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

**УкрАїнська академія аграрних наук**

Інститут експериментальної і клінічної

# ветеринарної медицини

Киричко Олена Борисівна

УДК 619:636.2:576.8:612.017:616.07:

616.15:618.19-002

**МІКРОФЛОРА МОЛОКА ТА ПОКАЗНИКИ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ЗДОРОВИХ І ХВОРИХ НА СУБКЛІНІЧНИЙ МАСТИТ КОРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ПОЛТАВСЬКОГО БІШОФІТУ**

###### 16.00.03 – ветеринарна мікробіологія та вірусологія

## автореферат

## дисертації на здобуття наукового ступеня

## кандидата ветеринарних наук

Харків – 2006

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Полтавській державній аграрній академії

Міністерства аграрної політики України.

**Науковий керівник** – доктор ветеринарних наук, професор

#### **Бердник Василь Петрович**,

#### Полтавська державна аграрна академія Міністерства аграрної політики України, завідувач кафедри анатомії і фізіології сільськогосподарських тварин.

### Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук

**Ушкалов Валерій Олександрович**,

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, заступник директора по науковому супроводу виробництва ветеринарних препаратів, завідувач Національного центру штамів мікроорганізмів;

кандидат ветеринарних наук, доцент

**Козловська Ганна Володимирівна**,

Національний аграрний університет Кабінету Міністрів України, доцент кафедри ветеринарно-санітарної експертизи.

**Провідна установа** – Інститут ветеринарної медицини Української академії аграрних наук, лабораторія ветсанекспертизи, м. Київ.

Захист відбудеться “ 5 ” квітня 2006 р. о 900 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.359.01 в Інституті експериментальної і

клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою: 61023, м. Харків,

вул. Пушкінська, 83.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту експериментальної і

клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою: 61023, м. Харків,

вул. Пушкінська, 83.

Автореферат розісланий “ 4 ” березня 2006 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

доктор ветеринарних наук, професор \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ **А.Ф. Бабкін**

загальна характеристика роботи

Актуальність теми. До числа невирішених проблем сучасного тварин­ництва відноситься зниження рівня природної стійкості тварин, викликаного різними факторами. На цьому фоні виникає ряд захворювань, найпоширенішим із яких у молочному скотарстві є субклінічний мастит корів. Він часто залишається непоміченим, оскільки супроводжується збільшенням у молоці кількості лейкоцитів, змінами біохімічних показників і наявністю вірулентних бактерій [Івашура А.І., 1972; Карташова В.М., 1973; Оксамитний М.К., 1973; Хоменко В.І., 1985; Івченко В.М., 1995; Головко А.Н., 2001; Ушкалов В.О., 2001; Гужвінська С.О, 2001; Козловська Г.В., 2000; Зажарська Н.М., 2001; Хазіпов Р.П., 2002; Gibson C.D., 1989; Rainard Р., 1988]. Таке молоко, потрап­ляючи у загальний надій, може стати джерелом захворювань людей і молодняка тварин, спричинених переважно стрепто- і стафілококами.

Існує значна кількість препаратів, що діють на макроорганізм як імуномодулятори та імуностимулятори. Вимогами до таких препаратів є профілактична та лікувальна ефективність, нетоксичність, екологічна чистота, низька вартість тощо. Названим вимогам задовольняє бішофіт. Він є екологічно чистою сумішшю солей – сухим залишком вод колишнього Пермського моря, що утворився близько 270 млн. років на глибині 2500-2700 м. Звідти його добувають у вигляді розчину із загальною мінералізацією 350-450 г/л, в якій переважають солі магнію, натрію, калію, кальцію, окрім того міститься понад 30 мікроелементів (мідь, марганець, залізо тощо). Розчин бішофіту вже знай­шов своє застосування в народному господарстві [Гожик П. і Лукін О., 2000], гуманній медицині [Колесникова Л.Д., 1996; Бажан К.В., 1998; Головкін В.О., 2000; Спасов А.А., 2001 та ін.], а в останні роки – в тваринництві і ветеринарній медицині, зокрема, для підвищення продуктивності тварин [Куликов В.М.,1992, 2005; Кисельов Б.Ю., 2001 та ін.] і лікування хворих при акушерко-гінекологічних та хірургічних патологіях [Бердник В.П., 2000; Аранчій С.В., 2000; Довгопол В.Ф. і Плугатирьов В.П., 2000; Киричко Б.П., 2000 та ін.].

Експериментальними дослідженнями доведено, що розчин полтавського бішофіту має позитивний вплив при ряді захворювань людей та тварин. Однак механізми його дії на бактеріальну флору, імунологічні й фізіологічні показники до цього часу залишаються вивченими недостатньо.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота вико­нувалася згідно з науково-дослідною тематикою кафедри „Мікрофлора молока та резистентність здорових і хворих на субклінічний мастит корів при застосуванні розсолу полтавського бішофіту”, державний реєстраційний номер 0105V001043.

Мета і завдання дослідження. Метою наших досліджень було вивчення мікрофлори молока та деяких показників неспецифічної резистентності організму здорових та хворих на субклінічний мастит корів при застосуванні розчину полтавського бішофіту (РПБ).

Для її досягнення перед нами стояли такі завдання:

– з допомогою клінічних і лабораторних методів вивчити ситуацію щодо захво­рюваності корів на субклінічний мастит у двох господарствах Полтавської області;

– сформувати групи дослідних тварин, хворих на субклінічний мастит, і застосувати їм РПБ;

– виділити культури бактерій із проб молока здорових та хворих на субклінічний мастит корів до та після застосування РПБ, вивчити їх біологічні властивості й ідентифікувати;

– вивчити динаміку показників неспецифічної резистентності здорових і хворих на субклінічний мастит корів до та після застосування РПБ;

– вивчити рівень токсичності РПБ для білих мишей.

*Об’єкт дослідження* – субклінічний мастит корів.

*Предмет* *дослідження* – мікрофлора молока та резистентність здорових і хворих на субклінічний мастит корів при застосуванні РПБ.

Методи дослідження. У процесі виконання роботи користувалися клініч-ними, бактеріологічними, гематологічними, біохімічними, імунологічними, ток-сикологічними, патологоанатомічними та гістологічними методами досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів. Проведені системні моніторингові клінічні та лабораторні дослідження на субклінічний мастит корів двох господарств Полтавської області та молока від клінічно здорових і хворих корів; визначений бактеріальний спектр та біологічні властивості ізольованих мікроорганізмів, що відіграють значну роль у етіології субклінічного маститу корів, до та після застосування РПБ. Вперше одержані дані щодо впливу різних доз РПБ на природні неспецифічні фактори захисту організму корів і білих мишей. Відпрацьована методика і підібрані дози для застосування РПБ із метою підвищення захисних сил організму, зокрема, при субклінічному маститі у корів. Вивчені токсикологічні параметри РПБ у підгострому досліді та його вплив на морфологію внутрішніх органів і деяких імунологічних показників білих мишей. Доведена наявність у РПБ шкірно-резорбтивної та кумулятивної дій, що необхідно враховувати при його застосуванні як фармакологічного препарату.

Практичне значення одержаних результатів. Теоретично обґрунтована та практично доведена можливість і необхідність застосування РПБ для підвищення факторів неспецифічної природної резистентності тварин. Розроблені принципи його дозування та методика застосування як лікувального препарату для тварин. Запропонований удосконалений лабораторний метод діагностики субклінічного маститу корів, що включає схему бактеріологічного дослідження проб молока при субклінічному маститі. Вона передбачає одно­часне виділення імовірних збудників, вивчення їх біологічних властивостей, у тому числі й для виявлення факторів патогенності. Субклінічний мастит легко диференціюється з допомогою запропонованого методу від уражень молочних залоз неінфекційної природи (подразнення вим’я), бактеріоносійства тощо. Зроблено висновок про роль ізольованих культур в етіології маститу.

Результати досліджень, викладені у дисертаційній роботі, застосовуються при лікуванні тварин у господарствах Полтавської області. На їх основі видані „Методичні рекомендації щодо діагностики, профілактики субклінічного маститу корів та боротьби з ним”, які затверджені вченою радою факультету ветеринарної медицини ПДАА та колегією Управління ветеринарної медицини Полтавської області. Одержані результати використовуються в навчальному процесі у Полтавській державній аграрній академії, Національному аграрному університеті та Сумському національному аграрному університеті.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно виконано ввесь обсяг експериментальних досліджень, проведено їх аналіз та узагальнення одержаних результатів.

Апробація результатів дисертації. Основні результати досліджень, які викладені у дисертації, повідомлялися й обговорювалися на Міжнародній науково-практичній конференції “Полтавський бішофіт: набуте та перспективи” (Полтава, 1998), Міжнародній науково-практичній конференції “Екологічні аспекти застосування природних розчинів та мінералів” (Полтава, 1999), Міжнародній науково-практичній конференції “Екологічні проблеми регіону: суть і шляхи вирішення” (Полтава, 1999), Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій десятиріччю факультету ветеринарної медицини ПДАА (Полтава, 2002) та щорічних наукових конференціях професорсько-викладацького складу ПДСГІ та ПДАА (1998-2005).

**Публікації.** Матеріали дисертації опубліковані в 8 наукових працях, із яких 6 статей (3 особистих) – у фахових виданнях, затверджених ВАК України.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається із переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних пропозицій, списку використаних джерел, додатків. Робота викладена на 164 сторінках тексту комп’ютерного набору, має 48 таблиць, 25 рисунків. Список використаних літературних джерел включає 297 найменувань, з яких 51 – із далекого зарубіжжя.

# МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Робота виконана у період із 1997 по 2005 роки на базі наукової лабораторії кафедри анатомії і фізіології сільськогосподарських тварин Полтавської державної аграрної академії, лабораторії епізоотології Полтавської філії Інституту ветеринарної медицини УААН, Великобагачанської районної лабораторії ветеринарної медицини, НДГ “Ювілейний” ПДАА, ССВ ім. Леніна (ТОВ „Довіра”) Великобагачанського району Полтавської області.

У ході виконання роботи користувалися прийнятими клінічними, бактеріологічними, гематологічними, біохімічними, імунологічними, токсико-логічними, патологоанатомічними та гістологічними методами досліджень.

Корів дослідили на мастит за допомогою клініко-епізоотологічних і лабораторних методів із мастидином та підрахунку клітин у молоці [Івашура А.І., 1972; Оксамитний М.К., 1973]. Із виявлених хворих на субклінічний мастит та здорових тварин за принципом аналогів сформували 4 групи по 10 корів у кожній. У першу і другу групи входили тварини, хворі на субклінічний мастит; у третю і четверту – здорові. Коровам першої та третьої груп РПБ втирали у шкіру вимені, переважно ураженої запаленням частки, протягом 5-7 хвилин відразу після доїння з інтервалом 24 години до зникнення ознак захворювання. Корів другої групи лікували традиційним методом – шляхом внутрішньом’язевого застосування антибіотиків (калієвої солі бензілпеніциліну та стрептоміцину сульфату). Попередньо визначали рівень чутливості до них культур бактерій, виділених із проб молока корів, хворих на субклінічний мастит. При цьому застосовували метод паперових дисків, згідно з прийнятою методикою [Івашура А.І., 1972; Оксамитний М.К., 1973]. Корови четвертої групи виступали в якості контролю.

У досліді 2 було 9 груп по 6-10 голів. РПБ застосовували як у досліді 1, але з інтервалами у 12, 24, 48, 60 годин тваринам групи 1, 2, 3 та 4, відповідно. Коровам п’ятої групи випробовували санобіт – препарат, виготовлений на основі РПБ із додаванням аеросилу та новокаїну, який люб’язно надали нам доцентиПлугатирьов В.П. та Довгопол В.Ф. Контрольними були тварини групи 6, хворі на субклінічний мастит, які одержували традиційне лікування, як і в досліді 1, групи 7 – хворі на субклінічний мастит, яких не лікували та груп 8 і 9, які були клінічно здоровими. Коровам групи 8 втирали протягом 5-7 хвилин в шкіру вимені РПБ з інтервалом 24 години, а 9 – нашкірно застосовували фізіологічний розчин.

До застосування РПБ та тричі після цього через кожні 7 діб у корів відбирали проби молока для бактеріологічного дослідження й крові для вивчення динаміки морфологічних, біохімічних та імунологічних показників.

Проби паренхімного молока висівали на МПБ, МПА, сольовий агар з маннітом, МПА із 5% крові вівці, середовища Ендо та Кітт-Тароцці. Із колоній, що виросли, готували мазки і фарбували їх за методом Грама.

Для виділення чистих культур стафілококів та ентеробактерій їх пересівали на МПБ і МПА, стрептококів – на МПБ та МПА із глюкозою. Далі вивчали їх біологічні властивості й ідентифікували до видів, застосовуючи визначник бактерій Бергі. Відповідно до прийнятих методів, культури досліджували на наявність ознак патогенності. У культур стафілококів визначали здатність продукувати коагулазу, розкладати манніт у аеробних та анаеробних умовах, викликати гемоліз еритроцитів, термостійкість ендонуклеази і вірулентність для білих мишей. При вивченні культур стрептококів визначали гемолітичні властивості, стійкість до нагрівання при 60ºС протягом 30 хвилин, ріст при температурі 10º та 45ºС і в бульйоні з 40% жовчі, здатність до гідролізу гіппуровокислого натрію, редукції метиленового синього у молоці, утворення аміаку при рості на пептонному середовищі, розкладу вуглеводів (сахарози, крохмалю, рафінози, лактози, трегалози), амінокислоти аргініну, багатоатомних спиртів та глюкозидів (сорбіту, манніту, саліцину, ескуліну, інуліну та гліцерину), відношення до САМР-тесту, а також вірулентність для білих мишей. У культур кишкової палички вивчали можливість ферментації вуглеводів, сечовини, засвоєння цитрату, зрідження желатину, утворення індолу та сірководню, результати реакцій із метиловим червоним і Фогес-Проскауера та вірулентність для білих мишей. Чутливість виділених культур бактерій до антибіотиків визначали із застосуванням МПА та паперових дисків за прийнятою методикою [Івашура А.І., 1972; Оксамитний М.К., 1973; Карташова В.М., 1973; Голубева И.В. із співавт., 1985; Дьяконов Л.П., 1986; Антонов Б.Н. зі співавт., 1986].

У пробах крові визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів та лейкограму прийнятими методами, гемоглобін – за Салі, ШОЕ – за методом Панченкова. У сироватці крові: загальний білок – біуретовим методом; білкові фракції – експрес-методом Карпюка А.С. [Чумаченко В.Е. із співавт., 1985]; резервну лужність – методом Большакова; неорганічний фосфор – методом Брігса в модифікації Юделевича; кальцій – за де-Ваардом [Кудрявцев А.А., 1984]; магній з використанням кольорової реакції з титановим жовтим – за Кункелем із співавторами в модифікації Петрухіна І.В. [Кондрахин И.П., 1985] і хлор – за Рушняком [Кудрявцев А.А., 1984]. При визначені фагоцитарної активності нейтрофілів, фагоцитарного числа та фагоцитарного індексу використовували як тест-культури штам 209-Р Staph. аureus [Чернушенко Е.Ф., Когосо­ва Л.С.,1987]; бактерицидної активності – фотоелектроколориметричним мето­дом за Смирновою О.В., а як тест-культуру брали штам О-139 E. coli; лізоцимної активності – фотоелектроколориметричним методом Дрофейчука В.Г. у моди­фікації УНДІЕВ, в якості тест-культури був штам 2655 М. lysodeіkticus [Чумачен­ко В.Е. зі співавт., 1985]; комплементарної активності – фотоелектроколоримет­ричним методом з урахуванням 50%-го гемолізу (С’H50) [Резникова Л.С., 1967].

У 3 підгострих дослідах на 80 білих мишах живою масою 20-30 г вивчали токсичність, кумулятивну та шкірно-резорбтивну дії РПБ.

Мишам однієї групи в кожному досліді РПБ втирали протягом 4-5 хвилин у шкіру попередньо вистриженої ділянки на спині, площа якої складала близько 6-7% від загальної поверхні тіла; таку ж частку займала і площа шкіри вим’я корови від її загальної поверхні. Білим мишам решти груп його вводили всере­дину за допомогою гнучкого зонду 14 разів із 24-годинним інтервалом. В якості однократної дози брали таку кількість РПБ, яка містила добову норму магнію, включаючи 130-200 мг його сухого залишку із розрахунку на 1 кг живої маси тіла білої миші. Нативний РПБ перед введенням розводили водою в межах від 1:50 до 1:5 з таким розрахунком, щоб загальний об’єм його дози складав 0,5 мл.

За тваринами встановили постійний клінічний нагляд протягом одного місяця. До початку застосування РПБ та через кожні 7 діб після цього їх зважували і визначали у периферійній крові кількість гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів, лейкограму та опсоно-фагоцитарну активність нейтрофілів. Рівень токсичності РПБ визначали за Саноцьким І.В. (1973).

У мишей досліду 3 вивчали патологоанатомічну картину, відбираючи проби серця, печінки, шлунку, нирок, червоного кісткового мозку та селезінки для гістологічного дослідження згідно з прийнятими методиками [Меркулов Г.А., 1969; Неменова Н.М., 1978; Мажуга П.М., 1978; Хем А., Кормак Д., 1983].

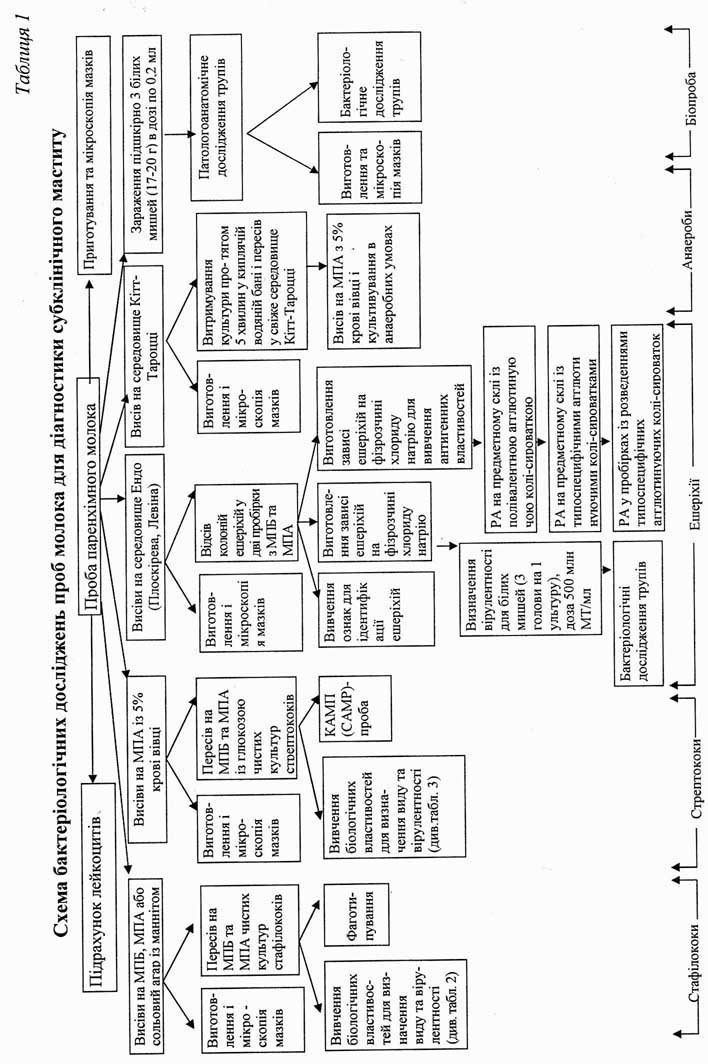
Одержані дані обробили із застосуванням методів варіаційної статистики [Лакін Г.Ф., 1980]. Економічні збитки від субклінічного маститу корів та еконо­мічну ефективність застосування РПБ визначали у навчальному господарстві „Ювілейний” Полтавського району Полтавської області [Панасенко А.К., 1977].

##### *ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ*

**Клініко-епізоотологічні дослідження.** При обстеженні з допомогою епізоото­логічного, клінічного і лабораторних методів стада зі 130 корів одного господарства та 150 – іншого виявили 20 (15,4%) та 46 (30,7%) корів, хворих на субклінічний мастит, і 3 (2,3%) та 4 (2,7%) корови – на серозно-катаральний відповідно.

При втиранні РПБ коровам, хворим на субклінічний мастит, у шкіру вимені через 12, 24, 48 і 60 годин до виліковування оптимальними були 12- та 24-годинний інтервали, при яких спостерігали зникнення ознак захворювання в найкоротший термін та бактерій у пробах молока. Тварини видужували за 2,8±0,4 діб, а при застосуванні антибіотиків – через 4,6±0,3 доби (р<0,001) і не хворіли на мастити впродовж 21 доби (термін спостереження).

**Розробка загальної схеми бактеріологічного дослідження проб молока для діагностики субклінічного маститу корів.** Унаукових публікаціях [Івашура А.І., 1972; Оксамитний М.К., 1973; Карташова В.М., 1973 та ін.] описані методи бактеріологічного дослідження молока, в тому числі й при субклінічному маститі з метою виділення окремих видів бактерій – можливих збудників, вивчення їх біологічних властивостей. Така робота є досить трудо­містка. Тому, з урахуванням літературних та власних даних, ми розробили і пропонуємо спрощену схему бактеріологічного дослідження молока при суб­клінічному маститі, наведену в табл. 1.



Із даних табл. 1 видно, що схема передбачає одночасне застосування методик і живильних середовищ для виділення найбільш імовірних збудників субклінічного маститу, вивчення їх біологічних властивостей для ідентифікації до виду та визначення ознак вірулентності. Запропонована методика значно скорочує час постановки діагнозу захворювання.

**Мікрофлора молока корів до та після застосування РПБ.** Із загального числа культур бактерій, виділених із проб молока хворих на субклінічний мастит корів у досліді 1, більшу частку складали культури Staph. аureus (60,9%), Staph. epidermidis (13,0%) та E. coli (26,1%), а у досліді 2 – Str. agalactiaе (39,9%), Staph. аureus (22,1%), Str. lactis (24,7%), Staph. epidermidis (7,6%), Str. faecalis і E. сoli (3,8 та 1,9%, відповідно). Із проб молока здорових тварин досліду 2 виділяли переважно культури Str. lactis (73,3%), Staph. epidermidis (13,3%), Staph. аureus і Str. faecalis (по 6,7%). Мікробний пейзаж молока клінічно здорових та хворих на субклінічний мастит корів досліду 2 наведені на рис. 1.

Б

А

*Рис.1.* **Мікробний пейзаж молока корів досліду 2: А – хворих на субклінічний мастит, Б – клінічно здорових**

Після нанесення на шкіру і втирання протягом 5-7 хвилин РПБ з інтервалом 12-24 години у хворих корів зникали ознаки субклінічного маститу, а в їх молоці – бактерії із вірулентними властивостями видів Staph. aureus та Str. аgalactiaе і залишалися, переважно, Str. lactis, Str. faecalis, Staph. epidermidis та інші, які нерідко знаходяться у молоці клінічно здорових тварин.

Біологічні властивості культур стафіло- та стрептококів, виділених із молока корів наведені у табл. 2-3.

Із даних табл. 2 видно, що культури Staph. аureus, виділені із проб молока хворих на субклінічний мастит корів до застосування РПБ, продукували плазмокоагулазу і термостійку ендонуклеазу, викликали ферментатацію манніту в аеробних та анаеробних умовах, α- чи β-гемоліз еритроцитів вівці і були вірулентними для білих мишей. Культури стафілококів, ізольовані з молока клінічно здорових корів, не мали термостійкої ендонуклеази і були авірулентними для білих мишей. Із проб молока корів, які видужали від субклінічного маститу після застосування РПБ з інтервалом в 24 години, ізолювали лише культури Staph. аureus, що продукували плазмокоагулазу та розкладали манніт в аеробних умовах. Решту названих вище видів бактерій не виділяли. У міру збільшення інтервалу між нашкірним застосуванням РПБ із молока корів почали виділяти культури Staph. аureus, з ознаками патогенності, такими як ферментація манніту в аеробних та анаеробних умовах, гемоліз еритроцитів вівці тощо. Проте у цих культур, як і в ізольованих від клінічно здорових корів, не виявили термостійкої ендонуклеази та вірулентних властивостей по відношенню до білих мишей.

*Таблиця 2*

###### Біологічні властивості культур стафілококів, виділених із молока корів досліду 2

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Види бактерій | n | | | Проду-кування коагулази | | | | Ферментація манніту | | | | | Гемо-ліз | | | Термостій-кість ендо-нуклеази | | | Вірулент-ність для білих мишей |
| в аеробних умовах | в анаербних умовах | | | | α | β | δ |
| *До застосування препаратів* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Від хворих на субклінічний мастит корів | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Staph.аureus | 10 | | | + | | | | + | | + | | | + | - | - | + | | + | |
| Staph.аureus | 9 | | | + | | | | + | | + | | | + | - | - | + | | - | |
| Staph.аureus | 16 | | | + | | | | + | | + | | | - | + | - | + | | + | |
| Staph.epidermidis | 12 | | | - | | | | + | | - | | | - | - | - | - | | - | |
| Від здорових корів | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Staph.аureus | 2 | | | + | | | | + | | + | | | + | - | - | - | | - | |
| Staph.epidermidis | 4 | | | - | | | | + | | - | | | - | - | - | - | | - | |
| *Після застосування препаратів* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 група – РПБ з інтервалом 24 годин | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Staph.аureus | 1 | | | + | | | | + | | - | | | - | - | - | - | | - | |
| 3 група – РПБ з інтервалом 48 годин | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Staph.аureus | 4 | | | + | | | | + | | | + | | + | - | - | - | | - | |
| Staph.аureus | 2 | | | + | | | | + | | | - | | - | - | - | - | | - | |
| 4 група – РПБ з інтервалом 60 годин | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Staph.аureus | | 1 | | | | + | + | | | | + | | + | - | - | - | - | | |
| Контроль | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 група – хворі тварини | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Staph.аureus | | | 5 | | + | | | + | | | | + | - | + | - | + | | + | |
| Staph.аureus | | | 1 | | + | | | + | | | | + | + | - | - | + | | + | |
| Staph.epidermidis | | | 7 | | - | | | + | | | | - | - | - | - | - | | - | |
| 9 група – клінічно здорові тварини | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Staph.аureus | | | 1 | | + | | | + | | | | - | - | - | - | - | | - | |
| Staph.epidermidis | | | 2 | | - | | | + | | | | - | - | - | - | - | | - | |

Примітка. Із молока корів груп 1, 5, 6, 8 культур стафілококів не виділено.

***Таблиця 3***

**Біологічні властивості культур стрептококів, виділених із молока корів досліду 2**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Види  бактерій | n | Типи гемолізу еритроцитів вівці | | | Розчинний гемолізин | Резистентність до нагрі­вання при 60˚С 30 хв. | Редукція метиленового синього у молоці | Ріст при темпера­турі, ˚С | | Гідроліз гіпуровокислого Na | Ріст на бульйоні з 40% жовчі | САМР-тест | Утворення NH3 при рості на пептонному середовищі | Ферментація | | | | | | | | | | | | Вірулентність для білих мишей |
| α | β | γ | 10 | 45 | сахарози | крохмалю | рафінози | лактози | трегалози | аргініну | сорбіту | манніту | саліцину | інуліну | ескуліну | гліцерину |
| *До застосування препаратів:*  Хворі на субклінічний мастит | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Str.agalactiaе | 49 | - | + | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | - | - | + |
| Str.agalactiaе | 16 | - | - | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | - | - | - |
| Str.lactis | 39 | - | - | - | - | - | + | + | - | + | + | - | + | + | - | - | + | - | + | - | + | + | - | + | - | - |
| Str.faecalis | 8 | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | - | - | + | - | + | - | + | - | - | + | - | -  10 |
| Клінічно здорові | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Str.lactis | 22 | - | - | - | - | - | + | + | - | + | + | - | + | + | - | - | + | - | + | - | + | + | - | + | - | - |
| Str.faecalis | 2 | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | - | - | + | - | + | - | + | - | - | + | - | - |
| *Після застосування препаратів*: Група 3 – РПБ з інтервалом 48 годин | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Str.agalactiaе | 1 | - | - | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | - | - | + |
| Str.agalactiaе | 2 | - | - | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | - | - | - |
| Str.lactis | 2 | - | - | - | - | - | + | + | - | + | + | - | + | + | - | - | + | - | + | - | + | + | - | + | - | - |
| Група 4 – РПБ з інтервалом 60 годин | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Str.agalactiaе | 3 | - | - | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | - | - | + |
| Str.agalactiaе | 1 | - | + | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | - | - | + |
| Str.agalactiaе | 2 | - | + | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | - | - | - |
| Str.lactis | 8 | - | - | - | - | - | + | + | - | + | + | - | + | + | - | - | + | - | + | - | - | + | - | + | - | - |
| Група 5 – санобіт з інтервалом 24 годин | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Str.lactis | 2 | - | - | - | - | - | + | + | - | + | + | - | + | + | - | - | + | - | + | - | - | + | - | + | - | - |
| Група 6 – антибіотики | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Str.agalactiaе | 1 | - | - | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | - | - | - |
| Група 7 – хворі тварини | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Str.agalactiaе | 7 | - | + | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | - | - | + |
| Str.agalactiaе | 2 | - | - | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | - | - | + |
| Str.agalactiaе | 2 | - | - | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | - | - | - |
| Str.faecalis | 2 | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | - | - | + | - | + | - | + | - | - | + | - | - |
| Група 9 – здорові тварини | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Str.lactis | 3 | - | - | - | - | - | + | + | - | + | + | - | + | + | - | - | + | - | + | - | + | + | - | + | - | - |

Дані табл. 3 показують, що із молока хворих корів виділили 65 культур Str. аgalactiaе. Вони мали в основному подібні біологічні властивості, описані в літературі, однак 49 (75,4%) із них були вірулентними для білих мишей і продукували β-гемолізин, а 16 (24,6%) цих властивостей не мали.

Культури Str. аgalactiaе не ізолювали із проб молока клінічно здорових корів і вилікуваних від субклінічного маститу з допомогою антибіотиків та РПБ, який застосовували з інтервалами 12 та 24 години до повного одужання. При 48 та 60-годинних інтервалах результати їх ізоляції були позитивними, але вони мали варіанти щодо гемолізу еритроцитів овець на кров’яному агарі та вірулентності для білих мишей.

Культури Str. lactis у біологічному відношенні були ідентичними незалежно від часу виділення – до чи після застосування РПБ.

**Показники природної резистентності організму здорових і хворих на субклінічний мастит корів до та після застосування РПБ.** Результати цих досліджень наведені у табл. 4 та 5.

*Таблиця 4*

**Динаміка показників гуморальної неспецифічної резистентності корів досліду 2, М±m**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Групи  тварин | Бактерицидна активність сироватки крові, % | | Комплементарна  активність сироватки крові, С’Н50 | | Лізоцимна  активність сироватки крові, % | |
| до застосування препаратів | через 7 діб | до застосування препаратів | через 7 діб | до застосування препаратів | через 7 діб |
| 1 | 52,28±1,21 | 65,67±1,31\*\*\* | 0,92±0,08 | 1,78±0,08\*\*\* | 23,57±0,87 | 29,04±0,37\*\* |
| 2 | 51,59±1,12 | 66,74±0,89\*\*\* | 1,07±0,07 | 1,72±0,05\*\*\* | 23,06±0,64 | 28,66±0,37\*\* |
| 3 | 52,94±0,91 | 58,39±1,26 | 1,11±0,11 | 1,43±0,07 | 23,29±0,80 | 25,33±0,79 |
| 4 | 51,21±1,06 | 55,77±1,64 | 0,99±0,10 | 1,18±0,08 | 22,85±0,82 | 23,24±0,61 |
| 5 | 52,88±1,06 | 65,28±1,48\*\*\* | 0,98±0,06 | 1,75±0,08\*\*\* | 22,89±0,92 | 29,35±0,93\*\* |
| 6 | 51,94±1,18 | 53,34±1,61 | 0,95±0,10 | 0,95±0,09 | 23,89±0,92 | 22,94±1,04 |
| 7 | 50,74±0,81 | 51,11±1,39 | 0,98±0,09 | 0,95±0,09 | 23,78±0,78 | 23.80±­0,62 |
| 8 | 55,56±0,89 | 67,48±1,09\*\*\* | 1,21±0,03 | 1,75±0,05\*\*\* | 24,74±0,79 | 28,98±1,01\*\* |
| 9 | 55,48±0,79 | 55,31±1,08 | 1,22±0,09 | 1,25±0,05 | 25,23±0,77 | 24,94±0,89 |

Примітка. \*\*\* – р<0,001;\*\* – р<0,01.

Як видно із даних табл. 4 та 5, у хворих на субклінічний мастит корів, порівняно з контролем, до застосування РПБ спостерігали нижчі (р>0,05) рівні показників бактерицидної активності сироватки крові (БАСК), комплементар­ної активності сироватки крові (КАСК), лізоцимної активності сироватки крові (ЛАСК) та опсоно-фагоцитарної реакції.

На 7 добу після застосування РПБ з інтервалами 12 та 24 години і санобіту показники БАСК, КАСК, ЛАСК та опсоно-фагоцитарної реакції у корів стали достовірно вищими, порівняно з контролем. Так, у корів, які одужали від субклінічного маститу, рівень БАСК був підвищеним до 65,28±1,48-66,74±0,89%, а у здорових тварин – до 67,48±1,09% (контроль 55,31±1,08 %, р<0,001); КАСК – до 1,72±0,05-1,78±0,08 С’Н50 і 1,75±0,05 С’Н50 (контроль 1,25±0,05 С’Н50, р<0,001); ЛАСК – до 28,66±0,37-29,35±0,93% і 28,98±1,01% відповідно (контроль 24,94±0,89 %, р<0,01).

*Таблиця 5*

**Динаміка показників опсоно-фагоцитарної реакції корів досліду 2, М±m**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Групи тварин | Фагоцитарна активність нейтрофілів, % | | Фагоцитарне число, од. | | Фагоцитарний індекс, од. | |
| до застосування препаратів | через 7 діб | до застосування препаратів | через 7 діб | до застосування препаратів | через 7 діб |
| 1 | 46,00±1,06 | 58,67±1,06\*\*\* | 6,59±0,31 | 9,27±0,60\*\* | 3,02±0,12 | 5,42±0,27\*\*\* |
| 2 | 45,70±0,87 | 57,90±1,30\*\*\* | 6,39±0,27 | 9,07±0,37\*\*\* | 2,91±0,13 | 5,25±0,29\*\*\* |
| 3 | 45,83±0,71 | 49,83±0,53 | 6,62±0,25 | 7,35±0,48 | 3,03±0,07 | 3,67±0,30 |
| 4 | 45,50±0,89 | 46,00±1,06 | 6,79±0,39 | 7,02±0,23 | 3,09±0,17 | 3,23±0,10 |
| 5 | 46,67±1,48 | 58,50±1,95\*\*\* | 6,17±0,48 | 9,38±0,64\*\*\* | 2,86±0,18 | 5,50±0,45\*\*\* |
| 6 | 46,50±1,42 | 47,17±1,06 | 6,28±0,40 | 6,31±0,39 | 2,92±0.20 | 2,98±0,22 |
| 7 | 46,17±1,06 | 46,00±0,89 | 6,59±0,33 | 6,52±0,23 | 3,05±0,23 | 3,00±0,14 |
| 8 | 49,50±1,19 | 60,40±1,06\*\*\* | 7,08±0,52 | 9,17±0,41\*\*\* | 3,46±0,16 | 5,55±0,30\*\*\* |
| 9 | 49,17±1,24 | 49,50±0,89 | 7,02±0,56 | 7,11±0,54 | 3,44±0,26 | 3,51±0,19 |

Примітка. \*\*\* – р<0,001;\*\* – р<0,01.

У тварин цих же груп були підвищеними ФА до 57,90±1,30-58,67±1,06% та 60,40±1,06% відповідно (контроль 49,50±0,89 %, р<0,001), ФЧ – до 9,07±0,37 -9,27±0,60 од. та 9,17±0,41 од. (контроль 7,11±0,54 од., р< 0,01-0,001) і ФІ – до 5,25±0,29-5,50±0,45 од. та 5,55±0,30 од. відповідно (контроль 3,51±0,19 од., р<0,001).

Усі названі показники були достовірно вищими (р<0,01-0,001), порівняно з контрольними, у корів тих же груп, як і на 7 добу, також на 14 та 21 добу після початку застосування РПБ та санобіту.

У периферійній крові корів, які одужали від субклінічного маститу після застосування РПБ з інтервалами 12 і 24 години чи санобіту, на 7 добу відмічали достовірне збільшення рівнів еритроцитів до 6,55±0,20-7,48±0,27 Т/л, а у клінічно здорових – до 7,04±0,21 Т/л (контроль 5,74±0,26 Т/л, р<0,05-0,001), гемоглобіну до 117,70±2,16-120,80±5,50 г/л та 121,50±3,79 г/л, відповідно, (контроль 97,50±0,89 г/л, р<0,01-0,001), а в пробах сироваток крові – альбумінів до 35,55±0,82-36,13±0,85% та 36,26±0,20% (контроль 31,72±1,56%, р<0,05-0,01), γ-глобулінів до 35,01±0,77-36,12±0,74% та 36,18±0,74% (контроль 28,15±1,42%, р<0,01) і магнію до 3,86±0,25 ммоль/л та 2,49±0,25 ммоль/л (контроль 1,60±0,12 ммоль/л, р<0,05).

Таким чином, достовірне підвищення рівнів імунологічних і фізіологічних показників спостерігали як у клінічно здорових, так і в хворих на субклінічний мастит корів, після застосування РПБ з інтервалами 12 та 24 години і санобіту.

**Результати вивчення токсичності РПБ на білих мишах.** У трьох дослідах на 80 білих мишах визначили дозу, яка оптимально діяла на їх клінічний стан, фізіологічні та імунологічні показники. На них випробували однократну, двох-, чотирьох- та десятикратну дози. В якості однократної дози взяли таку кількість РПБ, яка вміщала добову норму магнію білих мишей. Результати досліджень показали, що однократною є доза 130-200 мг сухого залишку препарату на 1 кг живої маси тіла тварини. З урахуванням живої маси (20-30 г), кожна із них одержала магнію від 25,7 до 38,5 мг/кг, або в середньому 30,8 мг/кг.

Після застосування РПБ на шкіру або всередину в одно- чи двохкратній дозах у білих мишей спостерігали задовільний клінічний стан та достовірне підвищення рівнів еритроцитів, гемоглобіну та показників опсоно-фагоцитарної реакції нейтрофілів на 7 добу, що зберігалося протягом 28 діб. Так, на 28 добу реєстрували збільшення в крові кількості еритроцитів до 7,79±0,46-9,14±0,49 Т/л (контроль 5,90±0,14 Т/л, р<0,01-0,001), гемоглобіну до 144,00±1,00-149,00±3,30 г/л (контроль 110,50±2,70 г/л, р<0,001), ФА до 74,80±1,29-80,00±1,77% (контроль 63,33±1,68%, р<0,001); ФІ до 7,33±0,19-8,15±0,34 од. (контроль 5,50±0,21 од., р<0,05-0,001; ФЧ до 5,92±0,21-6,09±0,19 од. (контроль 3,48±0,23 од., р<0,01-0,001). На гістологічній картині у селезінці виявили збільшеними в розмірах фолікули до 44,3±3,0 од. (контроль 33,0±2,68 од., р<0,01) та їх росткові зони до 25,6±0,25 од. (контроль 8,8±2,16 од., р<0,001), а в червоному кістковому мозку зросла кількість гемоцитобластів та мегакаріоцитів до 7,67±0,42 (контроль 3,67±0,42, р<0,01), що свідчить про стимуляцію гемопоезу. Гістологічна будова тканин серця, шлунку, печінки та нирок тварин була такою ж, як і в контролі.

РПБ в одно- та двохкратній дозах не викликав отруєння та алергізації білих мишей, легко всмоктувався через шкіру і мав кумулятивну дію. У чотирьох- та десятикратних дозах у них з’являлись ознаки отруєння (зниження апетиту, ерозійний гастрит, білкова дистрофія ниркових канальців тощо) та загибель (LD50 та LD100 відповідно).

ВИСНОВКИ

1. У дисертації наведені результати дослідження дії розчину полтавського бішофіту (РПБ) на видовий склад та біологічні властивості мікрофлори молока, показники природної резистентності клінічно здорових і хворих на субклінічний мастит корів та розробки методів його застосування.
2. При обстеженні з допомогою епізоотологічного, клінічного і лабораторних методів стада із 130 корів одного господарства та 150 – іншого виявили 20 (15,4%) та 46 (30,7%) корів, хворих на субклінічний мастит, і 3 (2,3%) та 4 (2,7%) – серозно-катаральний, відповідно. Так, субклінічний мастит у цих стадах був поширений у 6,7 і 11,5 разів частіше від серозно-катарального.
3. У результаті бактеріологічних досліджень 80 проб молока хворих на субклінічний мастит корів першого господарства виділили 46 культур бактерій, в тому числі 28 (60,9%) Staph. aureus, 12 (26,1%) E. сoli та 6 (13,0%) Staph. epidermidis, а 184 проб іншого – 158 культур, у тому числі 63 (39,9%) Str. аgalactiaе, 35 (22,1%) Staph. aureus, 39 (24,7%) Str. lactis, 12 (7,6%) Staph. epidermidis, 6 (3,8%) Str. faecalis та 3 (1,9%) E. сoli, відповідно. Із 64 проб молока здорових корів ізолювали 30 культур бактерій, із яких віднесли 22 (73,3%) до Str. lactis, 4 (13,3%) Staph. epidermidis, по 2 (по 6,7%) Staph. aureus та Str. faecalis. Таким чином, із молока хворих на субклінічний мастит корів виділили переважно культури Staph. aureus, Str. аgalactiaе і, рідше, – E. сoli; а клінічно здорових – Str. lactis та Staph. epidermidis.
4. Після нанесення на шкіру вимені і втирання протягом 5-7 хвилин РПБ у хворих корів зникали ознаки субклінічного маститу, а в їх молоці – бактерії з вірулентними властивостями видів Staph. aureus та Str. аgalactiaе і залишалися переважно Str. lactis, Str. faecalis, Staph. epidermidis та інші, які нерідко знаходяться у молоці клінічно здорових тварин.
5. При втиранні РПБ коровам, хворим на субклінічний мастит, у шкіру вимені через 12 годин, 24, 48 і 60 годин до виліковування оптимальними були 12- та 24-годинний інтервали, при яких спостерігали зникнення ознак захворювання в найкоротший термін та бактерій у пробах молока, достовірне збільшення рівнів еритроцитів, гемоглобіну та опсоно-фагоцитарної реакції нейтрофілів у периферійній крові, а також бактерицидної, лізоцимної і комплементарної активності сироваток крові, альбумінів і γ-глобулінів у них. Після застосування препарату з 48- та 60- годинними інтервалами динаміка названих показників була менш вираженою і мала варіації в достовірності.
6. Staph. aureus та Str. аgalactiaе, ізольовані від хворих на субклінічний мастит корів до та після застосування РПБ, значно відрізнялися біологічними властивостями. Культури Staph. аureus, виділені з молока до застосування РПБ, мали такі ознаки вірулентності, як наявність плазмокоагулази, термостійкої ендонуклеази, ферментів для розкладання манніту в аеробних і анаеробних умовах, здатність викликати α- чи β-гемоліз еритроцитів вівці та загибель білих мишей, а від вилікуваних при допомозі РПБ чи антибіотиків, як і клінічно здорових тварин, – частину цих ознак: згортали плазму і розкладали манніт лише в аеробних умовах.

Із молока хворих корів виділили 65 культур Str. аgalactiaе, що мали в основному подібні біологічні властивості, описані в літературі, проте 49 (75,4%) із них були вірулентними для білих мишей і продукували β-гемолізин, а 16 (24,6%) цих властивостей не мали. Культури мікроорганізму не ізолювали із проб молока клінічно здорових корів та тих, які одужали від субклінічного маститу після застосування антибіотиків чи РПБ з інтервалом 12-24 години.

1. З урахуванням динаміки фізіологічних та імунологічних показників і гістологічної картини внутрішніх органів білих мишей, яким всередину застосовували РПБ, встановлено, що його однократною дозою є 130-200 мг сухого залишку з розрахунку на 1 кг живої маси тіла.
2. РПБ як фармакологічний препарат в одно- та двохкратній дозах не викликав отруєння та алергізації білих мишей, легко всмоктувався через шкіру, мав кумулятивну та стимулюючу на гемопоез дію; а в чотирьох- та десятикратній – призводив до їх загибелі в 50 та 100% (LD50 та LD100, відповідно) з ознаками отруєння ( загальне пригнічення, зниження апетиту, ерозійний гастрит, білкова дистрофія ниркових канальців тощо).
3. Після застосування РПБ на шкіру чи всередину в одно- та двохкратній дозах у білих мишей спостерігали задовільний клінічний стан та достовірне (р<0,05-0,001) збільшення в крові кількості еритроцитів до 9,14±0,49 Т/л (контроль 5,90±0,14 Т/л), гемоглобіну – до 158,00±3,00 г/л (контроль 112,50±2,50 г/л), показників опсоно-фагоцитарної реакції нейтрофілів (ФА – 80,00±1,68 %, контроль – 64,67±0,84 %; ФІ – 8,24±0,39 од., контроль – 5,61±0,60 од.; ФЧ – 6,43±0,60 од., контроль – 3,63±0,39 од.). На гістологічній картині у селезінці виявили збільшені в розмірах фолікули до 44,3±3,0 од. (контроль – 33,0±2,68 од.) та їх росткові зони – до 25,6±0,25 од. (контроль – 8,8±2,16 од.), а в червоному кістковому мозку підвищення числа гемоцитобластів та мегакаріоцитів – до 7,67±0,42 (контроль 3,67±0,42), що свідчить про стимуляцію гемопоезу. Гістологічна будова тканин серця, шлунку, печінки та нирок тварин була такою ж , як і в контролі.
4. РПБ є біологічно активною речовиною, яка в оптимальній дозі нашкірно чи всередину викликає у тварин стимуляцію гемопоезу та підвищення рівнів показників природної стійкості. У порівнянні з базовим методом, економія затрат при застосуванні РПБ з інтервалом 12-24 години до одужання від субклінічного маститу складає 32,52 гривні на одну корову.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. „Методичні рекомендації щодо діагностики, профілактики субклінічного маститу корів та боротьби з ним”, схвалені вченою радою факультету ветеринарної медицини Полтавської державної аграрної академії (протокол № 2 від 15 лютого 2005 року), колегією Управління ветеринарної медицини Полтавської області (протокол № 6 від 6 червня 2005 року) та подані на затвердження науково-технічної ради Департаменту ветеринарної медицини України.

2. Розроблена схема бактеріологічного дослідження проб молока з метою діагностики субклінічного маститу корів, що передбачає одночасне виділення з однієї його проби найбільш імовірних збудників захворювання з родин стафілококів, стрептококів, ешеріхій та ін.

3. Запропоновано метод застосування РПБ як препарату для стимуляції неспецифічної резистентності організму тварин та лікування хворих на субклінічний мастит корів шляхом втирання РПБ у шкіру вимені, переважно ураженої запаленням частки, протягом 5-7 хвилин зразу після доїння з інтервалом 12-24 годин до зникнення ознак субклінічного маститу.

**Список опублікованих праць**

1. Застосування бішофіту полтавського для лікування корів хворих на мастит / Плугатирьов В.П., Довгопол В.Ф., Бердник В.П., **Адамова /Киричко/ О.Б.**  // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. – Вип. 5, ч. 2. – Біла Церква, 1998. – С. 76 – 79.

*Дисертант проводила нашкірне застосовування розчину полтавського бішофіту коровам, хворим на субклінічний мастит.*

1. **Адамова /Киричко/ О.Б.** Деякі гематологічні, біохімічні та імунологічні показники здорових і хворих на субклінічний мастит корів після нашкірного застосування полтавського бішофіту // Вісник Полтавського державного сільськогосподарського інституту. – 1999. – №. 5 – С. 71 – 73.
2. **Адамова /Киричко/ О.Б.**  Природний мінерал бішофіт та його застосування у ветеринарній медицині // Матеріали науково-практичної конференції “Екологічні проблеми регіону: суть і шляхи вирішення”. – Полтава, 2000. – С. 89 – 91.
3. Бердник В.П., Дорошенко С.В., **Адамова /Киричко/ О.Б.** Клінічні та деякі фізіологічні показники білих мишей при застосуванні бішофіту у підгострому досліді. Повідомлення 1 // Вісник Полтавського державного сільськогосподарського інституту. – 2000. – № 3. – С. 27 – 28.

*Дисертант визначила вміст еритроцитів, гемоглобіну та лейкоцитів у периферійній крові білих мишей на фоні нашкірного та внутрішнього застосування їм розчину полтавського бішофіту.*

1. Маса тіла та деяких внутрішніх органів білих мишей після застосування бішофіту / Бердник В.П., Дорошенко С.В., **Адамова /Киричко/ О.Б.** та ін. // Вісник Полтавського державного сільськогосподарського інституту. – 2000. – № 3. – С. 29 – 30.

*Дисертант проводила патологоанатомічні дослідження та аналіз маси внутрішніх органів білих мишей на фоні нашкірного та внутрішнього застосування їм розчину полтавського бішофіту.*

1. **Киричко О.Б.** Клінічні та деякі фізіологічні показники білих мишей при застосуванні бішофіту у підгострому досліді. Повідомлення 2 // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2004. – № 1. – С. 80 – 82.
2. **Киричко О.** Динаміка гуморальних факторів природної резистентності здорових та хворих на субклінічний мастит корів при застосуванні розсолу полтавського бішофіту // Ветеринарна медицина України. – 2005. – № 7. – С. 37 – 39.
3. Методичні рекомендації щодо діагностики, профілактики субклінічного маститу корів та боротьби з ним / Бердник В.П., Аранчій С.В., Бердник І.Ю., **Киричко О.Б.** та ін. – Полтава, 2005. – 55 с.

*Дисертант запропонувала схему бактеріологічних досліджень субклініч-ного маститу, метод стимуляції резистентності та лікування корів при даній патології.*

**Киричко О.Б. Мікрофлора молока та показники резистентності здорових і хворих на субклінічний мастит корів при застосуванні полтавського бішофіту. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 – ветеринарна мікробіологія та вірусологія. Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН, Харків, 2006.

Дисертація присвячена пошуку засобів та удосконаленню методів підвищення природної резистентності тварин на прикладі субклінічного маститу корів. Із цією метою застосована природна екологічно чиста суміш мінералів – розчин полтавського бішофіту (РПБ). Дослідження були направлені на вивчення складу та властивостей мікрофлори, а також рівнів неспецифічної природної резистентності клінічно здорових і хворих корів до та після застосування РПБ. Як модель для досліджень обрали корів, хворих на субклінічний мастит. Розроблена схема бактеріологічного дослідження молока при даній патології. Запропоновано метод застосування РПБ як препарату для стимуляції неспецифічної резистентності організму тварин та лікування хворих на субклінічний мастит корів шляхом втирання РПБ у шкіру вимені переважно ураженої запаленням частки протягом 5-7 хвилин відразу після доїння з інтервалом 12 і 24 годин. У підгострих дослідах на білих мишах вивчена токсичність і здатність РПБ до кумулятивної та шкірно-резорбтивної дій.

Ключові слова: мікрофлора, резистентність, корови, субклінічний мастит, полтавський бішофіт.

Киричко Е.Б. Микрофлора молока и показатели резистентности здоровых и больных субклиническим маститом коров при применении полтавского бишофита. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

по специальности 16.00.03 – ветеринарная микробиология и вирусология. Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицини УААН, Харьков, 2006.

Диссертация посвящена поиску средств и усовершенствованию методов повышения естественной резистентности животных на примере субклинического мастита коров. Испытана естественная экологически чистая смесь минералов – раствор полтавского бишофита (РПБ). Исследования были направлены на изучение видового состава и свойств микрофлоры, а также факторов неспецифической естественной резистентности клинически здоровых и больных коров до и после применения РПБ. Как модель для исследований служили коровы, больные субклиническим маститом. Разработана схема бактериологического исследования молока при данной патологии.

При эпизоотологическом, клиническом и лабораторном исследованиях молочных стад двух хозяйств Полтавской области выявлен субклинический мастит в 15,4% и 30,7% случаев. В результате бактериологических исследований проб молока больных субклиническим маститом коров первого хозяйства в 60,9% случаев выделены культуры Staph. aureus, 26,1% – E. сoli и 13,0% – Staph. еpidermidis; а другого – в 39,9% – Str. аgalactiaе, 22,1% – Staph. aureus, 24,7% – Str. lactis, 7,6% – Staph. epidermidis, 3,8% – Str. faecalis и 1,9% – E. сoli. Из проб молока здоровых коров в 73,3% случаев изолированы культуры Str. lactis, 13,3% – Staph. epidermidis, по 6,7% – Staph. aureus и Str. faecalis. Таким образом, из молока больных субклиническим маститом коров выделены преимущественно культуры Staph. aureus, Str. аgalactiaе и реже – E. сoli; а клинически здоровых – Str. lactis та Staph. epidermidis.

При втирании РПБ больным субклиническим маститом коровам в кожу вымени через 12 часов, 24, 48 и 60 часов до выздоровления оптимальними были 12- и 24-часовой интервалы, при которых наблюдали исчезновение признаков заболевания в наиболее короткий срок и бактерий в пробах молока.

На 7 сутки применения РПБ с интервалами 12, 24 часа и санобита показатели бактериальной активности сыворотки крови (БАСК), комплементарной активности сыворотки крови (КАСК), лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК) и опсонно-фагоцитарной реакции у коров были достоверно выше, по сравнению с контролем. Так, у коров, которые выздоровели от субклинического мастита, уровень БАСК был повышенным до 65,28±1,48-66,74±0,89 %, а у здоровых коров – до 67,48±1,09 % (контроль 55,31±1,08 %, р<0,001); КАСК – до 1,72±0,05-1,78±0,08 С’Н50 и 1,75±0,05 С’Н50 (контроль 1,25±0,05 С’Н50, р<0,001); ЛАСК – до 28,66±0,37-29,35±0,93 % и 28,98±1,01%, соответственно (контроль 24,94±0,89 %, р<0,01). У коров тех же групп были повышены ФА до 57,90±1,30-58,67±1,06 % и 60,40±1,06 % соответственно (контроль 49,50±0,89 %, р<0,001), ФЧ до 9,07±0,37-9,27±0,60 од. и 9,17±0,41 ед. (контроль 7,11±0,54 ед., р< 0,01-0,001) и ФИ до 5,25±0,29-5,42±0,27ед. и 5,55±0,30 ед., соответственно (контроль 3,51±0,19 ед., р<0,001). Все названные показатели были достоверно высшими (р<0,01-0,001), по сравнению с контролями, у коров тех же груп, как и на 7 сутки, также на 14 и 21 сутки после начала применения РПБ и санобита. В их периферической крови достоверно возросли уровни эритроцитов, гемоглобина, а в пробах сывороток крови – альбуминов, γ-глобулинов и магния.

В трех опытах на белых мышах определили дозу, оптимально действующую на их клиническое состояние, физиологические и иммунологические показатели. На них испытывали однократную, двух-, трех-, четырех- и десятикратную дозы. В качестве однократной дозы брали такое количество РПБ, которое содержало суточную норму магния белых мышей. Результаты исследований показали, что однократной дозой является 130-200 мг сухого остатка из расчета на 1 кг живой массы тела. После применения РПБ на кожу или внутрь в одно- и двухкратной дозах у белых мышей наблюдали удовлетворительное клиническое состояние, достоверное повышение уровней эритроцитов, гемоглобина и показателей опсонно-фагоцитарной реакции нейтрофилов. На гистологической картине селезенки выявили увеличение размеров фолликулов и их ростковых зон, а в красном костном мозге возросло количество гемоцитобластов и мегакариоцитов, что свидетельствует о стимуляции гемопоэза. Гистологическое строение тканей сердца, желудка, печени и почек было таким же, как в контроле.

РПБ как фармакологический препарат в одно- и двухкратной дозах не вызывал отравления и аллергизации организма белых мышей, легко всасывался через кожу и обладал кумулятивным и стимулирующим гемопоэз действием. В четырех- и десятикратных дозах у них появлялись признаки отравления и гибель – LD50 и LD100 ,соответственно.

Ключевые слова: микрофлора, резистентность, коровы, субклинический мастит, полтавский бишофит.

Kirichko E.B. Microflora of milk and resistens of healthy and subclinical mastitis affected cows with use poltava bishofit. – Manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of Veterinary Sciences in speciality 16.00.03. – Veterinary Microbiology and Virology. Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine of Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, Kharkov, 2006.

The thesis is dedicated of the study means and perfection methods increase the natural resistens of animals, subclinical mastitis affected cows example. Use the natural ecologically clean mixture minerals –poltava bishofit solution. The researches have been direct ed to stady of spectrum and properties of microflora and factors of unspecific natural resistens of healthy and subclinical mastitis affected cows before and after using poltava bishofit solution. Cows, affected of subclinical mastitis, have been model of the researches. the scheme of bacteriological research in it’s pathology have been work aut. There have been developed methods of using the poltava bishofit solution as preparation for unspecific resistens stimulation of animals organism and the treatment subclinical mastitis affected cows, with rubed in skin affected part of udder 5-7 minuts after the milk with intervals 12 and 24 hours. In subcute experiment of the white mice have been studed faculty the poltava bishofit solution of cumulative and skin-resorbtive actions.

Key words: microflora, resistens, cows, subclinical mastit, poltava bishofit.

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