лімфоцитів у 1 мкл | 3952,8 | 4750,2 | 4635,4 |
| Кількість Т-  лімфоцитів, % | 35,4±0,2 | 25,8±0,4 | 22,8±2,6 |
| Абсолютна кількість Т-лімфоцитів у 1 мкл | 1399,3 | 1225,5 | 1056,8 |
| Кількість В-лімфоцитів, % | 13,6±0,4 | 9,8±0,8 | 8,9±0,3 |
| Абсолютна кількість В-лімфоцитів у 1 мкл | 537,5 | 465,5 | 412,5 |

Аналіз даних таблиці 5 показує, що імунна система реагувала на дію мікроорганізмів: абсолютна кількість лімфоцитів крові корів, хворих маститом, при субклінічному перебігу збільшувалась на 797,4 на мкл, а при клінічній формі ― на 682,6 на мкл крові. Водночас у корів, хворих на мастит, помітно знижувалась абсолютна кількість Т- і В-лімфоцитів: при субклінічному перебігу Т-лімфоцитів ― на 173,8 на мкл крові, В-лімфоцитів ― на 72 на мкл крові. При клінічній формі перебігу встановлено ще більше зниження абсолютної кількості Т-лімфоцитів ― на 34,2, В-лімфоцитів ― на 125 мкл крові. Наведені дані свідчать про те, що з розвитком запального процесу збільшується абсолютна кількість лімфоцитів і зменшується абсолютна кількість Т- і В-лімфоцитів. Запальні процеси в організмі тварин значною мірою визначаються станом природної резистентності. Показникирезистентності корів, хворих на мастит, визначали за класами імуноглобулінів, циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), БАСК, ЛАСК порівняно зі здоровими.

*Таблиця 6*

**Концентрація імуноглобулінів, ЦІК, БАСК і ЛАСК в сироватці крові корів, хворих на мастит**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Показники | Контрольна група корів  n=5 | Корови, хворі маститом | |
| з субклінічним перебігом n=10 | з клінічною формою перебігу  n=10 |
| Ig  в сироватці  крові | Ig G мг/мл | 20,1±1,2 | 22,1±0,9 | 24,2±0,9 |
| Ig М мг/мл | 1,6±0,2 | 1,3±0,1 | 1,2±0,2 |
| Ig А мг/мл | 0,5±0,01 | 0,6±0,01 | 0,3±0,01 |
| ЦІК, од. | Крупні М±m | 10,4±3,4 | 288±8,58\* | 246±7,08\* |
| Середні  М±m | 68±7,2 | 736±3,65\* | 132±19,1\* |
| Дрібні  М±m | 190±24,68 | 230±13,3\* | 668±25,5\* |
| БАСК % | | 68,7±2,2 | 55,5±1,3\* | 47,4±2,3\* |
| ЛАСК % | | 25,1±1,8 | 14,3±2,1\* | 10,1±1,6\* |

*Примітка:* \*Р<0,001 порівняно зі здоровими коровами.

У корів, хворих маститом з субклінічним перебігом, концентрація Ig G була на 2 мг/мл, а при клінічному ― на 4,1 мг/мл більшою порівняно з коровами контрольної групи.

Запальний процес в організмі корів характеризується змінами імунобіологічних реакцій, спрямованих на знешкодження та виділення стороннього антигену. Аутоімунні реакції в організмі характеризуються утворенням специфічних антитіл на аутоантиген і зростанням концентрації середніх молекул імунних комплексів.

Утворення ЦІК є фізіологічним механізмом захисту, який сприяє усуненню ендогенних або екзогенних антигенів. Високий рівень ЦІК у сироватці крові виявлений при запальних процесах. ЦІК ― важливий ланцюг імунітету, він спрямований на нейтралізацію біологічної активності антигенів. Значення ЦІК у патогенезі запальних процесів полягає в їх здатності активізувати ефекторні ланки імунної системи організму, що сприяє формуванню захисних або патологічних процесів. Патогенні властивості імунних комплексів найбільше виражені у малих і середніх розмірів.

Результати досліджень концентрації ЦІК у крові корів, хворих маститом, показали, що при субклінічному перебігу маститу в сироватці крові найбільше було середніх ЦІК. Їх кількість у 10,8 раза перевищувала показники здорових тварин. Дрібних ЦІК було більше у 1,2 раза. При маститі з клінічною формою прояву, кількість дрібних ЦІК була в 3,5 раза, а середніх ― в 1,94 раза більшою порівняно зі здоровими коровами. Отримані результати свідчать про те, що захворювання корів маститом супроводжуються пригніченням захисних сил організму, а саме фагоцитозу. Патологічний процес у вимені хворих маститом корів викликав суттєві зміни факторів неспецифічної резистентності.

Аналіз даних таблиці 6 показує, що у корів, хворих маститом, вірогідно знижується БАСК: при субклінічній формі перебігу маститу ― на 13,2%, а при клінічній формі ― на 21%. Відзначається суттєве зниження ЛАСК крові корів, хворих на мастит, відповідно на 10,8 і 15%. Отримані результати свідчать про пригнічення гуморальних факторів захисту організму корів від збудників маститу.

**Терапевтична ефективність емульсії прополісу.** Проведені бактеріологічні дослідження з визначення чутливості мікрофлори із секрету вим’я корів, хворих маститом, показали високу їх чутливість до 3 % водної емульсії прополісу.

Для лікування корів, хворих на мастит, використовували 3 % водну емульсію прополісу. У двох фермерських господарствах підібрали 65 корів, хворих маститом з субклінічним перебігом, а 12 корів з клінічною формою. Тварин першої групи розділили на дві: корів першої групи лікували 3 % водною емульсією прополісу, а корів другої групи ― мастицидом. Водну емульсію прополісу вводили внутрішньоцистернально по 7 мл в уражені чверті вим’я двічі на добу з інтервалом 12 год протягом 2-х діб, а коровам із клінічною формою маститу 3 % водну емульсію прополісу вводили аналогічно протягом 3-х діб. Коровам контрольної групи мастицид вводили в дозі 10 мл 2 рази на добу протягом 2-х діб.

Результати досліджень показали, що лікувальна дія 3 % водної емульсії прополісу забезпечувала видужання корів при субклінічному маститі протягом двох діб після 4-разового її введення. Молоко після лікування не вибраковувалось. 87,5 % корів, хворих на мастит з клінічною формою, видужало на 3-тю добу, тоді як після лікування мастицидом при субклінічному перебігу на 4-ту добу видужало 82,35 %, а з клінічною формою на 6-ту добу видужало лише 50 %. Молоко від цих корів вибраковувалось протягом 7 діб.

Порівняння ефективності лікування корів емульсією прополісу і мастицидом показало низьку ефективність лікування мастицидом. Після 4-разового інтрацистернального введення мастициду у 60 % корів, хворих маститом, через 48 годин із секрету виділялись Staph. aureus і у 40 % випадків ― E. coli. А при застосуванні водної емульсії прополісу Staph. aureus із секрету вим’я корів через 24 години виділено лише в 40 %, а в подальшому мікрофлору не виділяли. Через 7 діб після застосування мастициду у корів повторно діагностували захворювання маститом з субклінічним перебігом. При лікуванні 3 % водною емульсією прополісу протягом періоду спостереження (30 діб) рецидиву хвороби не спостерігали.

Застосування лікарських препаратів впливає не лише на мікроорганізм, а й на стан реактивності організму корови, тому наші дослідження були спрямовані також на вивчення факторів природної резистентності під впливом емульсії прополісу.

Результати досліджень показують, що після лікування корів, хворих на мастит, емульсією прополісу, загальна кількість лейкоцитів крові наблизилась до показників (6,0±0,4 Г/л) контрольної групи. Слід зазначити, що після лікування суттєво знизилася абсолютна кількість базофілів (96,6 на мкл), еозинофілів (на 121,1 на мкл) та відзначалась тенденція до зниження кількості нейтрофілів.

*Таблиця 7*

**Показники лейкограми корів після лікування водною емульсією прополісу**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Група  корів | Кількість лейкоцитів  Г/л М±m | Базофіли,  % М±m | Еозинофіли,  % М±m | Нейтрофіли | | Лімфоцити, % М±m | Моноцити, % М±m |
| паличко-ядерні, % М±m | сегменто-ядерні, % М±m |
| Контрольна група  корови здорові  n=5 | 6,0±0,34 |  |  |  |  |  |  |
| Дослідна група ― корови після лікування  n=9 | 6,0±0,4 |  |  |  |  |  |  |
| Корови, хворі маститом з субклінічним перебігом  n=10 | 8,7±0,39\* |  |  |  |  |  |  |

*Примітка:* в чисельнику ― %; в знаменнику-абсолютна кількість.

\* ― Р<0,001 порівняно із контрольною групою;

\*\* ― Р<0,05 порівняно із контрольною групою.

Серед факторів захисту організму важливе значення має фагоцитарна реакція лейкоцитів крові, вона відображає стан природної резистентності. Застосування водної емульсії прополісу вірогідно сприяло підвищенню ФА нейтрофілів крові на 5,2 % (Р<0,001) і ФІ ― на 0,7 од. порівняно з хворими коровами, і на 15,4 % та 1,0 од., порівняно із здоровими. Отримані результати свідчать про стимулюючу дію прополісу на показники фагоцитозу.

Після лікування корів, хворих на мастит з субклінічною формою перебігу, відмічено вірогідне зниження абсолютної кількості лімфоцитів і вірогідне підвищення рівня абсолютної кількості Т-лімфоцитів. Подібна картина спостерігалась і після лікування корів, хворих на мастит з клінічною формою перебігу. Таким чином, застосування 3 % водної емульсії прополісу для лікування корів, хворих на мастит, сприяє нормалізації клітинних показників резистентності.

Для адекватної оцінки стану організму необхідно вивчити систему, яка відповідає за резистентність. До гуморальних чинників природної резистентності належать: БАСК, ЛАСК, Ig G, Ig М, Ig А і ЦІК.

Матеріали таблиці 8 показують, що БАСК корів після лікування вірогідно підвищилась на 11,8 %, а ЛАСК мала тенденцію до зростання на 3,4 % порівнянно з такою у хворих корів до початку лікування.

При оцінці рівня ЦІК виявлено, що у сироватці крові хворих корів до лікування рівень середніх ЦІК був вищим у 10,82 раза, а дрібних ― у 1,21 раза порівняно зі здоровими тваринами. Після лікування водною емульсією прополісу в сироватці крові рівень ЦІК крупномолекулярних вірогідно знизився на 267,2, середніх ― на 670,6 (Р<0,001), а дрібних мав тенденцію до зниження на 17,7, що пояснюється активацією ОФР.

*Таблиця 8*

**Показники ЦІК, БАСК і ЛАСК корів після лікування водною емульсією прополісу**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Група корів | Період дослід-  ження | Концентрація ЦІК, од. | | | БАСК  %  М±m | ЛАСК  %  М±m |
| крупні  М±m | середні  М±m | дрібно-  молекулярні |
| Контрольна група ― корови здорові n=5 |  | 10,4±3,4 | 68±7,2 | 190±24,68 | 68,7±2,2 | 25,1±1,8 |
| Дослідна група ― корови, хворі маститом n=9 | До лікування | 288±8,58\* | 736±3,65\* | 230±13,3\* | 55,5±1,3 | 14,3±2,1 |
| Після лікування | 20,8±0,8\* | 65,4±2,37\* | 212,3±6,8 | 67,3±1,28\* | 17,7±1,8 |

*Примітка:* \* ― Р<0,001.

Отримані результати свідчать про те, що прополіс стимулює фагоцитоз. Це сприяє зниженню кількості крупно- і середньомолекулярних ЦІК в сироватці крові.

**ВИСНОВКИ**

1. У дисертації представлено результати клінічних, морфологічних, мікробіологічних та імунологічних досліджень з вивчення етіології і патогенезу маститів корів. Обґрунтована роль мікроорганізмів у виникненні маститів у корів.

Для лікування корів, хворих на мастит, запропоновано 3 % водну емульсію прополісу, яка протизапально та згубно діє на мікрофлору вим’я і підвищує неспецифічну резистентність організму корів.

2. Захворюваність корів субклінічною формою маститу в господарствах громадського сектора складає 36,9 %, фермерських господарствах ― 25,96 %, у селянських ― 8,1 %. У перший місяць після отелення виявляється 57,8 % корів, хворих на мастит; у сухостійний період ― 15,2 % і в період запуску ― 12 %. За періодами року найбільша кількість корів, хворих на мастит, виявляється у весняний період ― 45 %.

3. При бактеріологічних дослідженнях секрету із вим’я корів із клінічною формою перебігу маститу виділяли Staph. aureus, Str. agalactiae і асоціації Staph. aureus і E. coli, та E. coli і Ps. аeruginosa; при субклінічному перебігу маститу із секрету виділяли Staph. epidermidis, E. coli, Str. agalactiae і Staph. aureus.

4. Виділення з молока здорових корів патогенної мікрофлори, при відсутності субклінічного прояву маститу, вказує на високу природну резистентність корів.

5. Виділені культури Staph. aureus із секрету вим’я корів, хворих на мастит, володіли патогенними властивостями: коагулювали плазму крові, гемолізували еритроцити, типувались набором фагів (78, 102, 107 та їх асоціацією); культури Str. agalactiae давали позитивний САМР-тест, гемолізували еритроцити; при субклінічній формі маститу було виділено 12 культур E. coli, при клінічній формі маститу 48 культур E. coli, які аглютинувалися О-колі аглютинуючими сироватками (О15, О20, О71, О101, О120).

6. У крові корів, хворих на мастит, встановлено збільшення кількості лейкоцитів, абсолютної кількості еозинофілів. При субклінічній формі перебігу маститу була підвищена фагоцитарна активність нейтрофільних лейкоцитів, а при клінічному маститі ― пригнічена. У корів, хворих маститом, знижувалась абсолютна кількість Т- і В-лімфоцитів: при субклінічному перебігу Т-лімфоцитів ― на 173,8 на мкл крові, В-лімфоцитів ― на 72 на мкл крові, а при клінічній формі Т-лімфоцитів ― на 34,2, В-лімфоцитів ― на 125 мкл крові.

7. У корів, хворих на мастит з субклінічним перебігом, встановлено підвищення вмісту в сироватці крові IgG на 2 мг/мл, а при клінічному на 4,1 мг/мл. Рівень ЦІК підвищувався при субклінічному маститі: середньомолекулярні на 668 од., а дрібномолекулярні на 40 од., а при клінічній формі на 64 і 478 од., порівняно із здоровими коровами.

8. При субклінічному перебігу маститу бактерицидна активність сироватки крові знижується на 13,2 %, лізоцимна активність сироватки крові ― на 10,8 %. При клінічному перебігу маститу бактерицидна активність сироватки крові знижується на 21,3 %, лізоцимна активність сироватки крові ― на 15 %.

9. 3 % емульсія прополісу володіє протизапальною і бактерицидною дією. Інтрацистернальне введення емульсії прополісу в уражену частку вим’я коровам, хворим на мастит, в дозі 7 мл з інтервалом 12 годин протягом 2-х діб сприяє видужанню корів і не впливає на якість молока.

10. 3 % емульсія прополісу володіє імуномодулюючими властивостями: збільшує абсолютну кількість Т-лімфоцитів на 14,4 %, фагоцитарну активність на 5,2 %, підвищує функціональну активність Т- і В-лімфоцитів на 4,3 % і на 3,4 % відповідно, бактерицидну активність сироватки крові ― на 11,8 % і лізоцимну активність сироватки крові ― на 3,4 %.

**ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

Для лікування корів субклінічною та клінічною форм маститів рекомендуємо використовувати 3 % водну емульсію прополісу. При субклінічній формі маститу 3 % водну емульсію прополісу вводили інтрацистернально в уражену частку вим’я коровам в дозі 7 мл з інтервалом 12 годин протягом 2-х діб, а коровам з клінічною формою маститу вводили аналогічно протягом 3-х діб. 3 % водна емульсія прополісу за результатами досліджень володіє протизапальною і імуномодулюючою та бактерицидною дією.

**Перелік наукових робіт, опублікованих за темою дисертації**

1. *Левківська Н. Д.* Роль мікрофлори у виникненні маститів у корів та її чутливість до антибактеріальних препаратів / Н. Д. Левківська // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького. ― Львів, 2006. ― Т. 8, № 2 (29), Ч. 1. ― С. 109―114.

2. *Левківська Н. Д.* Показники резистентності організму корів при субклінічній формі маститу / Н. Д. Левківська // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького. ― Львів, 2006. ― Т. 8, № 3 (30), Ч. 1. ― С. 120―124.

3. *Левківська Н. Д.* Показники імунних комплексів та імуноглобулінів у сироватці крові корів, хворих маститом, після лікування спиртово-водною емульсією прополісу / Н. Д. Левківська // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. ― Львів, 2007. ― Т. 9, № 3 (34), Ч. 1. ― С. 104―106.

4. *Левківська Н. Д.* Прополіс для лікування корів, хворих маститом / Н. Д. Левківська // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. ― Луганськ, 2007. ― Ветеринарні науки № 78/101. ― С. 367―372.

5. *Левківська Н. Д.* Спиртово-водна емульсія прополісу для лікування корів, хворих маститом / Н. Д. Левківська // Вісник Сумського національного аграрного університету. ― Суми, 2007. ― Вип. 2 (18). ― С. 77―81.

6. Пат., 25104 Україна, МПК А 61 D 7/00, А 61 К 35/56. Спосіб лікування маститів та корекції імунного статусу у корів / *Н. Д. Левківська,* О. Я. Захарів*.*; винахідники і власник Львівськ. нац. акад. вет. мед. ім. С. З. Гжицького. ― № u 200703095 ; заявл. 23.03.07 ; опубл. 25.07.07, Бюл. № 11.

*(Дисертантом розроблено спосіб лікування, проведені експерименти).*

7. Пат., 27172 Україна, МПК А 61 К 35/64. Імуномодулюючий засіб для лікування маститів у корів / *Левківська Н. Д.*; винахідник і власник Львівськ. нац. акад. вет. мед. ім. С. З. Гжицького. ― № u 200704497 ; заявл. 23.04.07 ; опубл. 25.10.07, Бюл. № 17.

**Левківська Н. Д. Мікрофлора секрету молочної залози та імунологічна реактивність організму корів, хворих на мастит. -** Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 ― ветеринарна мікробіологія та вірусологія. – Одеський державний аграрний університет. ― Одеса, 2008.

Дисертація присвячена вивченню мікрофлори секрету молочної залози, імунного статусу корів, хворих на субклінічний мастит, розробці та апробації методу лікування водною емульсією прополісу.

У результаті проведених досліджень встановлено значне розповсюдження маститів у корів з клінічною та субклінічною формами перебігу, зокрема в громадському секторі ― 36,9 %, фермерських ― 25,96 %, а індивідуальних селянських ― 8,1 % корів, хворих маститом.

Доведено, що основними причинами виникнення маститів у корів є мікроорганізми Staph. aureus, Str. agalactiae та асоціації Staph. aureus, E. coli та інші, а стресові фактори є пусковим механізмом у виникненні маститів.

Вивчено біологічні властивості мікрофлори, виділеної із секрету вим’я корів, хворих на мастит. Обґрунтовано необхідність нових засобів терапії і профілактики маститів у корів. Теоретично і практично обґрунтовано метод лікування корів, хворих на мастит, за допомогою природного препарату прополісу, який володіє антимікробними, протизапальною та імуномодулючою дією і не впливає шкідливо на організм.

**Ключові слова:** мастит, стафілококи, стрептококи, стрес, емульсія прополісу.

**Левкивска Н. Д. Микрофлора секрета молочной железы и иммунологическая реактивность организма коров, больных на мастит.** - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.03 ― ветеринарная микробиология и вирусология. ― Одесский государственный аграрный университет. ― Одесса, 2008.

Диссертация посвящена изучению микрофлоры секрета молочной железы и иммунного статуса коров, больных маститом субклиническим течением, а также разработке и апробации метода лечения коров водной эмульсией прополиса.

В диссертации изложены материалы по распространению маститов у коров. Результаты проведенных исследований показали значительное распространение маститов у коров: в общественном секторе ― 36,9 %, фермерских ― 25,96 % и индивидуальных крестьянских хозяйствах ― 8,1 % коров, больных маститом. По периодах производственного цикла более 57,8 % коров, больных маститом, обнаружили в первый месяц после родов, в сухостойный период ― 15,2 %, а в период запуска ― 12 %.

Доказано, что основным этиологическим фактором в возникновении маститов у коров являются микроорганизмы Staph. aureus, Str. agalactiae и их ассоциации, а пусковым механизмом ― стрессы. Изучены биологические свойства выделенных микроорганизмов. Установлена роль микроорганизмов в снижении показателей естественной резистентности организма коров, больных маститом, что проявлялось снижением абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов, ФА, БАСК и ЛАСК, увеличением содержания ЦИК.

Обоснована необходимость поиска новых более эффективных естественных средств терапии и профилактики маститов у коров.

Теоретически и практически обоснован метод лечения коров, больных маститом, с помощью естественного препарата прополиса, который обладает антимикробным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием, безвредный для организма.

**Ключевые слова:** мастит, стафилококки, стрептококки, стресс, эмульсия прополиса.

**Levkivska N. D. Microflora of mammary gland secretion and immune responsiveness of organism of mastitis cows.** - Manuscript

Dissertation and obtaining of scientific degree of candidate of veterinary science in the specialty 16.00.03 ― veterinary microbiology and virology. ― Odessa State Agrarian University. ― Odessa, 2008.

Dissertation is devoted to studying of microflora of mammary gland secretion and immune status of cows, suffered from subclinical mastitis and development and approbation of method of treatment by means of aqueous emulsion of propolis.

As result of conducted research it is determined considerable spreading of mastitis of cows with clinical and subclinical forms of course, in particular at public sector 36.9 %, farm 25.96 %, and individual peasant 8.1 % of cows, suffered from mastitis.

It is proved that main etiological factor of mastitis appearing in cows is microorganisms Staph. aureus, Str. agalactiae and aggregation of Staph. aureus, E. coli and other; and stress factors are starting mechanism concerning mastitis appearing.

It is studied biological characteristics of microflora, excreted from secretion of udders of cows, suffered from mastitis. It is grounded necessity of new methods of therapy and prophylaxis of mastitis of cows. Theoretically and practically it is grounded the method of treatment of cows, suffered from mastitis by means of natural preparation - propolis which has antimicrobic, anti-inflammatory and immune modulated effect and is not harmful for organism.

**Key words:** mastitis, staphylococci, stress, emulsion of propolis.

Підписано до друку 04.06.08 р.

Формат 60х84/16.Ум.арк. 0,9. Тираж 100 прим. Зам. № 76

Віддруковано ТОВ «ІНВАЦ», вул. Рішельєвська, 28, т. 724-07-20

(Свідоцтво АОО № 259183 від 16.10.2003 р.)

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