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



Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Луганському національному аграрному університеті

Міністерства аграрної політики України

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

|  |
| --- |
| Мороз Іван Герасимович |

Луганський національний аграрний університет,

завідувач кафедри незаразних хвороб тварин

доктор ветеринарних наук, професор

**Харенко Микола Іванович**,

Сумський національний аграрний університет,

завідувач кафедри акушерства і хірургії

**Офіційні опоненти**: доктор ветеринарних наук, професор

**Хомин Степан Петрович,**

Львівська державна академія ветеринарної

медицини ім. С.З.Гжицького, завідувач

кафедри акушерства і штучного осіменіння

кандидат ветеринарних наук, доцент

**Плугатирьов Віктор Павлович**

Полтавська державна аграрна академія,

доцент кафедри ветеринарного акушерства

та штучного осіменіння

**Провідна установа:** Білоцерківський державний аграрний

університет, кафедра акушерства і штучного осіме-

ніння сільськогосподарських тварин. Міністерство

аграрної політики України, м. Б. Церква

Захист відбудеться “\_\_\_”\_\_\_\_\_\_\_\_\_2003 р. о \_\_\_годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 26.004.13 у Національному аграрному університеті за адресою: 03041, м. Київ-41, вул. Героїв оборони, 15, навч. корпус № 3, ауд. 65.

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

Автореферат розісланий “\_\_\_” 2003 р.

Вчений секретар спеціалізованої

вченої ради Лакатош В. М.

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Субклінічний мастит (СМ) – це поширене захворювання корів, яке спричиняє великі економічні збитки пов’язані із зниженням молочної продуктивності, санітарної якості молока, передчасним вибраковуванням корів, збільшенням захворюваності новонароджених телят, порушенням відтворної функції тварин і інші (Ільїн А.І., 1961; Зверєва Г.В., 1970; Івашура А.І., 1972; Мутовін В.І., 1974; Карташова В.М., Слободянік В.І., 1982; Полянцев М.І., 1985; Паріков В.О., 1986; Оксамитний М.К., 1988; Загаєвський І.С., 1992; Хомин С.П., 2000 та ін.). Останнім часом назріла необхідність у пошуках новихвисокоефективних методів лікування корів із СМ, які б не мали негативного побічного впливу, обумовленого присутністю антибіотиків. У ветеринарній практиці лазеротерапія, як простий та екологічно небезпечний метод лікування, з’явилась недавно, тому вивчення її терапевтичної ефективності при СМ, впливу на організм тварини, в тому числі і на молочну залозу порівняно з загальноприйнятими методами лікування є без сумніву доцільним і актуальним. Використання лазерного випромінювання, як нового засобу лікування корів при субклінічному маститі є актуальним на фоні вивчення динаміки показників імунобіологічної реактивності організму та характеру змін гістоструктури молочної залози. Визначення імунологічних параметрів дозволить прогнозувати перебіг захворювання, оцінити ефективність імунокорегуючої терапії, що може бути використано у виробничих умовах для оцінки фізіологічного стану тварин.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є частиною науково-дослідної роботи “Розробка методів підвищення резистентності сільськогосподарських тварин Луганської області” кафедри анатомії і фізіології тварин факультету ветеринарної медицини Луганського національного аграрного університету (номер державної реєстрації 0197U004952).

**Мета і задачі дослідження.** Метою досліджень було вивчення імунобіологічної реактивності організму корів, хворих на субклінічний мастит, та її змін після застосування традиційних методів лікування і лазеротерапії із використанням апарата СТП-5.

Для досягнення мети нами були поставлені такі задачі:

- вивчити показники імунологічної реактивності корів, хворих на субклінічний мастит;

- визначити у порівняльному аспекті терапевтичну ефективність при субклінічному маститі методу лазеротерапії корів та традиційних методів (етіотропний і патогенетичний);

- встановити і з’ясувати характер змін імунологічних, біохімічних і морфологічних показників крові корів, хворих на субклінічний мастит, та гістоструктуру їх молочної залози під впливом лазеро-, етіотропної та патогенетичної терапії;

- визначити економічну ефективність різних методів терапії корів при субклінічному маститі, відібрати з них кращий і запропонувати методику його застосування.

*Об’єкт дослідження –* клінічно здорові та хворі на СМ корови.

*Предмет дослідження* – секрет здорових та уражених СМ чвертей вим’я, проби крові клінічно здорових корів та хворих на СМ після застосування лазеро-, антибіотико- та новокаїнотерапії.

*Методи дослідження.* При виконанні роботи використовували клінічні, цитологічні, бактеріологічні, біохімічні, гематологічні, імунологічні, гістологічні методи дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше встановлено і з’ясовано характер змін імунологічних, біохімічних і морфологічних показників крові, хворих на субклінічний мастит корів та вивчена гістоструктура їх молочної залози під впливом лазеро-, етіотропної- та патогенетичної терапії.

З’ясовано терапевтичну ефективність методу лазеротерапії корів при СМ порівняно з етіотропним та методом патогенетичної терапії, а також проведено розрахунок економічної ефективності вищезгаданого методу, доцільності застосування напівпровідникового лазерного апарата СТП-5.

Науково обґрунтовано результати застосування лазеротерапії корів, хворих на субклінічний мастит, що є пріоритетним науковим досягненням з даної проблеми в умовах України.

**Практичне значення одержаних результатів.** Встановлено показники імунобіологічної реактивності корів, хворих на субклінічний мастит, та їх зміни після застосування традиційних методів та лазеротерапії мають практичне значення в діагностиці, лікуванні та профілактиці патології молочної залози.

Запропонована методика застосування низькоінтенсивного лазерного випромінювання при терапії корів, хворих на СМ, з використанням лазерного апарата СТП-5 впроваджена у трьох господарствах Луганської області, а також впроваджується в господарствах інших областей України.

Матеріали дисертації використовуються при вивченні курсу “Акушерство, гінекологія і біотехнологія розмноження сільськогосподарських тварин” на факультеті ветеринарної медицини та зооінженерному факультеті Луганського і Сумського НАУ. За результатами досліджень, що викладені в дисертації опубліковано методичні рекомендації з діагностики та лазеротерапії маститу у корів, що схвалені науковою радою факультету ветеринарної медицини Луганського ДАУ, затверджені методичною комісією Луганського ДАУ і видані масовим тиражем.

**Особистий внесок здобувача.** Всі дослідження проведено за безпосередньою участю здобувача. Імунологічні дослідження проводились спільно із співробітниками лабораторії кафедри стаціонарної педіатрії Луганського державного медичного університету (ДМУ).

Особисто здобувачем виконано весь обсяг експериментальних досліджень, статистичну обробку даних на персональному комп’ютері за допомогою програми “Gesta”; проведено огляд та аналіз джерел наукової літератури за темою дисертації.

Аналіз та обговорення результатів, підготовку їх до друку та написання дисертації й автореферату здійснено самостійно за допомогою наукового керівника.

**Апробація роботи.** Матеріали дисертації обговорено на:

* 1-й Міжнародній науково-практичної конференції “Сучасні проблеми ветеринарної медицини з питань фізіології і патології відтворення тварин”. Травень 25-26, 2000 року (Київ);
* Міжнародній науково-практичній конференції “Ветеринарна наука на порозі ХХІ віку”, присвяченій 85-річчю від дня народження академіка ВАСГНІЛ І.М. Гладенка. Листопад 12-15, 2000 року (Харків);
* наукових конференціях Луганського ДАУ. 1998, 1999, 2000, 2001 рр. (Луганськ);
* обласних, міських, районних засіданнях і семінарах фахівців ветеринарної медицини Луганської області.

**Публікації.** Основні положення дисертації викладено у 9 наукових працях, з яких особистих – 5, у співавторстві – 4, видано у фахових виданнях 3 праці.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 152 сторінках, складається із вступу, 4-х розділів, висновків та списку використаних джерел, який включає 300 джерел, з них – 64 іноземних; містить 30 таблиць і 15 рисунків.

**ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛ
ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ**

Робота виконана у 1997-2000 рр. на кафедрі незаразних хвороб Луганського державного аграрного університету. Матеріалом власних дослідженьбули корови чорно–рябої породи, що належали дослідному господарству Луганського інституту агропромислового виробництва (ЛІАВ), Слов’яносербського району Луганської області. Для дослідів були відібрані корови віком 3-7 років, середньої вгодованості, масою тіла 400-500 кг із середньорічною продуктивністю 2800 кг, аналоги за тривалістю післяродового періоду, формою маститу, що утримувалися на однаковому раціоні. Годівля дослідних тварин здійснювалась згідно з існуючими нормами. Для досліду з застосування різних терапевтичних засобів було сформовано 5 груп корів, у тому числі 4 дослідні і одну контрольну (табл. 1).

Коровам І групи після старанного здоювання в дійку вводили комбінований хіміотерапевтичний засіб – мастисан-Б, до складу якого входять неоміцин, сульфадимезин та метилурацил, в дозі 5 мл один раз на добу.

Таблиця 1

Схема досліду

|  |  |
| --- | --- |
| Групи корів | Кількість тварин, гол. |
| І дослідна (антибіотикотерапія) | 25 |
| ІІ дослідна (лазеротерапія) | 25 |
| ІІІ дослідна (новокаїнотерапія) | 25 |
| ІV дослідна (не лікували) | 10 |
| Контрольна (клінічно здорові) | 25 |

Корів ІІ групи лікували шляхом опромінювання поверхні ураженої долі вим’я і біологічно активних точок 51, 56, 57, 63 та 64. Лазерний апарат СТП-5 забезпечує лікування низькоінтенсивним лазерним імпульсним випромінюванням ближньої інфрачервоної області спектра від напівпровідникового лазерного діода. Потужність випромінювання 0,3 Вт, довжина хвилі 0,89-0,99 мкм, площа випромінювальної поверхні 0,2-45 см3. Габаритні розміри 180 × 50 × 20, маса з акумуляторами 160 г.

Коровам ІІІ групи вводили 0,5%-й розчин новокаїну у надвим’яний простір за методикою Д.Д. Логвинова. Ін’єкцію робили 1 раз у три доби.

Корів ІV дослідної групи не лікували. У контрольній групі були клінічно здорові тварини.

Визначення причин виникнення та поширення СМ у дослідному господарстві ЛІАВ, оцінку молочної продуктивності корів проводили за допомогою даних амбулаторних журналів лікарів ветеринарної медицини, даних зоотехнічного обліку і власних досліджень.

Діагностику маститів проводили клінічними та лабораторними методами. Клінічні дослідження проводили за загальноприйнятою методикою (Г.Г. Харута, 1997). Лабораторну діагностику проводили безпосередньо у стійлі з використанням 5%-го розчину димастину і 0,5%-го спиртово-водного розчину бромтимолового синього. Результати підтверджували пробою відстоювання. Діагностичну ефективність кожного тесту порівнювали з результатами підрахунку лейкоцитів у 1 см3 молока, який проводили за методом Прескотта-Бріда з фарбуванням мазків за Папенгеймом.

Бактеріологічні дослідження секрету із хворих чвертей вим’я проводили за загальноприйнятими методиками. Ідентифікацію і класифікацію збудника здійснювали за Bergey (1997), І.В. Голубєвою та ін. (1985), Starr et al. (1986). Рівень антибіотикочутливості виділених штамів визначали до 16 антибактеріальних засобів методом паперових дисків і серійних розведень відповідно до “Методических рекомендаций по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных” (Антонов А.И. и др., 1986).

Дослідження крові проводили після встановлення діагнозу на СМ та на 7 добу після одужання. Кількість еритроцитів та лейкоцитів визнача­ли у камері Горяєва, гемоглобін – ціангемоглобіновим методом. Лейкофор­мулу виводили методом підрахунку 200 лейкоцитів у мазках крові, пофарбованих за Романовським-Гімза. Вміст загального білка визначали рефрактометрично за методом Рейса (1975), білкові фракції – електрофорезом на папері за методом В.Є Чумаченко (1990). Імунологічні дослідження проводили за методикою, розробленою співробітниками лабораторії мікробіології та імунології лабораторії біохімії УНДІЄВ (Цимбал А.М., Корчан Н.І., Конаржевський К.Є. та ін., 1983) у лабораторії кафедри госпітальної педіатрії Луганського ДМУ. Фагоцитарну активність нейтрофілів гранулоцитів периферійної крові реєстрували за поглинанням часток латексу (діаметр = 1,0-3,3 мкм) і визначали як відсоткове відношення активних фагоцитів до їх загальної кількості. Метаболічну активність нейтрофілів крові визначали в тесті відновлювання нітросинього тетразолію (НСТ) за методом B.H. Park з співавторами в модифікації Ю.І. Бажори із співавторами. Залежно від різного ступеня інтенсивності специфічного забарвлення досліджувані клітини поділяли на три групи: слабопозитивні (НСТ+), позитивні (НСТ++), різко позитивні (НСТ+++). Вивчення лімфоцитів проводили методом Bojum. Загальну кількість Т-лімфоцитів (Т-лімф) визначали методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана за M. Jondal et al. у модифікації А.Р. Чередєєва із співавторами (1984). Вміст “активованих” (ранніх) лімфоцитів (Т-а) визначали модифікованим методом розеткоутворення за M. Wansbrong-Tones (1979). Визначення числа теофілінчутливих (Т-s) та резистентних до дії теофіліну (Т-х) клітин виконували за методом P. Limatibul et al. (1987). Т-термостабільні (Т-т) ідентифікували як клітини із загальної кількості Т-лімф, які створюють розетки з еритроцитами барана при 37°С. Рівень ЦІК у сироватці крові визначали за M. Digeon et al., у модифікації В.М. Фролова (1986). Оцінка гуморальної ланки імунітету містила визначення кількості В-лімфоцитів (В-лімф) за методом комплементарного розеткоутворення, а також за допомогою моноклональних антитіл СД 19+ (N.F. Mendes et al., 1976). Бактерицидну (БАСК) і лізоцимну (ЛАСК) активність сироватки крові визначали фотонефелометричним методом, модифікованим співробітниками відділу зоогігієни УНДІЕВ (1974).

Для гістологічного дослідження молочної залози матеріал відбирали після забою тварин у господарстві. Із шматочків вимені, розміром 1 × 0,5 см робили гістологічні препарати згідно з методикою (Коротченко М.В., 1987). Матеріал фіксували у 10%-му розчині нейтрального формаліну. Приготовлені зрізи завтовшки 10 мк заливали парафіном та фарбували гематоксиліном–еозином. На препаратах вивчали гістологічні зміни у тканині при СМ та після лікування різними методами.

Економічний ефект методів терапії корів при субклінічному маститі визначали за методикою Ф.Ф. Білоусова із співавт (1982). Статистичну обробку отриманих результатів проводили методом варіаційної статистики на комп’ютері Pentium-3 за програмою Gesta з використанням таблиці Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ**

**Причини поширення і клінічні прояви маститу**

**у корів у дослідному господарстві ЛІАВ Луганської області**

Впродовж 1997-2000 рр. нами було проведено обстеження поголів’я корів, які належали дослідному господарству ЛІАВ Слов’яносербського району Луганської області щодо виявлення різних форм маститу, причин виникнення та поширення СМ у корів. Так, із 1040 досліджених корів 316 тварин (30,4%) були хворими на мастит. Субклінічний мастит виявили у 82,9% хворих тварин; серозний – 8,9%; катар цистерн – 3,8%; катар альвеол – 1,9%; серозно-катаральний і гнійно-катаральний – у 2,5%.

Загальний стан корів, хворих на СМ, не змінювався, не відмічалося змін зовнішнього виду молочної залози. При пальпації тканина чвертей вим’я, уражених субклінічним маститом, була пружньо-еластична, не болюча. При серозному маститі у корів спостерігалося незначне погіршення апетиту, уражені чверті збільшувалися, молочна продуктивність знижувалася. При катаральному і серозно-катаральному маститі секрет із молочної залози був водянистий з пластівцями та згустками казеїну. Уражені чверті збільшувалися, підвищувалася температура шкіри і болючість. При пальпації відчувалися дифузні або локальні ущільнення. Відмічалось зниження продуктивності. Гнійно-катаральний мастит характеризувався пригніченням загального стану тварини, погіршенням або відсутністю апетиту, значним підвищенням температури тіла і різким зниженням надою. Молоко було сірувато-білого або жовтого кольору з домішками пластівців та гною. Уражена чверть збільшувалася, температура шкіри підвищувалася. При пальпації вим’я помірно або значно була виражена болючість і ущільнення тканин.

У 137 (43,4%) корів мастит діагностувалося у передніх чвертях вим’я, а у 179 (56,6%) корів – у задніх. Найчастіше (73,4%) уражалася одна чверть вим’я, рідше дві (19,0%) і тільки як виняток одночасно три (4,7%) або чотири (2,9%). З’ясування причин високої частоти захворювання корів на СМ проводилось за допомогою аналізу різних зовнішніх та внутрішніх чинників, які впливають на організм і молочну залозу корів. Захворюваність корів на СМ була найвищою в осінньо-зимовий та весняний період і значно знижувалась влітку. У 1997-1998 рр. пік захворювання реєстрували у березні, що було обумовлено погіршенням якості кормів, умов утримання та рядом інших факторів, які негативно впливали на загальну резистентність організму та локальну стійкість молочної залози. Спостерігалось поступове зниження захворюваності корів на СМ у 1998 та 1999 році порівняно з 1997 роком, що пов’язано з систематичним проведенням діагностичних досліджень і своєчасним лікуванням хворих тварин з використанням лазерного випромінювання. У перший місяць лактації зареєстровано найвищий відсоток хворих на СМ (32,7%), який поступово знижувався до 4,7% на сьомому місяці лактації. У період запуску кількість хворих на СМ корів зростала на 16,8% і помірно знижувалась у сухостої. Серед етіологічних факторів виникнення СМ у корів значний відсоток належить гінекологічним захворюванням (51,8%), порушенню технології доїння (34%). Відсоток корів, що перехворіли на СМ збільшувався прямо-пропорційно підвищенню молочної продуктивності. У цих тварин відбувалося зниження молочної продуктивності на 18,5% (Р<0,05). Через три тижні після одужання продуктивність підвищувалась лише на 13,6% (Р<0,05), але не досягала початкового рівня. У цілому, в етіологічній структурі СМ у корів велику роль відігравали порушення технологічного процесу виробництва молока, правил машинного доїння та ветеринарно-санітарних правил, що сприяло зниженню резистентності організму, інфікуванню вим’я патогенною і умовно-патогенною мікрофлорою, високій захворюваності тварин на мастит.

**Діагностика субклінічного маститу у корів**

Діагноз на СМ ставили комплексно, з урахуванням результатів ретельного клінічного дослідження молочної залози та використанням порівняльної експрес-діагностики з 5%-м водним розчином димастину та 0,5%‑м спиртово-водним розчином бромтимолового синього. Результати підтверджували пробою відстоювання. За допомогою тесту з 0,5%-м водно-спиртовим розчином бромтимолового синього було виявлено 6,7% хворих на СМ корів; з 5%-м розчином димастину – 7,3%; пробою відстоювання – 4,6%. Слід зазначити, що тест з 0,5% водно-спиртовим розчином бромтимолового синього мав більшу кількість реакцій, які збігалися з результатами проби відстоювання.

Постійною ознакою запального процесу в молочній залозі є підвищення в молоці кількості соматичних клітин, головним чином лейкоцитів. При визначенні корелятивної залежності ефективності експрес-методів діагностики СМ від кількості лейкоцитів у молоці нами встановлено, що результати з 0,5%-м спиртово-водним розчином бромтимолового синього співпадали з результатами підрахунку лейкоцитів у 87,7%, з 5% розчином димастину – у 82,0%, а з пробою відстоювання – у 77,0%. Тест з 0,5%-м спирто-водним розчином бромтимолового синього давав найбільшу кількість позитивних реакцій, що збігалися з результатами підрахунку лейкоцитів в 1 см3 молока.

При СМ у молоці корів на тлі загального збільшення лейкоцитів спостерігалося підвищення нейтрофілів. Якщо в молоці із здорової долі вим’я (в 100 клітинах) їх містилося 40,50±0,42%, то в молоці уражених чвертей вим’я – 78,90±0,69% (Р<0,001). Збільшення нейтрофільних лейкоцитів відбувалося за рахунок зменшення лімфоцитів, моноцитів та інших клітинних елементів.

**Бактеріальна контамінація молока корів, хворих на субклінічний
мастит, та чутливість виділених культур до антибіотиків**

При бактеріологічному дослідженні 64 проб секрету уражених чвертей вим’я із 26 проб виділили стрептококи, що становило 40,6% від загальної кількості досліджених проб. Причому у 15 випадках (23,4%) були виділені патогенні стрептококи (Str.agalactiae) і у 11 пробах (17,2%) – непатогенні.

Стафілококи виділялися із 14 проб секрету (21,9%). Патогенні стафілококи (Staph.aureus) були виділені у 11 випадках (17,2%) і у 3 пробах (4,7%) – непатогенні.

Змішана мікрофлора була встановлена у 6 пробах (7,8%). У чотирьох пробах вона була представлена патогенними стрептококами і стафілококами (6,3%) і у двох випадках – непатогенними стафілококами (3,1%).

За даними, одержаними у нашому досліді 48,9% культур мікроорганізмів, які висівалися із секрету вим’я корів, хворих на СМ, були патогенними.

Виділені культури мікроорганізмів були чутливими до тетрацикліну та неоміцину; умовно чутливими до стрептоміцину (крім Str. dysgalactiae), ристоміцину (крім Staph. saprophitis); відсутня чутливість до пеніциліну, цефаліксину (крім Staph.epidermidis). До тілану, олеандоміцину, поліміксину і хлорамфеніколу була визначена стійкість непатогенних стафілококів і стрептококів у той час, як патогенні стафілококи і стрептококи були чутливими і умовно чутливими. Щодо рифампіцину і ристоміцину, то чутливість до них визначена у Str.epidermidis. До еритроміцину і лінкоміцину були чутливими патогенні стрептококи і стафілококи, проте непатогенні мікроорганізми були умовно чутливими і не чутливими.

За результатами визначення чутливості мікроорганізмів секрету уражених чвертей вим’я ми знайшли можливим застосувати для лікування субклінічного маститу у корів мастисан-Б, до складу якого входять: неоміцин та сульфадимезин.

**Стан імунобіологічної реактивності корів,
хворих на субклінічний мастит**

За результатами досліджень встановлено (табл. 2), що хворі на СМ тварини поступалися здоровим за кількістю в крові еритроцитів (Р<0,001) і вмістом гемоглобіну (Р<0,05).

Щодо лейкоцитів, то їх загальна кількість у хворих на СМ корів зменшувалась на 17% (Р<0,01), що може бути пов’язано з їх міграцією в секрет молочної залози. Значним змінам піддавалася кількість нейтрофілів та лімфоцитів. У корів, хворих на СМ, спостерігалося збільшення вмісту паличкоядерних нейтрофілів більш ніж у два рази (Р**<**0,001**)**. За кількістю лімфоцитів хворі на СМ корови достовірно поступалися здоровим. Відбувається перерозподілення окремих формених елементів крові, яке пов’язане з підвищенням кількості нейтрофілів і зменшенням кількості лімфоцитів. При СМ ми спостерігали нейтрофілію зі зрушенням ядра вліво.

## Таблиця 2

## Морфо-биохімічні показники крові корів (n=10), М±m

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показники | Контрольна група | ІV група  |
| абсол. велич. | % | абсол. велич. | % |
| Еритроцити, Т/л | 5,9±0,3 |  | 5,4±0,2\*\*\* |  |
| Гемоглобін, г/л | 104,0±2,1 |  | 98,9±1,0\* |  |
| Лейкоцити, Г\л | 5,9±0,2 |  | 4,9±0,2\*\* |  |
| Еозинофіли, Г/л | 0,46±0,02 | 7,8±1,5 | 0,49±0,01 | 9,4±0,9 |
| Нейтро-філи, Г/л | паличко-ядерні | 0,20±0,01 | 3,4±0,5 | 0,41±0,01\*\*\* | 8,3±0,4 |
| сегменто-ядерні | 1,05±0,04 | 17,8±0,5 | 1,18±0,01 | 23,1±1,9 |
| Лімфоцити, Г/л | 3,94±0,22 | 66,8±4,0 | 2,56±0,24\*\*\* | 53,0±1,8 |
| Моноцити, Г/л | 0,24±0,04 | 4,1±0,2 | 0,30±0,03 | 6,2±0,8 |
| Загальний білок, г/л | 79,3±2,0 |  | 74,8±0,4\* |  |
| Альбуміни, г/л | 32,0±0,3 | 40,4±0,5 | 28,0±0,4\*\* | 37,4±0,6 |
| Глобуліни, г/лбу-ліни | α1 | 3,6±0,3 | 4,6±0,5 | 4,3±0,4 | 5,7±0,3 |
| α2 | 8,4±0,2 | 10,6±0,4 | 8,2±0,2 | 10,9±0,5 |
| β | 9,8±0,4 | 12,4±0,6 | 10,6±0,6 | 14,2±0,2 |
| γ | 25,3±0,7 | 32,0±1,3 | 23,8±0,8 | 31,8±0,9 |
| А/Г | 0,68±0,02 |  | 0,60±0,01\*\* |  |

Примітка: \*- Р<0,05; \*\*- Р<0,01; \*\*\*- Р<0,001.

При біохімічному дослідженні білкового складу сироватки крові хворих на СМ корів виявлено зменшення вмісту загального білка на 5,7% (Р<0,05), альбумінів на 12,5% (Р<0,01) та фракцій глобулінів на 1,1% (Р**<**0,05). Кількість γ-глобулінів зменшувалась на 5,9% (з 25,3**±**0,7 г/л до 23,8**±**0,8 г/л). При змінах кількості альбумінів порушується їх співвідношення з глобулінами. При СМ у корів альбуміно-глобуліновий коефіцієнт (А/Г) знижувався на 11,8% (Р<0,01) відносно контрольної групи, що свідчить про порушення оптимального співвідношення між фракціями (диспротеїнемію).

При визначені гуморальних факторів захисту (табл. 3) знайдено, що напруження бактерицидної активності сироватки крові корів, хворих на СМ, знижувалася з 71,3**±**1,7% до 56,2**±** 2,5% (Р<0,001). Щодо лізоцимної активності сироватки крові, то хворі корови також поступалися здоровим на 10,6% (Р<0,05). Утворення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) – складний біологічний процес, який відбувається в організмі і тісно пов’язаний з активацією гуморального і клітинного імунітету. Встановлено, що у крові корів, хворих на СМ, кількість великих ЦІК знижувалася на 32,6% порівняно із контрольною групою (Р<0,001). Кількість середніх ЦІК навпаки збільшувалась на 55,6%, але різниця була не достовірна. За вмістом дрібних ЦІК хворі на СМ корови переважали здорових у два рази (Р<0,05).

Одержані результати показали, що у крові корів, хворих на СМ, підвищувався рівень патогенних середньо- та дрібномолекулярних імунних комплексів.

Таблиця 3

Показники неспецифічної резистентності крові корів (n=7), M±m

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показники | Контрольна група | ІV група |
| Абсол.вел. | % | Абсол. вел. | % |
| БАСК, % |  | 71,3±1,7 |  | 56,2±2,5\*\*\* |
| ЛАСК, мкг/мл | 16,0±0,6 |  | 14,3±0,2\* |  |
| ЦІК, од | великі | 96,3±6,4 |  | 64,9±7,6\*\*\* |  |
| середні | 47,7±6,8 |  | 74,2±12,4 |  |
| дрібні | 63,3±8,3 |  | 124,9±27,6\* |  |
| В-лімф, Г/л | 0,90±0,05 | 22,8±0,4 | 0,46±0,02\*\*\* | 17,9±0,6 |
| Т-лімф, Г/л | 1,73±0,04 | 41,4±0,5 | 1,09±0,03\*\*\* | 42,7±0,7 |
| Т-а, Г/л | 0,11±0,07 | 2,79±0,3 | 0,036±0,07\* | 1,4±0,3 |
| Т-т, Г/л | 0,14±0,05 | 3,5±0,6 | 0,12±0,03 | 4,7±0,6 |
| Т-х, Г/л | 1,11±0,08 | 28,2±0,3 | 0,53±0,04\*\*\* | 20,7±0,7 |
| Т-s, Г/л | 0,52±0,05 | 13,2±0,7 | 0,54±0,05\*\*\* | 21,1±0,7 |
| ІРІ, од. | 2,14±0,31 |  | 0,98±0,05\*\* |  |
| ФА, % |  | 73,0±2,0 |  | 73,0±2,2 |
| ФЧ, од. | 3,4±0,3 |  | 3,1±0,3 |  |
| НСТ + |  | 6,0±0,7 |  | 7,2±0,8 |
| НСТ ++ |  | 2,4±0,4 |  | 5,8±0,6\*\*\* |
| НСТ +++ |  | 1,2±0,4 |  | 2,8±0,4\* |

Примітка: \*- Р<0,05; \*\*- Р<0,01; \*\*\*- Р<0,001.

При дослідженні ключових ланок імунної системи встановлено, що у корів, хворих на СМ, кількість Т-лімфоцитів зменшувалась на 37,0% (Р<0,001). За кількістю В-лімф хворі корови поступалися здоровим на 48,9% (Р<0,001). Такі зміни відбувалися на тлі зниження загальної кількості лімфоцитів. Фагоцитарна активність нейтрофілів (ФА) і фагоцитарне число (ФЧ) при СМ у корів знаходилися приблизно на одному рівні з клінічно здоровими. При більш глибокому дослідженні ФА, тобто при вивченні НСТ-тесту, який дає важливу інформацію не тільки про функцію нейтрофілів, але й про їх реакцію на токсичні продукти патологічного процесу та організму взагалі встановлено, що загальна кількість НСТ-позитивних клітин у корів, хворих на СМ, становила 15,8% (загальний рівень НСТ‑позитивних клітин в нормі не повинен перевищувати 8-12%), тоді, як у здорових тварин – 9,6%. Відсоток НСТ+ клітин у корів, хворих на СМ, відповідав показнику контрольної групи, але достовірної різниці не виявлено. Проте спостерігалося збільшення відсотка НСТ++ (Р**<**0,001) та НСТ+++ (Р**<**0,05) клітин. Ці зміни вказують на наявність запального процесу, внаслідок чого відбувається активація кисневозалежного метаболізму клітини. На тлі збільшення загальної кількості нейтрофілів, фагоцитарна активність при СМ у корів не підвищувалася, що свідчить про нездатність нейтрофілів до завершувального фагоцитозу.

Стан ланки імунокомпетентних клітин вивчали за субпопуляціями Т-лімф. При субклінічному маститі імунна система корів реагувала зниженням Т-а на 67,3% (Р**<**0,05), Т-х на 52,3% (Р<0,001) у той час, як рівень Т-s підвищувався на 3,8% (Р<0,001). ІРІ – імунорегуляторний індекс знижувався на 54,3% (Р<0,01). У здорових тварин (контрольна група) він становив 2,14±0,31, у корів, хворих на СМ – 0,98±0,05 (Р<0,01).

Таким чином, при СМ у корів переважним типом зсуву імунорегуляторних субпопуляцій є зниження рівня Т-а і Т-х при збільшенні Т-s і ІРІ.

**Терапевтична ефективність лазерного випромінювання
при субклінічному маститі у корів**

Терапевтична ефективність лазерного випромінювання становила 88,0% (22 гол.) при середній кількості сеансів 3,5. При лікуванні мастисаном-Б тільки 72,0% (18 гол.) при середній кількості сеансів 5. Терапевтична ефективність при застосуванні новокаїнової блокади за Д.Д. Логвиновим становила 84,0% (21 гол.) при 4 сеансах. Слід зазначити, що використання лазерного випромінювання при лікуванні субклінічного маститу дозволяє одержати екологічно чисті продукти тваринництва і зменшити негативну дію на організм фармакологічних засобів, які звичайно використовують з цією метою. При застосуванні лазерного випромінювання не спостерігалося больової реакції на місці аплікації.

Вплив лазерної, етіотропної та патогенетичної терапіїкорів
при субклінічному маститі на її імунологічну реактивність

За результатами проведених дослідів ми встановили, що між морфо-біохімічними і імунологічними показниками крові корів І, ІІ, ІІІ і ІV груп, хворих на субклінічний мастит, не існувало достовірної різниці. Це дозволило вважати, що всі показники у корів, хворих на СМ, знаходяться на одному рівні.

Після одужання корів І, ІІ, ІІІ груп спостерігали наближення кількості еритроцитів і вмісту гемоглобіну до показників контрольної групи. Корови з групи лазеротерапії випереджали контрольних за кількістю еритроцитів на 1,7% (різниця не достовірна) і за вмістом гемоглобіну на 3,8% (Р<0,01), що вказує на властивість лазерного випромінювання стимулювати кровообіг і кровотворення. Відмічено, що у тварин І групи існувала достовірна різниця з коровами ІІ групи за вмістом гемоглобіну (102,6±1,3г/л та 109,0±0,9 г/л відповідно) (Р<0,05), що вказує на пригнічення антибіотиками процесів кровообігу.

За кількістю лейкоцитів і показниками лейкограми корови І, ІІ, ІІІ груп після лікування наближалися до контрольних. Слід відмітити перевагу ІІ групи над іншими дослідними групами за наближенням вмісту лейкоцитів, моноцитів і лімфоцитів після одужання до рівня контрольної групи. Це вказує на позитивну протизапальну дію лазерного випромінювання. За кількістю еозинофілів, нейтрофілів і моноцитів корови І групи переважали контрольних на 11,1%, 3,2%, 8,6% відповідно і поступалися останнім за вмістом лімфоцитів на 8%, але різниця виявилася не достовірною. У корів ІV виявили поступове зниження кількості лейкоцитів (Р<0,05) і лімфоцитів (Р<0,001) та підвищення паличкоядерних нейтрофілів (Р<0,001), що дає підставу вважати про подальший розвиток запального процесу.

Після лікування у корів з групи лазеротерапії (ІІ група) кількість альбумінів, фракцій глобулінів та А/Г знаходилися на одному рівні з контрольними, але існувала достовірна різниця за вмістом загального білка (Р<0,001). Вміст γ-глобулінів у тварин ІІ групи збільшувався на 4,4%, тоді, як кількість α1-та α2-глобулінів незначно знижувалась, що вказує на підсилення імунобіологічних процесів і протизапальну дію лазерного випромінювання. Тварини з групи антибіотикотерапії (І група) поступалися контрольним за вмістом загального білка (75,2±0,5 г/л та 78,9±0,2 г/л відповідно) (Р<0,001), альбумінів (28,8±0,2 г/л та 31,6±0,6 г/л відповідно) (Р<0,001), γ-глобулінів (24,6±0,5 та 25,4±0,8 відповідно) (Р<0,05) та А/Г (0,62±0,02 та 0,67±0,01 відповідно) (Р<0,05), що вказує на диспротеїнемію у крові. Щодо корів з групи новокаїнотерапії (ІІІ), то після одужання вони поступалися контрольним за вмістом загального білка на 3,0% (Р<0,001) і фракцій глобулінів на 3,4% (Р<0,05).

При дослідженні гуморальних факторів резистентності встановлено, що після лікування показники бактерицидної і лізоцимної активності сироватки крові у корів ІІ і ІІІ підвищилися і знаходилися практично на одному рівні з контрольними, що обумовлено підвищенням активності комплементу і стимулюванням мононуклеарної фагоцитарної системи. Це вказує на позитивну дію лазеро- і новокаїнотерапії та перевагу їх над антибіотикотерапією. Щодо циркулюючих імунних комплексів, то у корів ІІ і ІІІ груп не існувало достовірної різниці з контрольними. В той час, як корови І групи поступалися контрольним за кількістю великих ЦІК на 24,3% і перевершували останніх за показником середніх ЦІК на 24,0% та дрібних ЦІК у два рази (Р<0,001), що свідчить про недостатню активацію функціональних систем поліморфноядерних лейкоцитів і мононуклеарів. Низький рівень великих ЦІК і високий – дрібномолекулярних у корів ІV групи вказує на пригнічення фагоцитарної активності нейтрофілів.

Щодо клітинних факторів природної резистентності організму, то у корів ІІ групи рівень ФА і ФЧ максимально наближався до контрольних. Це вказує на підвищення поглинальної здатності нейтрофілів і підвищення резистентності організму. Слід відмітити, що тварини І, ІІ і ІІІ груп перевищували корів ІV групи за ФЧ (Р<0,001).

При визначенні оксиредуктазного потенціалу лейкоцитів встановлено, що відсоток НСТ-реагуючих клітин достовірно знижувався у корів І, ІІ і ІІІ груп. Проте у корів ІІ і ІІІ груп цей показник відповідав рівню здорових тварин (11,8% і 12,0% відповідно), що вказує на підвищення ферментативної активності лейкоцитів. У корів І групи відсоток НСТ-реагуючих клітин становив 12,3% і перевищував рівень контрольних на 2,5%. Істотно збільшувався (3,8±0,4%) порівняно з контролем (2,3±0,2%) відсоток НСТ++ (Р<0,01), що вказує на підвищення метаболічної активності нейтрофілів і пригнічення мононуклеарної фагоцитарної системи. У корів І, ІІ і ІІІ груп спостерігали достовірну різницю з тваринами ІV групи за рівнем ФА (Р<0,05), ФЧ (Р<0,001), відсотком НСТ-реагуючих клітин (Р<0,05).

При визначені стану імунокомпетентних клітин виявлено, що у корів І, ІІ і ІІІ груп після лікування зростала відносна кількість Т- і В-лімф. Під дією лазерного випромінювання (ІІ група) у корів збільшувалась кількість Т-лімф на 66% (з 0,98±0,06 Г/л до 1,63±0,03Г/л) (Р<0,001) і досягала рівня контролю. Щодо В-лімф, то у корів ІІ групи їх кількість наближалась до рівня контрольних (0,72±0,08 Г/л і 0,88±0,04 Г/л відповідно), існуюча різниця не достовірна.

За кількістю Т-лімф корови з групи антибіотикотерапії (І група) наближалися до рівня контрольних. Щодо В-лімф, то їх кількість у корів І групи не досягала показників контрольних (0,68±0,03 Г/л і 0,88±0,04 Г/л відповідно) (Р<0,001), що вказує на пригнічення антибіотиками утворення В-лімф. У корів з групи новокаїнотерапії (ІІІ група) не існувало розбіжностей з тваринами ІІ групи за абсолютною кількістю В-лімф.

При визначені субпопуляцій Т-лімф (рис. 1, 2) встановлено, що у корів І, ІІ і ІІІ груп після лікування ці показники наближалися до рівня контрольних. За кількістю Т-s у корів усіх груп спостерігалося незначне перевищення рівня контрольної групи. Внаслідок цього ІРІ у тварин усіх дослідних груп поступався контрольним, у тому числі у І і ІІ на 20,5%, у ІІІ на 24,1%, але різниця не достовірна. Корови ІІ групи перевершували корів І групи за кількістю Т-а на 3,5% (0,089±0,01 Г/л проти 0,086±0,02 Г/л),

Г/л

Рис. 1. Вміст Т-а і Т-т-лімфоцитів в крові дослідних та контрольної груп

Г/л

Рис. 2. Вміст Т-х, Т-s лімфоцитів та ІРІ в крові дослідних
та контрольної груп

Т-х - на 3,0% (1,03±0,05 Г/л проти 1,0±0,08 Г/л) і корів ІІІ групи за
кількістю Т-х на 7,2% (1,03±0,05 Г/л проти 0,95±0,06). Це свідчить про позитивну дію лазерного випромінювання на імунну систему, зокрема на стимуляцію Т-клітинної ланки. У корів ІV групи протягом терміну спостереження зберігалося достовірне зниження кількості Т-а на 67,3% (Р<0,001), Т-х - на 51,8% (Р<0,001), ІРІ – на 55,5% (Р<0,001) в порівнянні з контрольною групою.

**Вплив лазерної, етіотропної та патогенетичної терапії на гістоструктуру молочної залози корів, хворих на субклінічний мастит**

При гістологічному дослідженні уражених СМ чвертей молочної залози виявлено, що запальний процес носить переважно характер проліферативних змін, як у альвеолярному епітелії, так і у стромі залози. Ці зміни впливають на функціональну здатність молочної залози внаслідок зменшення активно функціонуючої паренхіми. Після лазеротерапії спостерігали зменшення процесів проліферації і альтерації в просвіті альвеолотрубок і в міжальвеолярній тканині. Відновлювалась секреторна функція залозистої тканини. Після антибіотикотерапії зберігалися потовщення у міжчасточковій сполучній тканині та процеси атрофії в окремих часточках. Незворотні атрофічні процеси, які відбулися в паренхімі вим’я, зменшують функціональні можливості молочної залози. Після застосування новокаїнотерапії спостерігалося посилення компенсаторних реакцій, зменшувалися процеси проліферації і альтерації. Секреторні клітини стали високими, але зберігалося розростання міжчасточкової і внутрішньочасточкової сполучної тканини. При цьому окремі атрофічні дольки не відновлювалися і цим зменшували функціональні можливості молочної залози. Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено, що лазерне випромінювання позитивно діє на залозисту тканину вим’я, повністю відновлює секреторну функцію молочної залози і сприяє відновленню молочної продуктивності.

**ВИСНОВКИ**

1. У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі, що виявляється у вивченні показників імунобіологічної реактивності організму корів, хворих на субклінічний мастит та її змін після застосування лазеротерапії; обгрунтування методу лазеротерапії корів, хворих на субклінічний мастит, в основі якого покладено стимулювання імунобіологічної реактивності організму.
2. При субклінічному маститі у корів спостерігається імунодефіцитний стан, про що свідчить зниження досліджуваних показників імунної системи: Т-лімф до 1,09±0,03 Г/л (проти 1,73±0,04 Г/л у клінічно здорових; Р<0,001), В-лімф до 0,46±0,02 Г/л (проти 0,90±0,05 Г/л; Р<0,001), Т-а до 0,036±0,07 Г/л (проти 0,110±0,07 Г/л; Р<0,05), Т-х до 0,53±0,04 Г/л (проти 1,11±0,08 Г/л; Р<0,001), Т-s до 0,54±0,05 Г/л (проти 0,52±0,05 Г/л; Р<0,001), ІРІ до 0,98±0,05 од. (проти 2,14±0,31 од.; Р<0,01).
3. У корів, хворих на субклінічний мастит, відбуваються зміни гуморальних факторів неспецифічного захисту: зменшення БАСК до 56,2±2,5% (проти 71,3±1,7% у клінічно здорових; Р<0,001), ЛАСК до 14,3±0,2 мкг/мл (проти 16,0±0,6мкг/мл; Р<0,05). Збільшення кількості дрібномолекулярних ЦІК до 124,9±27,6 од. (проти 63,3±8,3 од.; Р<0,05).
4. Субклінічний мастит призводить до суттєвих порушень морфо-біохімічного складу крові - зниження кількості еритроцитів до 5,4±0,2 Т/л (проти 5,9±0,3 Т/л у клінічно здорових; Р<0,001), гемоглобіну до 98,9±1,0 г/л (проти 104,0±2,1 г/л; Р<0,05), лейкоцитів до 4,9±0,2 Г/л (проти 5,9±0,2 Г/л; Р<0,01), лімфоцитів до 2,56±0,24 Г/л (проти 3,94±0,22; Р<0,001), загального білка до 74,8±0,4 г/л (проти 79,3±2,0 г/л; Р<0,05), альбумінів до 37,2±0,6 г/л (проти 40,4±0,5; Р<0,01), глобулінів до 46,8±0,1 г/л (проти 47,3±0,2; Р<0,05), А/Г коефіцієнта до 0,60±0,01 (проти 0,68±0,02; Р<0,01).
5. Після лазеротерапії корів, хворих на субклінічний мастит, відбувається наближення морфо-біохімічних і імунологічних показників крові до рівня клінічно здорових тварин, за винятком показника загального білка, який не досягав рівня клінічно здорових тварин на 3,7%.
6. При застосуванні мастисану-Б у крові корів спостерігалося достовірно зменшення вмісту білка, альбумінів, α2- і γ-глобулінів, А/Г порівняно із здоровими тваринами. Щодо стану основних ланок імунної системи, то знайдено достовірно меншу кількість В-лімф та перевищення дрібних ЦІК порівняно із контрольною групою.
7. Новокаїнотерапія виявилася ефективним і доступним методом лікування субклінічного маститу у корів. При лікуванні корів новокаїновими блокадами виявлялась достовірно менша кількість фракцій глобулінів та В‑лімф порівняно з контрольною групою. Решта показників після одужання тварин наближалась до контрольних.
8. Лазеротерапія сприяла швидкому відновленню гістологічної структури паренхіми вим’я хворих корів - припинялися процеси проліферації та альтерації, відновлювалася секреторна функція залозистої тканини, нормалізувалися секреторні процеси в альвеолярному епітелії. Тоді як при лікуванні мастисаном-Б процеси атрофії в окремих місцях часток зберігалися. При новокаїнотерапії посилювалися компенсаторні реакції у залозистій тканині, зменшувалися процеси проліферації і альтерації.
9. Частота захворювання корів на СМ була значно вищою порівняно з клінічними формами маститу. Задні долі вимені уражалися частіше (56,6%) передніх (43,4%). Відсоток захворювання корів на СМ збільшувався з підвищенням їх молочної продуктивності. Найбільший ступінь ураження корів СМ спостерігався у зимово-весняний період, у перший місяць лактації і в період запуску.
10. Лазеротерапія з використанням напівпровідникового лазерного апарату СТП-5 є високоефективним методом лікування СМ у корів. Терапевтична ефективність при його використанні становила 88,0% при курсі лікування 3,5 днів, при лікуванні мастисаном-Б – 72,0% при середній кількості сеансів 5, при використанні новокаїнової блокади за Д.Д. Логвиновим – 84,0% при курсі лікування 4 дня.
11. У молоці уражених долей вим’я виділяється мікрофлора, серед якої переважають стрептококи, в тому числі, Str. agalactiae – 26,6%, Str. dysgalactiae – 6,4%, Str. uberis – 10,9%; із стафілококів – Staph. aureus – 21,9%, Staph. saprophitis – 10,9%; змішана мікрофлора Str. agalactiae + Staph. aureus висівалась у 14,1% проб, Str. epidermidis – 9,2% випадків. Виділена мікрофлора була чутливою до більшості антибіотиків.
12. Економічна ефективність ветеринарних заходів при лазеротерапії становила 30,46 грн., у той час як при антибіотикотерапії – 19,04 грн., а при новокаїнотерапії – 21,60 грн. на 1 грн. затрат.

**ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

1. З метою профілактики клінічних форм маститу, попередження зниження молочної продуктивності корів і одержання молока високої санітарної якості, щорічно в господарствах під час проведення основної гінекологічної диспансеризації (навесні – квітень і восени – жовтень) від контрольних груп тварин досліджувати імунобіологічні показники крові і розглядати їх як діагностично-прогностичні тести щодо вибору і застосуванню відповідних методів терапії субклінічного маститу.
2. Для лікування корів, хворих на субклінічний мастит, рекомендуємо застосовувати високоефективний, екологічно чистий, економічно вигідний метод лазеротерапії з використанням апарату СТП-5 - один раз на день з експозицією 3 хвилини на кожну хвору долю протягом 4-5 днів. Рекомендуємо опромінювати біологічно активні точки вим’я, які розташовані у центрі долі і в основі дійки.
3. З метою прискорення впровадження високоефективного, екологічно чистого і економічно обґрунтованого методу лазеротерапії у практику ветеринарної медицини рекомендуємо господарствам відшукати необхідні резерви для придбання лазерного приладу СТП-5.

**СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Шпилева Л.О. Імунологічні показники крові у корів при субклінічному маститі // Науковий вісник НАУ. - Київ, 2000. - №22. - С. 123‑126.
2. Шпилева Л.О. Вплив лазеротерапії на імунологічні показники крові корів, хворих на субклінічний мастит // Ветеринарна медицина України. - 2000. - №7. - С. 22-23.
3. Шпилева Л.О. Лазер і мастисан-Б при субклінічному маститі у корів // Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків, 2000. – №78. – Т. ІІ. – С 242-247.
4. Шпилевая Л.А. Терапевтическая єффективность лазеротерапии при субклиническом мастите у коров // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 1999. – С. 36-39.
5. Шпилевая Л.А., Пархоменко Л.И. Применение мастисана-Б при субклиническом мастите у коров и его влияние на иммунную систему // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 2000. – С. 83-85.

*Дисертантка вивчила терапевтичну ефективність мастисану-Б при субклінічному маститі у корів і його імунокорегуючу дію на гуморальний та клітинний імунітет.*

1. Методичні рекомендації по діагностиці та лазеротерапії маститу у корів // Мороз І.Г., Руденко А.Ф., Ігнатов М.М., Шпилева Л.О., Зажарська Н,М. – Луганськ, 2000. – 19 с.

*Дисертантка розробила методику лазеротерапії субклінічного маститу у корів.*

1. Шпилевая Л.А. Микрофлора молока, выделяемая при субклиническом мастите у коров // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 2001. – С. 86-88.
2. Мороз И.Г., Руденко А.Ф., Кот В.С., Бублик В.Н., Зажарский В.В., Зажарская Н.Н., Меженская Н.А., Шпилевая Л.А., Фомин С.В., Тресницкий С.Н. Использование этиотропной терапии при акушерско-гинекологических заболеваниях // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 2001. - №12 (24). – С. 65-69.

*Дисертантка провела апробацію лазеротерапії субклінічного маститу у корів.*

1. Мороз И.Г., Шпилевая Л.А. Гистоструктура молочной железы при субклиническом мастите у коров и ее изменение после лазеро- и антибиотикотерапии // Збірник наукових праць Луганського ЛНАУ. – 2002. – С. 59-62.

*Дисертантка провела гістологічні дослідження паренхіми молочної залози при субклінічному маститі у корів та її зміни при застосуванні різних методів лікування.*

**Шпилева Л.О. Іммунобіологічна реактивність корів, хворих на субклінічний мастит, і її зміни після лазеротерапії. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.07 – ветеринарне акушерство. – Національний аграрний університет. – Київ, 2003.

Дисертація присвячена вивченню причин поширення субклінічного маститу у корів, експрес-методів діагностики а також впливу лазерного випромінювання, антибіотиків та новокаїнової блокади на неспецифічну реактивність організму та гістоструктуру молочної залози корів, хворих на субклінічний мастит; визначення ефективності лазеротерапії порівняно з іншими лікувальними методами. В результаті проведених досліджень встановлено, що захворювання корів на субклінічний мастит призводить до порушень морфо-біохімічного складу крові, гуморальних факторів неспецифічного захисту; розвивається імунодефіцитний стан. Комплексно вивчено дію лазерного випромінювання, мастисану-Б та новокаїнової блокади за Д.Д. Логвиновим на гістоструктуру молочної залози. Встановлено, що лазерне випромінювання позитивно діє на залозисту тканину вим’я порівняно з менш ефективною дією антибіотиків. Доведена висока терапевтична ефективність низькоінтенсивного лазерного випромінювання від напівпровідникового діоду при субклінічному маститі у корів. Виявлено позитивну дію лазерного випромінювання на морфо-біохімічні і імунологічні показники крові корів. Доцільно застосовувати лазерне випромінювання при лікуванні субклінічного маститу у корів.

**Ключові слова:** субклінічний мастит, імунобіологічна реактивність, лазеротерапія, антибіотикотерапія, новокаїнотерапія, експрес-методи діагностики, морфо-біохімічні і імунологічні показники крові, неспецифічна резистентність, гістоструктура молочної залози.

**Шпилевая Л.А. Иммунобиологическая реактивность коров, больных субклиническим маститом, и ее изменения после лазеротерапии. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.07 – ветеринарное акушерство. – Национальный аграрный университет. - Киев, 2003.

Диссертация посвященная изучению причин распространения субклинического мастита у коров, экспресс-методов диагностики, а также влиянию лазеротерапии, этиотропного и патогенетического лечения на неспецифическую резистентность и гистоструктуру молочной железы коров, больных субклиническим маститом; определению эффективности лазеротерапии по сравнению с другими методами лечения. В результате проведенных исследований установлено, что у коров, больных субклиническим маститом происходят нарушения морфо-биохимического состава крови, гуморальных факторов неспецифической резистентности; развивается иммунодефицитное состояние.

Анализ результатов бактериологического исследования молока коров, больных субклиническим маститом, показал, что заболевание вызывается не одной культурой микроорганизмов, а их ассоциаций. В хозяйствах Луганской области доминирующими оказались Str.agalactiae и Staph.aureus. Выявлена высокая чувствительность всех выделенных микроорганизмов к неомицину, тетрациклину и канамицину.

Наиболее чувствительным методом экспресс-диагностики субклинического мастита у коров является метод с 0,5%-м спиртово-водным раствором бромтимолового синего (87,7%). При этом он дает наибольшее количество реакций, которые совпадают с результатами подсчета лейкоцитов в 1 см3 молока.

Было изучено действие лазерного излучения, мастисана-Б и новокаиновой блокады по Д.Д. Логвинову на гистоструктуру вымени. Установлено, что лазерное излучение положительно влияет на железистую ткань вымени по сравнению с менее эффективным действием антибиотиков. Доказана высокая терапевтическая эффективность низкоинтенсивного лазерного излучения от полупроводникового диода при субклиническом мастите у коров, которая составила 83,3% при курсе лечения 4,5 дней.

Лазерное излучение оказывает также положительное влияние на морфо-биохимические и иммунологические показатели крови коров. Под действием лазерного излучения увеличивается количество эритроцитов до 5,9±0,02 т/л, гемоглобина до 109,0±0,9 г/л; восстанавливается белковый состав сыворотки крови, при этом содержание γ-глобулинов уменьшается и составляет 32,8±0,7%; стабилизируется функциональное состояние Т-лимф и их субпопуляций, увеличивается количество Т-а (на 100%), Т-х (на 81,6%) и уменьшается – Т-s (на 15,8%).

Целесообразно применять лазерное излучение при лечении субклинического мастита у коров.

**Ключевые слова:** субклинический мастит, иммунобиологическая реактивность, лазеротерапия, антибиотикотерапия, новокаинотерапия, экспресс-метод диагностики, морфо-биохимические и иммунологические показатели крови, неспецифическая резистентность, гистоструктура вымени.

Shpilevaya L.A. Immunebiological reactivity of cows sick on subclinical mastitis and its changing after course of laser therapy. – Manuscript.

Thesis is presented for conferring a scientific degree of the candidate of veterinary sciences on a speciality 16.00.07 - veterinary obstetrics. – National agrarian university, Kiev, 2003.

The dissertation is devoted to studying etiopathogenesis of subclinical mastitis, express diagnostic methods and calculation of leukocytes in udder secret. The outcomes of researches on influence of laser radiation and antibiotics on nonspecific reactivity and udder histostructure of the cows in a case of subclinical mastitis are submitted in a thesis.

Therapeutic efficiency of laser in comparison with other curing methods is detected. By the conducted researches it was established subclinical mastitis lead to essential damage of morphologic-biochemical structure of a blood, humoral parameters of a nonspecific reactivity; immunedeficient state of organism.

For the first time there has been investigated the influence of laser radiation on udder histostructure. At analysis of medical properties of a laser radiation from the semiconducting diode it’s high therapeutic efficiency was established in a case of subclinical mastitis. It is detected the promotind effect of a laser radiation on biochemical, immunological parameters of cows.

In practical conditions for treatment of the cows, ill by a subclinical mastitis, it is expedient to use laser radiation.

**Keywords:** a subclinical mastitis, cows, immunebiological reactivity, laser therapy, antibiotic therapy, express methods of diagnostic of subclinical mastitis, morphologic-biochemical structure of a blood, immune parameters of a blood, factors of nonspecific reactivity of an organism, histostructure of udder.



Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Луганському національному аграрному університеті

Міністерства аграрної політики України

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

|  |
| --- |
| Мороз Іван Герасимович |

Луганський національний аграрний університет,

завідувач кафедри незаразних хвороб тварин

доктор ветеринарних наук, професор

**Харенко Микола Іванович**,

Сумський національний аграрний університет,

завідувач кафедри акушерства і хірургії

**Офіційні опоненти**: доктор ветеринарних наук, професор

**Хомин Степан Петрович,**

Львівська державна академія ветеринарної

медицини ім. С.З.Гжицького, завідувач

кафедри акушерства і штучного осіменіння

кандидат ветеринарних наук, доцент

**Плугатирьов Віктор Павлович**

Полтавська державна аграрна академія,

доцент кафедри ветеринарного акушерства

та штучного осіменіння

**Провідна установа:** Білоцерківський державний аграрний

університет, кафедра акушерства і штучного осіме-

ніння сільськогосподарських тварин. Міністерство

аграрної політики України, м. Б. Церква

Захист відбудеться “\_\_\_”\_\_\_\_\_\_\_\_\_2003 р. о \_\_\_годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 26.004.13 у Національному аграрному університеті за адресою: 03041, м. Київ-41, вул. Героїв оборони, 15, навч. корпус № 3, ауд. 65.

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

Автореферат розісланий “\_\_\_” 2003 р.

Вчений секретар спеціалізованої

вченої ради Лакатош В. М.

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Субклінічний мастит (СМ) – це поширене захворювання корів, яке спричиняє великі економічні збитки пов’язані із зниженням молочної продуктивності, санітарної якості молока, передчасним вибраковуванням корів, збільшенням захворюваності новонароджених телят, порушенням відтворної функції тварин і інші (Ільїн А.І., 1961; Зверєва Г.В., 1970; Івашура А.І., 1972; Мутовін В.І., 1974; Карташова В.М., Слободянік В.І., 1982; Полянцев М.І., 1985; Паріков В.О., 1986; Оксамитний М.К., 1988; Загаєвський І.С., 1992; Хомин С.П., 2000 та ін.). Останнім часом назріла необхідність у пошуках новихвисокоефективних методів лікування корів із СМ, які б не мали негативного побічного впливу, обумовленого присутністю антибіотиків. У ветеринарній практиці лазеротерапія, як простий та екологічно небезпечний метод лікування, з’явилась недавно, тому вивчення її терапевтичної ефективності при СМ, впливу на організм тварини, в тому числі і на молочну залозу порівняно з загальноприйнятими методами лікування є без сумніву доцільним і актуальним. Використання лазерного випромінювання, як нового засобу лікування корів при субклінічному маститі є актуальним на фоні вивчення динаміки показників імунобіологічної реактивності організму та характеру змін гістоструктури молочної залози. Визначення імунологічних параметрів дозволить прогнозувати перебіг захворювання, оцінити ефективність імунокорегуючої терапії, що може бути використано у виробничих умовах для оцінки фізіологічного стану тварин.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є частиною науково-дослідної роботи “Розробка методів підвищення резистентності сільськогосподарських тварин Луганської області” кафедри анатомії і фізіології тварин факультету ветеринарної медицини Луганського національного аграрного університету (номер державної реєстрації 0197U004952).

**Мета і задачі дослідження.** Метою досліджень було вивчення імунобіологічної реактивності організму корів, хворих на субклінічний мастит, та її змін після застосування традиційних методів лікування і лазеротерапії із використанням апарата СТП-5.

Для досягнення мети нами були поставлені такі задачі:

- вивчити показники імунологічної реактивності корів, хворих на субклінічний мастит;

- визначити у порівняльному аспекті терапевтичну ефективність при субклінічному маститі методу лазеротерапії корів та традиційних методів (етіотропний і патогенетичний);

- встановити і з’ясувати характер змін імунологічних, біохімічних і морфологічних показників крові корів, хворих на субклінічний мастит, та гістоструктуру їх молочної залози під впливом лазеро-, етіотропної та патогенетичної терапії;

- визначити економічну ефективність різних методів терапії корів при субклінічному маститі, відібрати з них кращий і запропонувати методику його застосування.

*Об’єкт дослідження –* клінічно здорові та хворі на СМ корови.

*Предмет дослідження* – секрет здорових та уражених СМ чвертей вим’я, проби крові клінічно здорових корів та хворих на СМ після застосування лазеро-, антибіотико- та новокаїнотерапії.

*Методи дослідження.* При виконанні роботи використовували клінічні, цитологічні, бактеріологічні, біохімічні, гематологічні, імунологічні, гістологічні методи дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше встановлено і з’ясовано характер змін імунологічних, біохімічних і морфологічних показників крові, хворих на субклінічний мастит корів та вивчена гістоструктура їх молочної залози під впливом лазеро-, етіотропної- та патогенетичної терапії.

З’ясовано терапевтичну ефективність методу лазеротерапії корів при СМ порівняно з етіотропним та методом патогенетичної терапії, а також проведено розрахунок економічної ефективності вищезгаданого методу, доцільності застосування напівпровідникового лазерного апарата СТП-5.

Науково обґрунтовано результати застосування лазеротерапії корів, хворих на субклінічний мастит, що є пріоритетним науковим досягненням з даної проблеми в умовах України.

**Практичне значення одержаних результатів.** Встановлено показники імунобіологічної реактивності корів, хворих на субклінічний мастит, та їх зміни після застосування традиційних методів та лазеротерапії мають практичне значення в діагностиці, лікуванні та профілактиці патології молочної залози.

Запропонована методика застосування низькоінтенсивного лазерного випромінювання при терапії корів, хворих на СМ, з використанням лазерного апарата СТП-5 впроваджена у трьох господарствах Луганської області, а також впроваджується в господарствах інших областей України.

Матеріали дисертації використовуються при вивченні курсу “Акушерство, гінекологія і біотехнологія розмноження сільськогосподарських тварин” на факультеті ветеринарної медицини та зооінженерному факультеті Луганського і Сумського НАУ. За результатами досліджень, що викладені в дисертації опубліковано методичні рекомендації з діагностики та лазеротерапії маститу у корів, що схвалені науковою радою факультету ветеринарної медицини Луганського ДАУ, затверджені методичною комісією Луганського ДАУ і видані масовим тиражем.

**Особистий внесок здобувача.** Всі дослідження проведено за безпосередньою участю здобувача. Імунологічні дослідження проводились спільно із співробітниками лабораторії кафедри стаціонарної педіатрії Луганського державного медичного університету (ДМУ).

Особисто здобувачем виконано весь обсяг експериментальних досліджень, статистичну обробку даних на персональному комп’ютері за допомогою програми “Gesta”; проведено огляд та аналіз джерел наукової літератури за темою дисертації.

Аналіз та обговорення результатів, підготовку їх до друку та написання дисертації й автореферату здійснено самостійно за допомогою наукового керівника.

**Апробація роботи.** Матеріали дисертації обговорено на:

* 1-й Міжнародній науково-практичної конференції “Сучасні проблеми ветеринарної медицини з питань фізіології і патології відтворення тварин”. Травень 25-26, 2000 року (Київ);
* Міжнародній науково-практичній конференції “Ветеринарна наука на порозі ХХІ віку”, присвяченій 85-річчю від дня народження академіка ВАСГНІЛ І.М. Гладенка. Листопад 12-15, 2000 року (Харків);
* наукових конференціях Луганського ДАУ. 1998, 1999, 2000, 2001 рр. (Луганськ);
* обласних, міських, районних засіданнях і семінарах фахівців ветеринарної медицини Луганської області.

**Публікації.** Основні положення дисертації викладено у 9 наукових працях, з яких особистих – 5, у співавторстві – 4, видано у фахових виданнях 3 праці.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 152 сторінках, складається із вступу, 4-х розділів, висновків та списку використаних джерел, який включає 300 джерел, з них – 64 іноземних; містить 30 таблиць і 15 рисунків.

**ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛ
ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ**

Робота виконана у 1997-2000 рр. на кафедрі незаразних хвороб Луганського державного аграрного університету. Матеріалом власних дослідженьбули корови чорно–рябої породи, що належали дослідному господарству Луганського інституту агропромислового виробництва (ЛІАВ), Слов’яносербського району Луганської області. Для дослідів були відібрані корови віком 3-7 років, середньої вгодованості, масою тіла 400-500 кг із середньорічною продуктивністю 2800 кг, аналоги за тривалістю післяродового періоду, формою маститу, що утримувалися на однаковому раціоні. Годівля дослідних тварин здійснювалась згідно з існуючими нормами. Для досліду з застосування різних терапевтичних засобів було сформовано 5 груп корів, у тому числі 4 дослідні і одну контрольну (табл. 1).

Коровам І групи після старанного здоювання в дійку вводили комбінований хіміотерапевтичний засіб – мастисан-Б, до складу якого входять неоміцин, сульфадимезин та метилурацил, в дозі 5 мл один раз на добу.

Таблиця 1

Схема досліду

|  |  |
| --- | --- |
| Групи корів | Кількість тварин, гол. |
| І дослідна (антибіотикотерапія) | 25 |
| ІІ дослідна (лазеротерапія) | 25 |
| ІІІ дослідна (новокаїнотерапія) | 25 |
| ІV дослідна (не лікували) | 10 |
| Контрольна (клінічно здорові) | 25 |

Корів ІІ групи лікували шляхом опромінювання поверхні ураженої долі вим’я і біологічно активних точок 51, 56, 57, 63 та 64. Лазерний апарат СТП-5 забезпечує лікування низькоінтенсивним лазерним імпульсним випромінюванням ближньої інфрачервоної області спектра від напівпровідникового лазерного діода. Потужність випромінювання 0,3 Вт, довжина хвилі 0,89-0,99 мкм, площа випромінювальної поверхні 0,2-45 см3. Габаритні розміри 180 × 50 × 20, маса з акумуляторами 160 г.

Коровам ІІІ групи вводили 0,5%-й розчин новокаїну у надвим’яний простір за методикою Д.Д. Логвинова. Ін’єкцію робили 1 раз у три доби.

Корів ІV дослідної групи не лікували. У контрольній групі були клінічно здорові тварини.

Визначення причин виникнення та поширення СМ у дослідному господарстві ЛІАВ, оцінку молочної продуктивності корів проводили за допомогою даних амбулаторних журналів лікарів ветеринарної медицини, даних зоотехнічного обліку і власних досліджень.

Діагностику маститів проводили клінічними та лабораторними методами. Клінічні дослідження проводили за загальноприйнятою методикою (Г.Г. Харута, 1997). Лабораторну діагностику проводили безпосередньо у стійлі з використанням 5%-го розчину димастину і 0,5%-го спиртово-водного розчину бромтимолового синього. Результати підтверджували пробою відстоювання. Діагностичну ефективність кожного тесту порівнювали з результатами підрахунку лейкоцитів у 1 см3 молока, який проводили за методом Прескотта-Бріда з фарбуванням мазків за Папенгеймом.

Бактеріологічні дослідження секрету із хворих чвертей вим’я проводили за загальноприйнятими методиками. Ідентифікацію і класифікацію збудника здійснювали за Bergey (1997), І.В. Голубєвою та ін. (1985), Starr et al. (1986). Рівень антибіотикочутливості виділених штамів визначали до 16 антибактеріальних засобів методом паперових дисків і серійних розведень відповідно до “Методических рекомендаций по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных” (Антонов А.И. и др., 1986).

Дослідження крові проводили після встановлення діагнозу на СМ та на 7 добу після одужання. Кількість еритроцитів та лейкоцитів визнача­ли у камері Горяєва, гемоглобін – ціангемоглобіновим методом. Лейкофор­мулу виводили методом підрахунку 200 лейкоцитів у мазках крові, пофарбованих за Романовським-Гімза. Вміст загального білка визначали рефрактометрично за методом Рейса (1975), білкові фракції – електрофорезом на папері за методом В.Є Чумаченко (1990). Імунологічні дослідження проводили за методикою, розробленою співробітниками лабораторії мікробіології та імунології лабораторії біохімії УНДІЄВ (Цимбал А.М., Корчан Н.І., Конаржевський К.Є. та ін., 1983) у лабораторії кафедри госпітальної педіатрії Луганського ДМУ. Фагоцитарну активність нейтрофілів гранулоцитів периферійної крові реєстрували за поглинанням часток латексу (діаметр = 1,0-3,3 мкм) і визначали як відсоткове відношення активних фагоцитів до їх загальної кількості. Метаболічну активність нейтрофілів крові визначали в тесті відновлювання нітросинього тетразолію (НСТ) за методом B.H. Park з співавторами в модифікації Ю.І. Бажори із співавторами. Залежно від різного ступеня інтенсивності специфічного забарвлення досліджувані клітини поділяли на три групи: слабопозитивні (НСТ+), позитивні (НСТ++), різко позитивні (НСТ+++). Вивчення лімфоцитів проводили методом Bojum. Загальну кількість Т-лімфоцитів (Т-лімф) визначали методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана за M. Jondal et al. у модифікації А.Р. Чередєєва із співавторами (1984). Вміст “активованих” (ранніх) лімфоцитів (Т-а) визначали модифікованим методом розеткоутворення за M. Wansbrong-Tones (1979). Визначення числа теофілінчутливих (Т-s) та резистентних до дії теофіліну (Т-х) клітин виконували за методом P. Limatibul et al. (1987). Т-термостабільні (Т-т) ідентифікували як клітини із загальної кількості Т-лімф, які створюють розетки з еритроцитами барана при 37°С. Рівень ЦІК у сироватці крові визначали за M. Digeon et al., у модифікації В.М. Фролова (1986). Оцінка гуморальної ланки імунітету містила визначення кількості В-лімфоцитів (В-лімф) за методом комплементарного розеткоутворення, а також за допомогою моноклональних антитіл СД 19+ (N.F. Mendes et al., 1976). Бактерицидну (БАСК) і лізоцимну (ЛАСК) активність сироватки крові визначали фотонефелометричним методом, модифікованим співробітниками відділу зоогігієни УНДІЕВ (1974).

Для гістологічного дослідження молочної залози матеріал відбирали після забою тварин у господарстві. Із шматочків вимені, розміром 1 × 0,5 см робили гістологічні препарати згідно з методикою (Коротченко М.В., 1987). Матеріал фіксували у 10%-му розчині нейтрального формаліну. Приготовлені зрізи завтовшки 10 мк заливали парафіном та фарбували гематоксиліном–еозином. На препаратах вивчали гістологічні зміни у тканині при СМ та після лікування різними методами.

Економічний ефект методів терапії корів при субклінічному маститі визначали за методикою Ф.Ф. Білоусова із співавт (1982). Статистичну обробку отриманих результатів проводили методом варіаційної статистики на комп’ютері Pentium-3 за програмою Gesta з використанням таблиці Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ**

**Причини поширення і клінічні прояви маститу**

**у корів у дослідному господарстві ЛІАВ Луганської області**

Впродовж 1997-2000 рр. нами було проведено обстеження поголів’я корів, які належали дослідному господарству ЛІАВ Слов’яносербського району Луганської області щодо виявлення різних форм маститу, причин виникнення та поширення СМ у корів. Так, із 1040 досліджених корів 316 тварин (30,4%) були хворими на мастит. Субклінічний мастит виявили у 82,9% хворих тварин; серозний – 8,9%; катар цистерн – 3,8%; катар альвеол – 1,9%; серозно-катаральний і гнійно-катаральний – у 2,5%.

Загальний стан корів, хворих на СМ, не змінювався, не відмічалося змін зовнішнього виду молочної залози. При пальпації тканина чвертей вим’я, уражених субклінічним маститом, була пружньо-еластична, не болюча. При серозному маститі у корів спостерігалося незначне погіршення апетиту, уражені чверті збільшувалися, молочна продуктивність знижувалася. При катаральному і серозно-катаральному маститі секрет із молочної залози був водянистий з пластівцями та згустками казеїну. Уражені чверті збільшувалися, підвищувалася температура шкіри і болючість. При пальпації відчувалися дифузні або локальні ущільнення. Відмічалось зниження продуктивності. Гнійно-катаральний мастит характеризувався пригніченням загального стану тварини, погіршенням або відсутністю апетиту, значним підвищенням температури тіла і різким зниженням надою. Молоко було сірувато-білого або жовтого кольору з домішками пластівців та гною. Уражена чверть збільшувалася, температура шкіри підвищувалася. При пальпації вим’я помірно або значно була виражена болючість і ущільнення тканин.

У 137 (43,4%) корів мастит діагностувалося у передніх чвертях вим’я, а у 179 (56,6%) корів – у задніх. Найчастіше (73,4%) уражалася одна чверть вим’я, рідше дві (19,0%) і тільки як виняток одночасно три (4,7%) або чотири (2,9%). З’ясування причин високої частоти захворювання корів на СМ проводилось за допомогою аналізу різних зовнішніх та внутрішніх чинників, які впливають на організм і молочну залозу корів. Захворюваність корів на СМ була найвищою в осінньо-зимовий та весняний період і значно знижувалась влітку. У 1997-1998 рр. пік захворювання реєстрували у березні, що було обумовлено погіршенням якості кормів, умов утримання та рядом інших факторів, які негативно впливали на загальну резистентність організму та локальну стійкість молочної залози. Спостерігалось поступове зниження захворюваності корів на СМ у 1998 та 1999 році порівняно з 1997 роком, що пов’язано з систематичним проведенням діагностичних досліджень і своєчасним лікуванням хворих тварин з використанням лазерного випромінювання. У перший місяць лактації зареєстровано найвищий відсоток хворих на СМ (32,7%), який поступово знижувався до 4,7% на сьомому місяці лактації. У період запуску кількість хворих на СМ корів зростала на 16,8% і помірно знижувалась у сухостої. Серед етіологічних факторів виникнення СМ у корів значний відсоток належить гінекологічним захворюванням (51,8%), порушенню технології доїння (34%). Відсоток корів, що перехворіли на СМ збільшувався прямо-пропорційно підвищенню молочної продуктивності. У цих тварин відбувалося зниження молочної продуктивності на 18,5% (Р<0,05). Через три тижні після одужання продуктивність підвищувалась лише на 13,6% (Р<0,05), але не досягала початкового рівня. У цілому, в етіологічній структурі СМ у корів велику роль відігравали порушення технологічного процесу виробництва молока, правил машинного доїння та ветеринарно-санітарних правил, що сприяло зниженню резистентності організму, інфікуванню вим’я патогенною і умовно-патогенною мікрофлорою, високій захворюваності тварин на мастит.

**Діагностика субклінічного маститу у корів**

Діагноз на СМ ставили комплексно, з урахуванням результатів ретельного клінічного дослідження молочної залози та використанням порівняльної експрес-діагностики з 5%-м водним розчином димастину та 0,5%‑м спиртово-водним розчином бромтимолового синього. Результати підтверджували пробою відстоювання. За допомогою тесту з 0,5%-м водно-спиртовим розчином бромтимолового синього було виявлено 6,7% хворих на СМ корів; з 5%-м розчином димастину – 7,3%; пробою відстоювання – 4,6%. Слід зазначити, що тест з 0,5% водно-спиртовим розчином бромтимолового синього мав більшу кількість реакцій, які збігалися з результатами проби відстоювання.

Постійною ознакою запального процесу в молочній залозі є підвищення в молоці кількості соматичних клітин, головним чином лейкоцитів. При визначенні корелятивної залежності ефективності експрес-методів діагностики СМ від кількості лейкоцитів у молоці нами встановлено, що результати з 0,5%-м спиртово-водним розчином бромтимолового синього співпадали з результатами підрахунку лейкоцитів у 87,7%, з 5% розчином димастину – у 82,0%, а з пробою відстоювання – у 77,0%. Тест з 0,5%-м спирто-водним розчином бромтимолового синього давав найбільшу кількість позитивних реакцій, що збігалися з результатами підрахунку лейкоцитів в 1 см3 молока.

При СМ у молоці корів на тлі загального збільшення лейкоцитів спостерігалося підвищення нейтрофілів. Якщо в молоці із здорової долі вим’я (в 100 клітинах) їх містилося 40,50±0,42%, то в молоці уражених чвертей вим’я – 78,90±0,69% (Р<0,001). Збільшення нейтрофільних лейкоцитів відбувалося за рахунок зменшення лімфоцитів, моноцитів та інших клітинних елементів.

**Бактеріальна контамінація молока корів, хворих на субклінічний
мастит, та чутливість виділених культур до антибіотиків**

При бактеріологічному дослідженні 64 проб секрету уражених чвертей вим’я із 26 проб виділили стрептококи, що становило 40,6% від загальної кількості досліджених проб. Причому у 15 випадках (23,4%) були виділені патогенні стрептококи (Str.agalactiae) і у 11 пробах (17,2%) – непатогенні.

Стафілококи виділялися із 14 проб секрету (21,9%). Патогенні стафілококи (Staph.aureus) були виділені у 11 випадках (17,2%) і у 3 пробах (4,7%) – непатогенні.

Змішана мікрофлора була встановлена у 6 пробах (7,8%). У чотирьох пробах вона була представлена патогенними стрептококами і стафілококами (6,3%) і у двох випадках – непатогенними стафілококами (3,1%).

За даними, одержаними у нашому досліді 48,9% культур мікроорганізмів, які висівалися із секрету вим’я корів, хворих на СМ, були патогенними.

Виділені культури мікроорганізмів були чутливими до тетрацикліну та неоміцину; умовно чутливими до стрептоміцину (крім Str. dysgalactiae), ристоміцину (крім Staph. saprophitis); відсутня чутливість до пеніциліну, цефаліксину (крім Staph.epidermidis). До тілану, олеандоміцину, поліміксину і хлорамфеніколу була визначена стійкість непатогенних стафілококів і стрептококів у той час, як патогенні стафілококи і стрептококи були чутливими і умовно чутливими. Щодо рифампіцину і ристоміцину, то чутливість до них визначена у Str.epidermidis. До еритроміцину і лінкоміцину були чутливими патогенні стрептококи і стафілококи, проте непатогенні мікроорганізми були умовно чутливими і не чутливими.

За результатами визначення чутливості мікроорганізмів секрету уражених чвертей вим’я ми знайшли можливим застосувати для лікування субклінічного маститу у корів мастисан-Б, до складу якого входять: неоміцин та сульфадимезин.

**Стан імунобіологічної реактивності корів,
хворих на субклінічний мастит**

За результатами досліджень встановлено (табл. 2), що хворі на СМ тварини поступалися здоровим за кількістю в крові еритроцитів (Р<0,001) і вмістом гемоглобіну (Р<0,05).

Щодо лейкоцитів, то їх загальна кількість у хворих на СМ корів зменшувалась на 17% (Р<0,01), що може бути пов’язано з їх міграцією в секрет молочної залози. Значним змінам піддавалася кількість нейтрофілів та лімфоцитів. У корів, хворих на СМ, спостерігалося збільшення вмісту паличкоядерних нейтрофілів більш ніж у два рази (Р**<**0,001**)**. За кількістю лімфоцитів хворі на СМ корови достовірно поступалися здоровим. Відбувається перерозподілення окремих формених елементів крові, яке пов’язане з підвищенням кількості нейтрофілів і зменшенням кількості лімфоцитів. При СМ ми спостерігали нейтрофілію зі зрушенням ядра вліво.

## Таблиця 2

## Морфо-биохімічні показники крові корів (n=10), М±m

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показники | Контрольна група | ІV група  |
| абсол. велич. | % | абсол. велич. | % |
| Еритроцити, Т/л | 5,9±0,3 |  | 5,4±0,2\*\*\* |  |
| Гемоглобін, г/л | 104,0±2,1 |  | 98,9±1,0\* |  |
| Лейкоцити, Г\л | 5,9±0,2 |  | 4,9±0,2\*\* |  |
| Еозинофіли, Г/л | 0,46±0,02 | 7,8±1,5 | 0,49±0,01 | 9,4±0,9 |
| Нейтро-філи, Г/л | паличко-ядерні | 0,20±0,01 | 3,4±0,5 | 0,41±0,01\*\*\* | 8,3±0,4 |
| сегменто-ядерні | 1,05±0,04 | 17,8±0,5 | 1,18±0,01 | 23,1±1,9 |
| Лімфоцити, Г/л | 3,94±0,22 | 66,8±4,0 | 2,56±0,24\*\*\* | 53,0±1,8 |
| Моноцити, Г/л | 0,24±0,04 | 4,1±0,2 | 0,30±0,03 | 6,2±0,8 |
| Загальний білок, г/л | 79,3±2,0 |  | 74,8±0,4\* |  |
| Альбуміни, г/л | 32,0±0,3 | 40,4±0,5 | 28,0±0,4\*\* | 37,4±0,6 |
| Глобуліни, г/лбу-ліни | α1 | 3,6±0,3 | 4,6±0,5 | 4,3±0,4 | 5,7±0,3 |
| α2 | 8,4±0,2 | 10,6±0,4 | 8,2±0,2 | 10,9±0,5 |
| β | 9,8±0,4 | 12,4±0,6 | 10,6±0,6 | 14,2±0,2 |
| γ | 25,3±0,7 | 32,0±1,3 | 23,8±0,8 | 31,8±0,9 |
| А/Г | 0,68±0,02 |  | 0,60±0,01\*\* |  |

Примітка: \*- Р<0,05; \*\*- Р<0,01; \*\*\*- Р<0,001.

При біохімічному дослідженні білкового складу сироватки крові хворих на СМ корів виявлено зменшення вмісту загального білка на 5,7% (Р<0,05), альбумінів на 12,5% (Р<0,01) та фракцій глобулінів на 1,1% (Р**<**0,05). Кількість γ-глобулінів зменшувалась на 5,9% (з 25,3**±**0,7 г/л до 23,8**±**0,8 г/л). При змінах кількості альбумінів порушується їх співвідношення з глобулінами. При СМ у корів альбуміно-глобуліновий коефіцієнт (А/Г) знижувався на 11,8% (Р<0,01) відносно контрольної групи, що свідчить про порушення оптимального співвідношення між фракціями (диспротеїнемію).

При визначені гуморальних факторів захисту (табл. 3) знайдено, що напруження бактерицидної активності сироватки крові корів, хворих на СМ, знижувалася з 71,3**±**1,7% до 56,2**±** 2,5% (Р<0,001). Щодо лізоцимної активності сироватки крові, то хворі корови також поступалися здоровим на 10,6% (Р<0,05). Утворення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) – складний біологічний процес, який відбувається в організмі і тісно пов’язаний з активацією гуморального і клітинного імунітету. Встановлено, що у крові корів, хворих на СМ, кількість великих ЦІК знижувалася на 32,6% порівняно із контрольною групою (Р<0,001). Кількість середніх ЦІК навпаки збільшувалась на 55,6%, але різниця була не достовірна. За вмістом дрібних ЦІК хворі на СМ корови переважали здорових у два рази (Р<0,05).

Одержані результати показали, що у крові корів, хворих на СМ, підвищувався рівень патогенних середньо- та дрібномолекулярних імунних комплексів.

Таблиця 3

Показники неспецифічної резистентності крові корів (n=7), M±m

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показники | Контрольна група | ІV група |
| Абсол.вел. | % | Абсол. вел. | % |
| БАСК, % |  | 71,3±1,7 |  | 56,2±2,5\*\*\* |
| ЛАСК, мкг/мл | 16,0±0,6 |  | 14,3±0,2\* |  |
| ЦІК, од | великі | 96,3±6,4 |  | 64,9±7,6\*\*\* |  |
| середні | 47,7±6,8 |  | 74,2±12,4 |  |
| дрібні | 63,3±8,3 |  | 124,9±27,6\* |  |
| В-лімф, Г/л | 0,90±0,05 | 22,8±0,4 | 0,46±0,02\*\*\* | 17,9±0,6 |
| Т-лімф, Г/л | 1,73±0,04 | 41,4±0,5 | 1,09±0,03\*\*\* | 42,7±0,7 |
| Т-а, Г/л | 0,11±0,07 | 2,79±0,3 | 0,036±0,07\* | 1,4±0,3 |
| Т-т, Г/л | 0,14±0,05 | 3,5±0,6 | 0,12±0,03 | 4,7±0,6 |
| Т-х, Г/л | 1,11±0,08 | 28,2±0,3 | 0,53±0,04\*\*\* | 20,7±0,7 |
| Т-s, Г/л | 0,52±0,05 | 13,2±0,7 | 0,54±0,05\*\*\* | 21,1±0,7 |
| ІРІ, од. | 2,14±0,31 |  | 0,98±0,05\*\* |  |
| ФА, % |  | 73,0±2,0 |  | 73,0±2,2 |
| ФЧ, од. | 3,4±0,3 |  | 3,1±0,3 |  |
| НСТ + |  | 6,0±0,7 |  | 7,2±0,8 |
| НСТ ++ |  | 2,4±0,4 |  | 5,8±0,6\*\*\* |
| НСТ +++ |  | 1,2±0,4 |  | 2,8±0,4\* |

Примітка: \*- Р<0,05; \*\*- Р<0,01; \*\*\*- Р<0,001.

При дослідженні ключових ланок імунної системи встановлено, що у корів, хворих на СМ, кількість Т-лімфоцитів зменшувалась на 37,0% (Р<0,001). За кількістю В-лімф хворі корови поступалися здоровим на 48,9% (Р<0,001). Такі зміни відбувалися на тлі зниження загальної кількості лімфоцитів. Фагоцитарна активність нейтрофілів (ФА) і фагоцитарне число (ФЧ) при СМ у корів знаходилися приблизно на одному рівні з клінічно здоровими. При більш глибокому дослідженні ФА, тобто при вивченні НСТ-тесту, який дає важливу інформацію не тільки про функцію нейтрофілів, але й про їх реакцію на токсичні продукти патологічного процесу та організму взагалі встановлено, що загальна кількість НСТ-позитивних клітин у корів, хворих на СМ, становила 15,8% (загальний рівень НСТ‑позитивних клітин в нормі не повинен перевищувати 8-12%), тоді, як у здорових тварин – 9,6%. Відсоток НСТ+ клітин у корів, хворих на СМ, відповідав показнику контрольної групи, але достовірної різниці не виявлено. Проте спостерігалося збільшення відсотка НСТ++ (Р**<**0,001) та НСТ+++ (Р**<**0,05) клітин. Ці зміни вказують на наявність запального процесу, внаслідок чого відбувається активація кисневозалежного метаболізму клітини. На тлі збільшення загальної кількості нейтрофілів, фагоцитарна активність при СМ у корів не підвищувалася, що свідчить про нездатність нейтрофілів до завершувального фагоцитозу.

Стан ланки імунокомпетентних клітин вивчали за субпопуляціями Т-лімф. При субклінічному маститі імунна система корів реагувала зниженням Т-а на 67,3% (Р**<**0,05), Т-х на 52,3% (Р<0,001) у той час, як рівень Т-s підвищувався на 3,8% (Р<0,001). ІРІ – імунорегуляторний індекс знижувався на 54,3% (Р<0,01). У здорових тварин (контрольна група) він становив 2,14±0,31, у корів, хворих на СМ – 0,98±0,05 (Р<0,01).

Таким чином, при СМ у корів переважним типом зсуву імунорегуляторних субпопуляцій є зниження рівня Т-а і Т-х при збільшенні Т-s і ІРІ.

**Терапевтична ефективність лазерного випромінювання
при субклінічному маститі у корів**

Терапевтична ефективність лазерного випромінювання становила 88,0% (22 гол.) при середній кількості сеансів 3,5. При лікуванні мастисаном-Б тільки 72,0% (18 гол.) при середній кількості сеансів 5. Терапевтична ефективність при застосуванні новокаїнової блокади за Д.Д. Логвиновим становила 84,0% (21 гол.) при 4 сеансах. Слід зазначити, що використання лазерного випромінювання при лікуванні субклінічного маститу дозволяє одержати екологічно чисті продукти тваринництва і зменшити негативну дію на організм фармакологічних засобів, які звичайно використовують з цією метою. При застосуванні лазерного випромінювання не спостерігалося больової реакції на місці аплікації.

Вплив лазерної, етіотропної та патогенетичної терапіїкорів
при субклінічному маститі на її імунологічну реактивність

За результатами проведених дослідів ми встановили, що між морфо-біохімічними і імунологічними показниками крові корів І, ІІ, ІІІ і ІV груп, хворих на субклінічний мастит, не існувало достовірної різниці. Це дозволило вважати, що всі показники у корів, хворих на СМ, знаходяться на одному рівні.

Після одужання корів І, ІІ, ІІІ груп спостерігали наближення кількості еритроцитів і вмісту гемоглобіну до показників контрольної групи. Корови з групи лазеротерапії випереджали контрольних за кількістю еритроцитів на 1,7% (різниця не достовірна) і за вмістом гемоглобіну на 3,8% (Р<0,01), що вказує на властивість лазерного випромінювання стимулювати кровообіг і кровотворення. Відмічено, що у тварин І групи існувала достовірна різниця з коровами ІІ групи за вмістом гемоглобіну (102,6±1,3г/л та 109,0±0,9 г/л відповідно) (Р<0,05), що вказує на пригнічення антибіотиками процесів кровообігу.

За кількістю лейкоцитів і показниками лейкограми корови І, ІІ, ІІІ груп після лікування наближалися до контрольних. Слід відмітити перевагу ІІ групи над іншими дослідними групами за наближенням вмісту лейкоцитів, моноцитів і лімфоцитів після одужання до рівня контрольної групи. Це вказує на позитивну протизапальну дію лазерного випромінювання. За кількістю еозинофілів, нейтрофілів і моноцитів корови І групи переважали контрольних на 11,1%, 3,2%, 8,6% відповідно і поступалися останнім за вмістом лімфоцитів на 8%, але різниця виявилася не достовірною. У корів ІV виявили поступове зниження кількості лейкоцитів (Р<0,05) і лімфоцитів (Р<0,001) та підвищення паличкоядерних нейтрофілів (Р<0,001), що дає підставу вважати про подальший розвиток запального процесу.

Після лікування у корів з групи лазеротерапії (ІІ група) кількість альбумінів, фракцій глобулінів та А/Г знаходилися на одному рівні з контрольними, але існувала достовірна різниця за вмістом загального білка (Р<0,001). Вміст γ-глобулінів у тварин ІІ групи збільшувався на 4,4%, тоді, як кількість α1-та α2-глобулінів незначно знижувалась, що вказує на підсилення імунобіологічних процесів і протизапальну дію лазерного випромінювання. Тварини з групи антибіотикотерапії (І група) поступалися контрольним за вмістом загального білка (75,2±0,5 г/л та 78,9±0,2 г/л відповідно) (Р<0,001), альбумінів (28,8±0,2 г/л та 31,6±0,6 г/л відповідно) (Р<0,001), γ-глобулінів (24,6±0,5 та 25,4±0,8 відповідно) (Р<0,05) та А/Г (0,62±0,02 та 0,67±0,01 відповідно) (Р<0,05), що вказує на диспротеїнемію у крові. Щодо корів з групи новокаїнотерапії (ІІІ), то після одужання вони поступалися контрольним за вмістом загального білка на 3,0% (Р<0,001) і фракцій глобулінів на 3,4% (Р<0,05).

При дослідженні гуморальних факторів резистентності встановлено, що після лікування показники бактерицидної і лізоцимної активності сироватки крові у корів ІІ і ІІІ підвищилися і знаходилися практично на одному рівні з контрольними, що обумовлено підвищенням активності комплементу і стимулюванням мононуклеарної фагоцитарної системи. Це вказує на позитивну дію лазеро- і новокаїнотерапії та перевагу їх над антибіотикотерапією. Щодо циркулюючих імунних комплексів, то у корів ІІ і ІІІ груп не існувало достовірної різниці з контрольними. В той час, як корови І групи поступалися контрольним за кількістю великих ЦІК на 24,3% і перевершували останніх за показником середніх ЦІК на 24,0% та дрібних ЦІК у два рази (Р<0,001), що свідчить про недостатню активацію функціональних систем поліморфноядерних лейкоцитів і мононуклеарів. Низький рівень великих ЦІК і високий – дрібномолекулярних у корів ІV групи вказує на пригнічення фагоцитарної активності нейтрофілів.

Щодо клітинних факторів природної резистентності організму, то у корів ІІ групи рівень ФА і ФЧ максимально наближався до контрольних. Це вказує на підвищення поглинальної здатності нейтрофілів і підвищення резистентності організму. Слід відмітити, що тварини І, ІІ і ІІІ груп перевищували корів ІV групи за ФЧ (Р<0,001).

При визначенні оксиредуктазного потенціалу лейкоцитів встановлено, що відсоток НСТ-реагуючих клітин достовірно знижувався у корів І, ІІ і ІІІ груп. Проте у корів ІІ і ІІІ груп цей показник відповідав рівню здорових тварин (11,8% і 12,0% відповідно), що вказує на підвищення ферментативної активності лейкоцитів. У корів І групи відсоток НСТ-реагуючих клітин становив 12,3% і перевищував рівень контрольних на 2,5%. Істотно збільшувався (3,8±0,4%) порівняно з контролем (2,3±0,2%) відсоток НСТ++ (Р<0,01), що вказує на підвищення метаболічної активності нейтрофілів і пригнічення мононуклеарної фагоцитарної системи. У корів І, ІІ і ІІІ груп спостерігали достовірну різницю з тваринами ІV групи за рівнем ФА (Р<0,05), ФЧ (Р<0,001), відсотком НСТ-реагуючих клітин (Р<0,05).

При визначені стану імунокомпетентних клітин виявлено, що у корів І, ІІ і ІІІ груп після лікування зростала відносна кількість Т- і В-лімф. Під дією лазерного випромінювання (ІІ група) у корів збільшувалась кількість Т-лімф на 66% (з 0,98±0,06 Г/л до 1,63±0,03Г/л) (Р<0,001) і досягала рівня контролю. Щодо В-лімф, то у корів ІІ групи їх кількість наближалась до рівня контрольних (0,72±0,08 Г/л і 0,88±0,04 Г/л відповідно), існуюча різниця не достовірна.

За кількістю Т-лімф корови з групи антибіотикотерапії (І група) наближалися до рівня контрольних. Щодо В-лімф, то їх кількість у корів І групи не досягала показників контрольних (0,68±0,03 Г/л і 0,88±0,04 Г/л відповідно) (Р<0,001), що вказує на пригнічення антибіотиками утворення В-лімф. У корів з групи новокаїнотерапії (ІІІ група) не існувало розбіжностей з тваринами ІІ групи за абсолютною кількістю В-лімф.

При визначені субпопуляцій Т-лімф (рис. 1, 2) встановлено, що у корів І, ІІ і ІІІ груп після лікування ці показники наближалися до рівня контрольних. За кількістю Т-s у корів усіх груп спостерігалося незначне перевищення рівня контрольної групи. Внаслідок цього ІРІ у тварин усіх дослідних груп поступався контрольним, у тому числі у І і ІІ на 20,5%, у ІІІ на 24,1%, але різниця не достовірна. Корови ІІ групи перевершували корів І групи за кількістю Т-а на 3,5% (0,089±0,01 Г/л проти 0,086±0,02 Г/л),

Г/л

Рис. 1. Вміст Т-а і Т-т-лімфоцитів в крові дослідних та контрольної груп

Г/л

Рис. 2. Вміст Т-х, Т-s лімфоцитів та ІРІ в крові дослідних
та контрольної груп

Т-х - на 3,0% (1,03±0,05 Г/л проти 1,0±0,08 Г/л) і корів ІІІ групи за
кількістю Т-х на 7,2% (1,03±0,05 Г/л проти 0,95±0,06). Це свідчить про позитивну дію лазерного випромінювання на імунну систему, зокрема на стимуляцію Т-клітинної ланки. У корів ІV групи протягом терміну спостереження зберігалося достовірне зниження кількості Т-а на 67,3% (Р<0,001), Т-х - на 51,8% (Р<0,001), ІРІ – на 55,5% (Р<0,001) в порівнянні з контрольною групою.

**Вплив лазерної, етіотропної та патогенетичної терапії на гістоструктуру молочної залози корів, хворих на субклінічний мастит**

При гістологічному дослідженні уражених СМ чвертей молочної залози виявлено, що запальний процес носить переважно характер проліферативних змін, як у альвеолярному епітелії, так і у стромі залози. Ці зміни впливають на функціональну здатність молочної залози внаслідок зменшення активно функціонуючої паренхіми. Після лазеротерапії спостерігали зменшення процесів проліферації і альтерації в просвіті альвеолотрубок і в міжальвеолярній тканині. Відновлювалась секреторна функція залозистої тканини. Після антибіотикотерапії зберігалися потовщення у міжчасточковій сполучній тканині та процеси атрофії в окремих часточках. Незворотні атрофічні процеси, які відбулися в паренхімі вим’я, зменшують функціональні можливості молочної залози. Після застосування новокаїнотерапії спостерігалося посилення компенсаторних реакцій, зменшувалися процеси проліферації і альтерації. Секреторні клітини стали високими, але зберігалося розростання міжчасточкової і внутрішньочасточкової сполучної тканини. При цьому окремі атрофічні дольки не відновлювалися і цим зменшували функціональні можливості молочної залози. Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено, що лазерне випромінювання позитивно діє на залозисту тканину вим’я, повністю відновлює секреторну функцію молочної залози і сприяє відновленню молочної продуктивності.

**ВИСНОВКИ**

1. У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі, що виявляється у вивченні показників імунобіологічної реактивності організму корів, хворих на субклінічний мастит та її змін після застосування лазеротерапії; обгрунтування методу лазеротерапії корів, хворих на субклінічний мастит, в основі якого покладено стимулювання імунобіологічної реактивності організму.
2. При субклінічному маститі у корів спостерігається імунодефіцитний стан, про що свідчить зниження досліджуваних показників імунної системи: Т-лімф до 1,09±0,03 Г/л (проти 1,73±0,04 Г/л у клінічно здорових; Р<0,001), В-лімф до 0,46±0,02 Г/л (проти 0,90±0,05 Г/л; Р<0,001), Т-а до 0,036±0,07 Г/л (проти 0,110±0,07 Г/л; Р<0,05), Т-х до 0,53±0,04 Г/л (проти 1,11±0,08 Г/л; Р<0,001), Т-s до 0,54±0,05 Г/л (проти 0,52±0,05 Г/л; Р<0,001), ІРІ до 0,98±0,05 од. (проти 2,14±0,31 од.; Р<0,01).
3. У корів, хворих на субклінічний мастит, відбуваються зміни гуморальних факторів неспецифічного захисту: зменшення БАСК до 56,2±2,5% (проти 71,3±1,7% у клінічно здорових; Р<0,001), ЛАСК до 14,3±0,2 мкг/мл (проти 16,0±0,6мкг/мл; Р<0,05). Збільшення кількості дрібномолекулярних ЦІК до 124,9±27,6 од. (проти 63,3±8,3 од.; Р<0,05).
4. Субклінічний мастит призводить до суттєвих порушень морфо-біохімічного складу крові - зниження кількості еритроцитів до 5,4±0,2 Т/л (проти 5,9±0,3 Т/л у клінічно здорових; Р<0,001), гемоглобіну до 98,9±1,0 г/л (проти 104,0±2,1 г/л; Р<0,05), лейкоцитів до 4,9±0,2 Г/л (проти 5,9±0,2 Г/л; Р<0,01), лімфоцитів до 2,56±0,24 Г/л (проти 3,94±0,22; Р<0,001), загального білка до 74,8±0,4 г/л (проти 79,3±2,0 г/л; Р<0,05), альбумінів до 37,2±0,6 г/л (проти 40,4±0,5; Р<0,01), глобулінів до 46,8±0,1 г/л (проти 47,3±0,2; Р<0,05), А/Г коефіцієнта до 0,60±0,01 (проти 0,68±0,02; Р<0,01).
5. Після лазеротерапії корів, хворих на субклінічний мастит, відбувається наближення морфо-біохімічних і імунологічних показників крові до рівня клінічно здорових тварин, за винятком показника загального білка, який не досягав рівня клінічно здорових тварин на 3,7%.
6. При застосуванні мастисану-Б у крові корів спостерігалося достовірно зменшення вмісту білка, альбумінів, α2- і γ-глобулінів, А/Г порівняно із здоровими тваринами. Щодо стану основних ланок імунної системи, то знайдено достовірно меншу кількість В-лімф та перевищення дрібних ЦІК порівняно із контрольною групою.
7. Новокаїнотерапія виявилася ефективним і доступним методом лікування субклінічного маститу у корів. При лікуванні корів новокаїновими блокадами виявлялась достовірно менша кількість фракцій глобулінів та В‑лімф порівняно з контрольною групою. Решта показників після одужання тварин наближалась до контрольних.
8. Лазеротерапія сприяла швидкому відновленню гістологічної структури паренхіми вим’я хворих корів - припинялися процеси проліферації та альтерації, відновлювалася секреторна функція залозистої тканини, нормалізувалися секреторні процеси в альвеолярному епітелії. Тоді як при лікуванні мастисаном-Б процеси атрофії в окремих місцях часток зберігалися. При новокаїнотерапії посилювалися компенсаторні реакції у залозистій тканині, зменшувалися процеси проліферації і альтерації.
9. Частота захворювання корів на СМ була значно вищою порівняно з клінічними формами маститу. Задні долі вимені уражалися частіше (56,6%) передніх (43,4%). Відсоток захворювання корів на СМ збільшувався з підвищенням їх молочної продуктивності. Найбільший ступінь ураження корів СМ спостерігався у зимово-весняний період, у перший місяць лактації і в період запуску.
10. Лазеротерапія з використанням напівпровідникового лазерного апарату СТП-5 є високоефективним методом лікування СМ у корів. Терапевтична ефективність при його використанні становила 88,0% при курсі лікування 3,5 днів, при лікуванні мастисаном-Б – 72,0% при середній кількості сеансів 5, при використанні новокаїнової блокади за Д.Д. Логвиновим – 84,0% при курсі лікування 4 дня.
11. У молоці уражених долей вим’я виділяється мікрофлора, серед якої переважають стрептококи, в тому числі, Str. agalactiae – 26,6%, Str. dysgalactiae – 6,4%, Str. uberis – 10,9%; із стафілококів – Staph. aureus – 21,9%, Staph. saprophitis – 10,9%; змішана мікрофлора Str. agalactiae + Staph. aureus висівалась у 14,1% проб, Str. epidermidis – 9,2% випадків. Виділена мікрофлора була чутливою до більшості антибіотиків.
12. Економічна ефективність ветеринарних заходів при лазеротерапії становила 30,46 грн., у той час як при антибіотикотерапії – 19,04 грн., а при новокаїнотерапії – 21,60 грн. на 1 грн. затрат.

**ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

1. З метою профілактики клінічних форм маститу, попередження зниження молочної продуктивності корів і одержання молока високої санітарної якості, щорічно в господарствах під час проведення основної гінекологічної диспансеризації (навесні – квітень і восени – жовтень) від контрольних груп тварин досліджувати імунобіологічні показники крові і розглядати їх як діагностично-прогностичні тести щодо вибору і застосуванню відповідних методів терапії субклінічного маститу.
2. Для лікування корів, хворих на субклінічний мастит, рекомендуємо застосовувати високоефективний, екологічно чистий, економічно вигідний метод лазеротерапії з використанням апарату СТП-5 - один раз на день з експозицією 3 хвилини на кожну хвору долю протягом 4-5 днів. Рекомендуємо опромінювати біологічно активні точки вим’я, які розташовані у центрі долі і в основі дійки.
3. З метою прискорення впровадження високоефективного, екологічно чистого і економічно обґрунтованого методу лазеротерапії у практику ветеринарної медицини рекомендуємо господарствам відшукати необхідні резерви для придбання лазерного приладу СТП-5.

**СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Шпилева Л.О. Імунологічні показники крові у корів при субклінічному маститі // Науковий вісник НАУ. - Київ, 2000. - №22. - С. 123‑126.
2. Шпилева Л.О. Вплив лазеротерапії на імунологічні показники крові корів, хворих на субклінічний мастит // Ветеринарна медицина України. - 2000. - №7. - С. 22-23.
3. Шпилева Л.О. Лазер і мастисан-Б при субклінічному маститі у корів // Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків, 2000. – №78. – Т. ІІ. – С 242-247.
4. Шпилевая Л.А. Терапевтическая єффективность лазеротерапии при субклиническом мастите у коров // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 1999. – С. 36-39.
5. Шпилевая Л.А., Пархоменко Л.И. Применение мастисана-Б при субклиническом мастите у коров и его влияние на иммунную систему // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 2000. – С. 83-85.

*Дисертантка вивчила терапевтичну ефективність мастисану-Б при субклінічному маститі у корів і його імунокорегуючу дію на гуморальний та клітинний імунітет.*

1. Методичні рекомендації по діагностиці та лазеротерапії маститу у корів // Мороз І.Г., Руденко А.Ф., Ігнатов М.М., Шпилева Л.О., Зажарська Н,М. – Луганськ, 2000. – 19 с.

*Дисертантка розробила методику лазеротерапії субклінічного маститу у корів.*

1. Шпилевая Л.А. Микрофлора молока, выделяемая при субклиническом мастите у коров // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 2001. – С. 86-88.
2. Мороз И.Г., Руденко А.Ф., Кот В.С., Бублик В.Н., Зажарский В.В., Зажарская Н.Н., Меженская Н.А., Шпилевая Л.А., Фомин С.В., Тресницкий С.Н. Использование этиотропной терапии при акушерско-гинекологических заболеваниях // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 2001. - №12 (24). – С. 65-69.

*Дисертантка провела апробацію лазеротерапії субклінічного маститу у корів.*

1. Мороз И.Г., Шпилевая Л.А. Гистоструктура молочной железы при субклиническом мастите у коров и ее изменение после лазеро- и антибиотикотерапии // Збірник наукових праць Луганського ЛНАУ. – 2002. – С. 59-62.

*Дисертантка провела гістологічні дослідження паренхіми молочної залози при субклінічному маститі у корів та її зміни при застосуванні різних методів лікування.*

**Шпилева Л.О. Іммунобіологічна реактивність корів, хворих на субклінічний мастит, і її зміни після лазеротерапії. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.07 – ветеринарне акушерство. – Національний аграрний університет. – Київ, 2003.

Дисертація присвячена вивченню причин поширення субклінічного маститу у корів, експрес-методів діагностики а також впливу лазерного випромінювання, антибіотиків та новокаїнової блокади на неспецифічну реактивність організму та гістоструктуру молочної залози корів, хворих на субклінічний мастит; визначення ефективності лазеротерапії порівняно з іншими лікувальними методами. В результаті проведених досліджень встановлено, що захворювання корів на субклінічний мастит призводить до порушень морфо-біохімічного складу крові, гуморальних факторів неспецифічного захисту; розвивається імунодефіцитний стан. Комплексно вивчено дію лазерного випромінювання, мастисану-Б та новокаїнової блокади за Д.Д. Логвиновим на гістоструктуру молочної залози. Встановлено, що лазерне випромінювання позитивно діє на залозисту тканину вим’я порівняно з менш ефективною дією антибіотиків. Доведена висока терапевтична ефективність низькоінтенсивного лазерного випромінювання від напівпровідникового діоду при субклінічному маститі у корів. Виявлено позитивну дію лазерного випромінювання на морфо-біохімічні і імунологічні показники крові корів. Доцільно застосовувати лазерне випромінювання при лікуванні субклінічного маститу у корів.

**Ключові слова:** субклінічний мастит, імунобіологічна реактивність, лазеротерапія, антибіотикотерапія, новокаїнотерапія, експрес-методи діагностики, морфо-біохімічні і імунологічні показники крові, неспецифічна резистентність, гістоструктура молочної залози.

**Шпилевая Л.А. Иммунобиологическая реактивность коров, больных субклиническим маститом, и ее изменения после лазеротерапии. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.07 – ветеринарное акушерство. – Национальный аграрный университет. - Киев, 2003.

Диссертация посвященная изучению причин распространения субклинического мастита у коров, экспресс-методов диагностики, а также влиянию лазеротерапии, этиотропного и патогенетического лечения на неспецифическую резистентность и гистоструктуру молочной железы коров, больных субклиническим маститом; определению эффективности лазеротерапии по сравнению с другими методами лечения. В результате проведенных исследований установлено, что у коров, больных субклиническим маститом происходят нарушения морфо-биохимического состава крови, гуморальных факторов неспецифической резистентности; развивается иммунодефицитное состояние.

Анализ результатов бактериологического исследования молока коров, больных субклиническим маститом, показал, что заболевание вызывается не одной культурой микроорганизмов, а их ассоциаций. В хозяйствах Луганской области доминирующими оказались Str.agalactiae и Staph.aureus. Выявлена высокая чувствительность всех выделенных микроорганизмов к неомицину, тетрациклину и канамицину.

Наиболее чувствительным методом экспресс-диагностики субклинического мастита у коров является метод с 0,5%-м спиртово-водным раствором бромтимолового синего (87,7%). При этом он дает наибольшее количество реакций, которые совпадают с результатами подсчета лейкоцитов в 1 см3 молока.

Было изучено действие лазерного излучения, мастисана-Б и новокаиновой блокады по Д.Д. Логвинову на гистоструктуру вымени. Установлено, что лазерное излучение положительно влияет на железистую ткань вымени по сравнению с менее эффективным действием антибиотиков. Доказана высокая терапевтическая эффективность низкоинтенсивного лазерного излучения от полупроводникового диода при субклиническом мастите у коров, которая составила 83,3% при курсе лечения 4,5 дней.

Лазерное излучение оказывает также положительное влияние на морфо-биохимические и иммунологические показатели крови коров. Под действием лазерного излучения увеличивается количество эритроцитов до 5,9±0,02 т/л, гемоглобина до 109,0±0,9 г/л; восстанавливается белковый состав сыворотки крови, при этом содержание γ-глобулинов уменьшается и составляет 32,8±0,7%; стабилизируется функциональное состояние Т-лимф и их субпопуляций, увеличивается количество Т-а (на 100%), Т-х (на 81,6%) и уменьшается – Т-s (на 15,8%).

Целесообразно применять лазерное излучение при лечении субклинического мастита у коров.

**Ключевые слова:** субклинический мастит, иммунобиологическая реактивность, лазеротерапия, антибиотикотерапия, новокаинотерапия, экспресс-метод диагностики, морфо-биохимические и иммунологические показатели крови, неспецифическая резистентность, гистоструктура вымени.

Shpilevaya L.A. Immunebiological reactivity of cows sick on subclinical mastitis and its changing after course of laser therapy. – Manuscript.

Thesis is presented for conferring a scientific degree of the candidate of veterinary sciences on a speciality 16.00.07 - veterinary obstetrics. – National agrarian university, Kiev, 2003.

The dissertation is devoted to studying etiopathogenesis of subclinical mastitis, express diagnostic methods and calculation of leukocytes in udder secret. The outcomes of researches on influence of laser radiation and antibiotics on nonspecific reactivity and udder histostructure of the cows in a case of subclinical mastitis are submitted in a thesis.

Therapeutic efficiency of laser in comparison with other curing methods is detected. By the conducted researches it was established subclinical mastitis lead to essential damage of morphologic-biochemical structure of a blood, humoral parameters of a nonspecific reactivity; immunedeficient state of organism.

For the first time there has been investigated the influence of laser radiation on udder histostructure. At analysis of medical properties of a laser radiation from the semiconducting diode it’s high therapeutic efficiency was established in a case of subclinical mastitis. It is detected the promotind effect of a laser radiation on biochemical, immunological parameters of cows.

In practical conditions for treatment of the cows, ill by a subclinical mastitis, it is expedient to use laser radiation.

**Keywords:** a subclinical mastitis, cows, immunebiological reactivity, laser therapy, antibiotic therapy, express methods of diagnostic of subclinical mastitis, morphologic-biochemical structure of a blood, immune parameters of a blood, factors of nonspecific reactivity of an organism, histostructure of udder.



Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Луганському національному аграрному університеті

Міністерства аграрної політики України

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

|  |
| --- |
| Мороз Іван Герасимович |

Луганський національний аграрний університет,

завідувач кафедри незаразних хвороб тварин

доктор ветеринарних наук, професор

**Харенко Микола Іванович**,

Сумський національний аграрний університет,

завідувач кафедри акушерства і хірургії

**Офіційні опоненти**: доктор ветеринарних наук, професор

**Хомин Степан Петрович,**

Львівська державна академія ветеринарної

медицини ім. С.З.Гжицького, завідувач

кафедри акушерства і штучного осіменіння

кандидат ветеринарних наук, доцент

**Плугатирьов Віктор Павлович**

Полтавська державна аграрна академія,

доцент кафедри ветеринарного акушерства

та штучного осіменіння

**Провідна установа:** Білоцерківський державний аграрний

університет, кафедра акушерства і штучного осіме-

ніння сільськогосподарських тварин. Міністерство

аграрної політики України, м. Б. Церква

Захист відбудеться “\_\_\_”\_\_\_\_\_\_\_\_\_2003 р. о \_\_\_годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 26.004.13 у Національному аграрному університеті за адресою: 03041, м. Київ-41, вул. Героїв оборони, 15, навч. корпус № 3, ауд. 65.

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

Автореферат розісланий “\_\_\_” 2003 р.

Вчений секретар спеціалізованої

вченої ради Лакатош В. М.

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Субклінічний мастит (СМ) – це поширене захворювання корів, яке спричиняє великі економічні збитки пов’язані із зниженням молочної продуктивності, санітарної якості молока, передчасним вибраковуванням корів, збільшенням захворюваності новонароджених телят, порушенням відтворної функції тварин і інші (Ільїн А.І., 1961; Зверєва Г.В., 1970; Івашура А.І., 1972; Мутовін В.І., 1974; Карташова В.М., Слободянік В.І., 1982; Полянцев М.І., 1985; Паріков В.О., 1986; Оксамитний М.К., 1988; Загаєвський І.С., 1992; Хомин С.П., 2000 та ін.). Останнім часом назріла необхідність у пошуках новихвисокоефективних методів лікування корів із СМ, які б не мали негативного побічного впливу, обумовленого присутністю антибіотиків. У ветеринарній практиці лазеротерапія, як простий та екологічно небезпечний метод лікування, з’явилась недавно, тому вивчення її терапевтичної ефективності при СМ, впливу на організм тварини, в тому числі і на молочну залозу порівняно з загальноприйнятими методами лікування є без сумніву доцільним і актуальним. Використання лазерного випромінювання, як нового засобу лікування корів при субклінічному маститі є актуальним на фоні вивчення динаміки показників імунобіологічної реактивності організму та характеру змін гістоструктури молочної залози. Визначення імунологічних параметрів дозволить прогнозувати перебіг захворювання, оцінити ефективність імунокорегуючої терапії, що може бути використано у виробничих умовах для оцінки фізіологічного стану тварин.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є частиною науково-дослідної роботи “Розробка методів підвищення резистентності сільськогосподарських тварин Луганської області” кафедри анатомії і фізіології тварин факультету ветеринарної медицини Луганського національного аграрного університету (номер державної реєстрації 0197U004952).

**Мета і задачі дослідження.** Метою досліджень було вивчення імунобіологічної реактивності організму корів, хворих на субклінічний мастит, та її змін після застосування традиційних методів лікування і лазеротерапії із використанням апарата СТП-5.

Для досягнення мети нами були поставлені такі задачі:

- вивчити показники імунологічної реактивності корів, хворих на субклінічний мастит;

- визначити у порівняльному аспекті терапевтичну ефективність при субклінічному маститі методу лазеротерапії корів та традиційних методів (етіотропний і патогенетичний);

- встановити і з’ясувати характер змін імунологічних, біохімічних і морфологічних показників крові корів, хворих на субклінічний мастит, та гістоструктуру їх молочної залози під впливом лазеро-, етіотропної та патогенетичної терапії;

- визначити економічну ефективність різних методів терапії корів при субклінічному маститі, відібрати з них кращий і запропонувати методику його застосування.

*Об’єкт дослідження –* клінічно здорові та хворі на СМ корови.

*Предмет дослідження* – секрет здорових та уражених СМ чвертей вим’я, проби крові клінічно здорових корів та хворих на СМ після застосування лазеро-, антибіотико- та новокаїнотерапії.

*Методи дослідження.* При виконанні роботи використовували клінічні, цитологічні, бактеріологічні, біохімічні, гематологічні, імунологічні, гістологічні методи дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше встановлено і з’ясовано характер змін імунологічних, біохімічних і морфологічних показників крові, хворих на субклінічний мастит корів та вивчена гістоструктура їх молочної залози під впливом лазеро-, етіотропної- та патогенетичної терапії.

З’ясовано терапевтичну ефективність методу лазеротерапії корів при СМ порівняно з етіотропним та методом патогенетичної терапії, а також проведено розрахунок економічної ефективності вищезгаданого методу, доцільності застосування напівпровідникового лазерного апарата СТП-5.

Науково обґрунтовано результати застосування лазеротерапії корів, хворих на субклінічний мастит, що є пріоритетним науковим досягненням з даної проблеми в умовах України.

**Практичне значення одержаних результатів.** Встановлено показники імунобіологічної реактивності корів, хворих на субклінічний мастит, та їх зміни після застосування традиційних методів та лазеротерапії мають практичне значення в діагностиці, лікуванні та профілактиці патології молочної залози.

Запропонована методика застосування низькоінтенсивного лазерного випромінювання при терапії корів, хворих на СМ, з використанням лазерного апарата СТП-5 впроваджена у трьох господарствах Луганської області, а також впроваджується в господарствах інших областей України.

Матеріали дисертації використовуються при вивченні курсу “Акушерство, гінекологія і біотехнологія розмноження сільськогосподарських тварин” на факультеті ветеринарної медицини та зооінженерному факультеті Луганського і Сумського НАУ. За результатами досліджень, що викладені в дисертації опубліковано методичні рекомендації з діагностики та лазеротерапії маститу у корів, що схвалені науковою радою факультету ветеринарної медицини Луганського ДАУ, затверджені методичною комісією Луганського ДАУ і видані масовим тиражем.

**Особистий внесок здобувача.** Всі дослідження проведено за безпосередньою участю здобувача. Імунологічні дослідження проводились спільно із співробітниками лабораторії кафедри стаціонарної педіатрії Луганського державного медичного університету (ДМУ).

Особисто здобувачем виконано весь обсяг експериментальних досліджень, статистичну обробку даних на персональному комп’ютері за допомогою програми “Gesta”; проведено огляд та аналіз джерел наукової літератури за темою дисертації.

Аналіз та обговорення результатів, підготовку їх до друку та написання дисертації й автореферату здійснено самостійно за допомогою наукового керівника.

**Апробація роботи.** Матеріали дисертації обговорено на:

* 1-й Міжнародній науково-практичної конференції “Сучасні проблеми ветеринарної медицини з питань фізіології і патології відтворення тварин”. Травень 25-26, 2000 року (Київ);
* Міжнародній науково-практичній конференції “Ветеринарна наука на порозі ХХІ віку”, присвяченій 85-річчю від дня народження академіка ВАСГНІЛ І.М. Гладенка. Листопад 12-15, 2000 року (Харків);
* наукових конференціях Луганського ДАУ. 1998, 1999, 2000, 2001 рр. (Луганськ);
* обласних, міських, районних засіданнях і семінарах фахівців ветеринарної медицини Луганської області.

**Публікації.** Основні положення дисертації викладено у 9 наукових працях, з яких особистих – 5, у співавторстві – 4, видано у фахових виданнях 3 праці.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 152 сторінках, складається із вступу, 4-х розділів, висновків та списку використаних джерел, який включає 300 джерел, з них – 64 іноземних; містить 30 таблиць і 15 рисунків.

**ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛ
ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ**

Робота виконана у 1997-2000 рр. на кафедрі незаразних хвороб Луганського державного аграрного університету. Матеріалом власних дослідженьбули корови чорно–рябої породи, що належали дослідному господарству Луганського інституту агропромислового виробництва (ЛІАВ), Слов’яносербського району Луганської області. Для дослідів були відібрані корови віком 3-7 років, середньої вгодованості, масою тіла 400-500 кг із середньорічною продуктивністю 2800 кг, аналоги за тривалістю післяродового періоду, формою маститу, що утримувалися на однаковому раціоні. Годівля дослідних тварин здійснювалась згідно з існуючими нормами. Для досліду з застосування різних терапевтичних засобів було сформовано 5 груп корів, у тому числі 4 дослідні і одну контрольну (табл. 1).

Коровам І групи після старанного здоювання в дійку вводили комбінований хіміотерапевтичний засіб – мастисан-Б, до складу якого входять неоміцин, сульфадимезин та метилурацил, в дозі 5 мл один раз на добу.

Таблиця 1

Схема досліду

|  |  |
| --- | --- |
| Групи корів | Кількість тварин, гол. |
| І дослідна (антибіотикотерапія) | 25 |
| ІІ дослідна (лазеротерапія) | 25 |
| ІІІ дослідна (новокаїнотерапія) | 25 |
| ІV дослідна (не лікували) | 10 |
| Контрольна (клінічно здорові) | 25 |

Корів ІІ групи лікували шляхом опромінювання поверхні ураженої долі вим’я і біологічно активних точок 51, 56, 57, 63 та 64. Лазерний апарат СТП-5 забезпечує лікування низькоінтенсивним лазерним імпульсним випромінюванням ближньої інфрачервоної області спектра від напівпровідникового лазерного діода. Потужність випромінювання 0,3 Вт, довжина хвилі 0,89-0,99 мкм, площа випромінювальної поверхні 0,2-45 см3. Габаритні розміри 180 × 50 × 20, маса з акумуляторами 160 г.

Коровам ІІІ групи вводили 0,5%-й розчин новокаїну у надвим’яний простір за методикою Д.Д. Логвинова. Ін’єкцію робили 1 раз у три доби.

Корів ІV дослідної групи не лікували. У контрольній групі були клінічно здорові тварини.

Визначення причин виникнення та поширення СМ у дослідному господарстві ЛІАВ, оцінку молочної продуктивності корів проводили за допомогою даних амбулаторних журналів лікарів ветеринарної медицини, даних зоотехнічного обліку і власних досліджень.

Діагностику маститів проводили клінічними та лабораторними методами. Клінічні дослідження проводили за загальноприйнятою методикою (Г.Г. Харута, 1997). Лабораторну діагностику проводили безпосередньо у стійлі з використанням 5%-го розчину димастину і 0,5%-го спиртово-водного розчину бромтимолового синього. Результати підтверджували пробою відстоювання. Діагностичну ефективність кожного тесту порівнювали з результатами підрахунку лейкоцитів у 1 см3 молока, який проводили за методом Прескотта-Бріда з фарбуванням мазків за Папенгеймом.

Бактеріологічні дослідження секрету із хворих чвертей вим’я проводили за загальноприйнятими методиками. Ідентифікацію і класифікацію збудника здійснювали за Bergey (1997), І.В. Голубєвою та ін. (1985), Starr et al. (1986). Рівень антибіотикочутливості виділених штамів визначали до 16 антибактеріальних засобів методом паперових дисків і серійних розведень відповідно до “Методических рекомендаций по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных” (Антонов А.И. и др., 1986).

Дослідження крові проводили після встановлення діагнозу на СМ та на 7 добу після одужання. Кількість еритроцитів та лейкоцитів визнача­ли у камері Горяєва, гемоглобін – ціангемоглобіновим методом. Лейкофор­мулу виводили методом підрахунку 200 лейкоцитів у мазках крові, пофарбованих за Романовським-Гімза. Вміст загального білка визначали рефрактометрично за методом Рейса (1975), білкові фракції – електрофорезом на папері за методом В.Є Чумаченко (1990). Імунологічні дослідження проводили за методикою, розробленою співробітниками лабораторії мікробіології та імунології лабораторії біохімії УНДІЄВ (Цимбал А.М., Корчан Н.І., Конаржевський К.Є. та ін., 1983) у лабораторії кафедри госпітальної педіатрії Луганського ДМУ. Фагоцитарну активність нейтрофілів гранулоцитів периферійної крові реєстрували за поглинанням часток латексу (діаметр = 1,0-3,3 мкм) і визначали як відсоткове відношення активних фагоцитів до їх загальної кількості. Метаболічну активність нейтрофілів крові визначали в тесті відновлювання нітросинього тетразолію (НСТ) за методом B.H. Park з співавторами в модифікації Ю.І. Бажори із співавторами. Залежно від різного ступеня інтенсивності специфічного забарвлення досліджувані клітини поділяли на три групи: слабопозитивні (НСТ+), позитивні (НСТ++), різко позитивні (НСТ+++). Вивчення лімфоцитів проводили методом Bojum. Загальну кількість Т-лімфоцитів (Т-лімф) визначали методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана за M. Jondal et al. у модифікації А.Р. Чередєєва із співавторами (1984). Вміст “активованих” (ранніх) лімфоцитів (Т-а) визначали модифікованим методом розеткоутворення за M. Wansbrong-Tones (1979). Визначення числа теофілінчутливих (Т-s) та резистентних до дії теофіліну (Т-х) клітин виконували за методом P. Limatibul et al. (1987). Т-термостабільні (Т-т) ідентифікували як клітини із загальної кількості Т-лімф, які створюють розетки з еритроцитами барана при 37°С. Рівень ЦІК у сироватці крові визначали за M. Digeon et al., у модифікації В.М. Фролова (1986). Оцінка гуморальної ланки імунітету містила визначення кількості В-лімфоцитів (В-лімф) за методом комплементарного розеткоутворення, а також за допомогою моноклональних антитіл СД 19+ (N.F. Mendes et al., 1976). Бактерицидну (БАСК) і лізоцимну (ЛАСК) активність сироватки крові визначали фотонефелометричним методом, модифікованим співробітниками відділу зоогігієни УНДІЕВ (1974).

Для гістологічного дослідження молочної залози матеріал відбирали після забою тварин у господарстві. Із шматочків вимені, розміром 1 × 0,5 см робили гістологічні препарати згідно з методикою (Коротченко М.В., 1987). Матеріал фіксували у 10%-му розчині нейтрального формаліну. Приготовлені зрізи завтовшки 10 мк заливали парафіном та фарбували гематоксиліном–еозином. На препаратах вивчали гістологічні зміни у тканині при СМ та після лікування різними методами.

Економічний ефект методів терапії корів при субклінічному маститі визначали за методикою Ф.Ф. Білоусова із співавт (1982). Статистичну обробку отриманих результатів проводили методом варіаційної статистики на комп’ютері Pentium-3 за програмою Gesta з використанням таблиці Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ**

**Причини поширення і клінічні прояви маститу**

**у корів у дослідному господарстві ЛІАВ Луганської області**

Впродовж 1997-2000 рр. нами було проведено обстеження поголів’я корів, які належали дослідному господарству ЛІАВ Слов’яносербського району Луганської області щодо виявлення різних форм маститу, причин виникнення та поширення СМ у корів. Так, із 1040 досліджених корів 316 тварин (30,4%) були хворими на мастит. Субклінічний мастит виявили у 82,9% хворих тварин; серозний – 8,9%; катар цистерн – 3,8%; катар альвеол – 1,9%; серозно-катаральний і гнійно-катаральний – у 2,5%.

Загальний стан корів, хворих на СМ, не змінювався, не відмічалося змін зовнішнього виду молочної залози. При пальпації тканина чвертей вим’я, уражених субклінічним маститом, була пружньо-еластична, не болюча. При серозному маститі у корів спостерігалося незначне погіршення апетиту, уражені чверті збільшувалися, молочна продуктивність знижувалася. При катаральному і серозно-катаральному маститі секрет із молочної залози був водянистий з пластівцями та згустками казеїну. Уражені чверті збільшувалися, підвищувалася температура шкіри і болючість. При пальпації відчувалися дифузні або локальні ущільнення. Відмічалось зниження продуктивності. Гнійно-катаральний мастит характеризувався пригніченням загального стану тварини, погіршенням або відсутністю апетиту, значним підвищенням температури тіла і різким зниженням надою. Молоко було сірувато-білого або жовтого кольору з домішками пластівців та гною. Уражена чверть збільшувалася, температура шкіри підвищувалася. При пальпації вим’я помірно або значно була виражена болючість і ущільнення тканин.

У 137 (43,4%) корів мастит діагностувалося у передніх чвертях вим’я, а у 179 (56,6%) корів – у задніх. Найчастіше (73,4%) уражалася одна чверть вим’я, рідше дві (19,0%) і тільки як виняток одночасно три (4,7%) або чотири (2,9%). З’ясування причин високої частоти захворювання корів на СМ проводилось за допомогою аналізу різних зовнішніх та внутрішніх чинників, які впливають на організм і молочну залозу корів. Захворюваність корів на СМ була найвищою в осінньо-зимовий та весняний період і значно знижувалась влітку. У 1997-1998 рр. пік захворювання реєстрували у березні, що було обумовлено погіршенням якості кормів, умов утримання та рядом інших факторів, які негативно впливали на загальну резистентність організму та локальну стійкість молочної залози. Спостерігалось поступове зниження захворюваності корів на СМ у 1998 та 1999 році порівняно з 1997 роком, що пов’язано з систематичним проведенням діагностичних досліджень і своєчасним лікуванням хворих тварин з використанням лазерного випромінювання. У перший місяць лактації зареєстровано найвищий відсоток хворих на СМ (32,7%), який поступово знижувався до 4,7% на сьомому місяці лактації. У період запуску кількість хворих на СМ корів зростала на 16,8% і помірно знижувалась у сухостої. Серед етіологічних факторів виникнення СМ у корів значний відсоток належить гінекологічним захворюванням (51,8%), порушенню технології доїння (34%). Відсоток корів, що перехворіли на СМ збільшувався прямо-пропорційно підвищенню молочної продуктивності. У цих тварин відбувалося зниження молочної продуктивності на 18,5% (Р<0,05). Через три тижні після одужання продуктивність підвищувалась лише на 13,6% (Р<0,05), але не досягала початкового рівня. У цілому, в етіологічній структурі СМ у корів велику роль відігравали порушення технологічного процесу виробництва молока, правил машинного доїння та ветеринарно-санітарних правил, що сприяло зниженню резистентності організму, інфікуванню вим’я патогенною і умовно-патогенною мікрофлорою, високій захворюваності тварин на мастит.

**Діагностика субклінічного маститу у корів**

Діагноз на СМ ставили комплексно, з урахуванням результатів ретельного клінічного дослідження молочної залози та використанням порівняльної експрес-діагностики з 5%-м водним розчином димастину та 0,5%‑м спиртово-водним розчином бромтимолового синього. Результати підтверджували пробою відстоювання. За допомогою тесту з 0,5%-м водно-спиртовим розчином бромтимолового синього було виявлено 6,7% хворих на СМ корів; з 5%-м розчином димастину – 7,3%; пробою відстоювання – 4,6%. Слід зазначити, що тест з 0,5% водно-спиртовим розчином бромтимолового синього мав більшу кількість реакцій, які збігалися з результатами проби відстоювання.

Постійною ознакою запального процесу в молочній залозі є підвищення в молоці кількості соматичних клітин, головним чином лейкоцитів. При визначенні корелятивної залежності ефективності експрес-методів діагностики СМ від кількості лейкоцитів у молоці нами встановлено, що результати з 0,5%-м спиртово-водним розчином бромтимолового синього співпадали з результатами підрахунку лейкоцитів у 87,7%, з 5% розчином димастину – у 82,0%, а з пробою відстоювання – у 77,0%. Тест з 0,5%-м спирто-водним розчином бромтимолового синього давав найбільшу кількість позитивних реакцій, що збігалися з результатами підрахунку лейкоцитів в 1 см3 молока.

При СМ у молоці корів на тлі загального збільшення лейкоцитів спостерігалося підвищення нейтрофілів. Якщо в молоці із здорової долі вим’я (в 100 клітинах) їх містилося 40,50±0,42%, то в молоці уражених чвертей вим’я – 78,90±0,69% (Р<0,001). Збільшення нейтрофільних лейкоцитів відбувалося за рахунок зменшення лімфоцитів, моноцитів та інших клітинних елементів.

**Бактеріальна контамінація молока корів, хворих на субклінічний
мастит, та чутливість виділених культур до антибіотиків**

При бактеріологічному дослідженні 64 проб секрету уражених чвертей вим’я із 26 проб виділили стрептококи, що становило 40,6% від загальної кількості досліджених проб. Причому у 15 випадках (23,4%) були виділені патогенні стрептококи (Str.agalactiae) і у 11 пробах (17,2%) – непатогенні.

Стафілококи виділялися із 14 проб секрету (21,9%). Патогенні стафілококи (Staph.aureus) були виділені у 11 випадках (17,2%) і у 3 пробах (4,7%) – непатогенні.

Змішана мікрофлора була встановлена у 6 пробах (7,8%). У чотирьох пробах вона була представлена патогенними стрептококами і стафілококами (6,3%) і у двох випадках – непатогенними стафілококами (3,1%).

За даними, одержаними у нашому досліді 48,9% культур мікроорганізмів, які висівалися із секрету вим’я корів, хворих на СМ, були патогенними.

Виділені культури мікроорганізмів були чутливими до тетрацикліну та неоміцину; умовно чутливими до стрептоміцину (крім Str. dysgalactiae), ристоміцину (крім Staph. saprophitis); відсутня чутливість до пеніциліну, цефаліксину (крім Staph.epidermidis). До тілану, олеандоміцину, поліміксину і хлорамфеніколу була визначена стійкість непатогенних стафілококів і стрептококів у той час, як патогенні стафілококи і стрептококи були чутливими і умовно чутливими. Щодо рифампіцину і ристоміцину, то чутливість до них визначена у Str.epidermidis. До еритроміцину і лінкоміцину були чутливими патогенні стрептококи і стафілококи, проте непатогенні мікроорганізми були умовно чутливими і не чутливими.

За результатами визначення чутливості мікроорганізмів секрету уражених чвертей вим’я ми знайшли можливим застосувати для лікування субклінічного маститу у корів мастисан-Б, до складу якого входять: неоміцин та сульфадимезин.

**Стан імунобіологічної реактивності корів,
хворих на субклінічний мастит**

За результатами досліджень встановлено (табл. 2), що хворі на СМ тварини поступалися здоровим за кількістю в крові еритроцитів (Р<0,001) і вмістом гемоглобіну (Р<0,05).

Щодо лейкоцитів, то їх загальна кількість у хворих на СМ корів зменшувалась на 17% (Р<0,01), що може бути пов’язано з їх міграцією в секрет молочної залози. Значним змінам піддавалася кількість нейтрофілів та лімфоцитів. У корів, хворих на СМ, спостерігалося збільшення вмісту паличкоядерних нейтрофілів більш ніж у два рази (Р**<**0,001**)**. За кількістю лімфоцитів хворі на СМ корови достовірно поступалися здоровим. Відбувається перерозподілення окремих формених елементів крові, яке пов’язане з підвищенням кількості нейтрофілів і зменшенням кількості лімфоцитів. При СМ ми спостерігали нейтрофілію зі зрушенням ядра вліво.

## Таблиця 2

## Морфо-биохімічні показники крові корів (n=10), М±m

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показники | Контрольна група | ІV група  |
| абсол. велич. | % | абсол. велич. | % |
| Еритроцити, Т/л | 5,9±0,3 |  | 5,4±0,2\*\*\* |  |
| Гемоглобін, г/л | 104,0±2,1 |  | 98,9±1,0\* |  |
| Лейкоцити, Г\л | 5,9±0,2 |  | 4,9±0,2\*\* |  |
| Еозинофіли, Г/л | 0,46±0,02 | 7,8±1,5 | 0,49±0,01 | 9,4±0,9 |
| Нейтро-філи, Г/л | паличко-ядерні | 0,20±0,01 | 3,4±0,5 | 0,41±0,01\*\*\* | 8,3±0,4 |
| сегменто-ядерні | 1,05±0,04 | 17,8±0,5 | 1,18±0,01 | 23,1±1,9 |
| Лімфоцити, Г/л | 3,94±0,22 | 66,8±4,0 | 2,56±0,24\*\*\* | 53,0±1,8 |
| Моноцити, Г/л | 0,24±0,04 | 4,1±0,2 | 0,30±0,03 | 6,2±0,8 |
| Загальний білок, г/л | 79,3±2,0 |  | 74,8±0,4\* |  |
| Альбуміни, г/л | 32,0±0,3 | 40,4±0,5 | 28,0±0,4\*\* | 37,4±0,6 |
| Глобуліни, г/лбу-ліни | α1 | 3,6±0,3 | 4,6±0,5 | 4,3±0,4 | 5,7±0,3 |
| α2 | 8,4±0,2 | 10,6±0,4 | 8,2±0,2 | 10,9±0,5 |
| β | 9,8±0,4 | 12,4±0,6 | 10,6±0,6 | 14,2±0,2 |
| γ | 25,3±0,7 | 32,0±1,3 | 23,8±0,8 | 31,8±0,9 |
| А/Г | 0,68±0,02 |  | 0,60±0,01\*\* |  |

Примітка: \*- Р<0,05; \*\*- Р<0,01; \*\*\*- Р<0,001.

При біохімічному дослідженні білкового складу сироватки крові хворих на СМ корів виявлено зменшення вмісту загального білка на 5,7% (Р<0,05), альбумінів на 12,5% (Р<0,01) та фракцій глобулінів на 1,1% (Р**<**0,05). Кількість γ-глобулінів зменшувалась на 5,9% (з 25,3**±**0,7 г/л до 23,8**±**0,8 г/л). При змінах кількості альбумінів порушується їх співвідношення з глобулінами. При СМ у корів альбуміно-глобуліновий коефіцієнт (А/Г) знижувався на 11,8% (Р<0,01) відносно контрольної групи, що свідчить про порушення оптимального співвідношення між фракціями (диспротеїнемію).

При визначені гуморальних факторів захисту (табл. 3) знайдено, що напруження бактерицидної активності сироватки крові корів, хворих на СМ, знижувалася з 71,3**±**1,7% до 56,2**±** 2,5% (Р<0,001). Щодо лізоцимної активності сироватки крові, то хворі корови також поступалися здоровим на 10,6% (Р<0,05). Утворення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) – складний біологічний процес, який відбувається в організмі і тісно пов’язаний з активацією гуморального і клітинного імунітету. Встановлено, що у крові корів, хворих на СМ, кількість великих ЦІК знижувалася на 32,6% порівняно із контрольною групою (Р<0,001). Кількість середніх ЦІК навпаки збільшувалась на 55,6%, але різниця була не достовірна. За вмістом дрібних ЦІК хворі на СМ корови переважали здорових у два рази (Р<0,05).

Одержані результати показали, що у крові корів, хворих на СМ, підвищувався рівень патогенних середньо- та дрібномолекулярних імунних комплексів.

Таблиця 3

Показники неспецифічної резистентності крові корів (n=7), M±m

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показники | Контрольна група | ІV група |
| Абсол.вел. | % | Абсол. вел. | % |
| БАСК, % |  | 71,3±1,7 |  | 56,2±2,5\*\*\* |
| ЛАСК, мкг/мл | 16,0±0,6 |  | 14,3±0,2\* |  |
| ЦІК, од | великі | 96,3±6,4 |  | 64,9±7,6\*\*\* |  |
| середні | 47,7±6,8 |  | 74,2±12,4 |  |
| дрібні | 63,3±8,3 |  | 124,9±27,6\* |  |
| В-лімф, Г/л | 0,90±0,05 | 22,8±0,4 | 0,46±0,02\*\*\* | 17,9±0,6 |
| Т-лімф, Г/л | 1,73±0,04 | 41,4±0,5 | 1,09±0,03\*\*\* | 42,7±0,7 |
| Т-а, Г/л | 0,11±0,07 | 2,79±0,3 | 0,036±0,07\* | 1,4±0,3 |
| Т-т, Г/л | 0,14±0,05 | 3,5±0,6 | 0,12±0,03 | 4,7±0,6 |
| Т-х, Г/л | 1,11±0,08 | 28,2±0,3 | 0,53±0,04\*\*\* | 20,7±0,7 |
| Т-s, Г/л | 0,52±0,05 | 13,2±0,7 | 0,54±0,05\*\*\* | 21,1±0,7 |
| ІРІ, од. | 2,14±0,31 |  | 0,98±0,05\*\* |  |
| ФА, % |  | 73,0±2,0 |  | 73,0±2,2 |
| ФЧ, од. | 3,4±0,3 |  | 3,1±0,3 |  |
| НСТ + |  | 6,0±0,7 |  | 7,2±0,8 |
| НСТ ++ |  | 2,4±0,4 |  | 5,8±0,6\*\*\* |
| НСТ +++ |  | 1,2±0,4 |  | 2,8±0,4\* |

Примітка: \*- Р<0,05; \*\*- Р<0,01; \*\*\*- Р<0,001.

При дослідженні ключових ланок імунної системи встановлено, що у корів, хворих на СМ, кількість Т-лімфоцитів зменшувалась на 37,0% (Р<0,001). За кількістю В-лімф хворі корови поступалися здоровим на 48,9% (Р<0,001). Такі зміни відбувалися на тлі зниження загальної кількості лімфоцитів. Фагоцитарна активність нейтрофілів (ФА) і фагоцитарне число (ФЧ) при СМ у корів знаходилися приблизно на одному рівні з клінічно здоровими. При більш глибокому дослідженні ФА, тобто при вивченні НСТ-тесту, який дає важливу інформацію не тільки про функцію нейтрофілів, але й про їх реакцію на токсичні продукти патологічного процесу та організму взагалі встановлено, що загальна кількість НСТ-позитивних клітин у корів, хворих на СМ, становила 15,8% (загальний рівень НСТ‑позитивних клітин в нормі не повинен перевищувати 8-12%), тоді, як у здорових тварин – 9,6%. Відсоток НСТ+ клітин у корів, хворих на СМ, відповідав показнику контрольної групи, але достовірної різниці не виявлено. Проте спостерігалося збільшення відсотка НСТ++ (Р**<**0,001) та НСТ+++ (Р**<**0,05) клітин. Ці зміни вказують на наявність запального процесу, внаслідок чого відбувається активація кисневозалежного метаболізму клітини. На тлі збільшення загальної кількості нейтрофілів, фагоцитарна активність при СМ у корів не підвищувалася, що свідчить про нездатність нейтрофілів до завершувального фагоцитозу.

Стан ланки імунокомпетентних клітин вивчали за субпопуляціями Т-лімф. При субклінічному маститі імунна система корів реагувала зниженням Т-а на 67,3% (Р**<**0,05), Т-х на 52,3% (Р<0,001) у той час, як рівень Т-s підвищувався на 3,8% (Р<0,001). ІРІ – імунорегуляторний індекс знижувався на 54,3% (Р<0,01). У здорових тварин (контрольна група) він становив 2,14±0,31, у корів, хворих на СМ – 0,98±0,05 (Р<0,01).

Таким чином, при СМ у корів переважним типом зсуву імунорегуляторних субпопуляцій є зниження рівня Т-а і Т-х при збільшенні Т-s і ІРІ.

**Терапевтична ефективність лазерного випромінювання
при субклінічному маститі у корів**

Терапевтична ефективність лазерного випромінювання становила 88,0% (22 гол.) при середній кількості сеансів 3,5. При лікуванні мастисаном-Б тільки 72,0% (18 гол.) при середній кількості сеансів 5. Терапевтична ефективність при застосуванні новокаїнової блокади за Д.Д. Логвиновим становила 84,0% (21 гол.) при 4 сеансах. Слід зазначити, що використання лазерного випромінювання при лікуванні субклінічного маститу дозволяє одержати екологічно чисті продукти тваринництва і зменшити негативну дію на організм фармакологічних засобів, які звичайно використовують з цією метою. При застосуванні лазерного випромінювання не спостерігалося больової реакції на місці аплікації.

Вплив лазерної, етіотропної та патогенетичної терапіїкорів
при субклінічному маститі на її імунологічну реактивність

За результатами проведених дослідів ми встановили, що між морфо-біохімічними і імунологічними показниками крові корів І, ІІ, ІІІ і ІV груп, хворих на субклінічний мастит, не існувало достовірної різниці. Це дозволило вважати, що всі показники у корів, хворих на СМ, знаходяться на одному рівні.

Після одужання корів І, ІІ, ІІІ груп спостерігали наближення кількості еритроцитів і вмісту гемоглобіну до показників контрольної групи. Корови з групи лазеротерапії випереджали контрольних за кількістю еритроцитів на 1,7% (різниця не достовірна) і за вмістом гемоглобіну на 3,8% (Р<0,01), що вказує на властивість лазерного випромінювання стимулювати кровообіг і кровотворення. Відмічено, що у тварин І групи існувала достовірна різниця з коровами ІІ групи за вмістом гемоглобіну (102,6±1,3г/л та 109,0±0,9 г/л відповідно) (Р<0,05), що вказує на пригнічення антибіотиками процесів кровообігу.

За кількістю лейкоцитів і показниками лейкограми корови І, ІІ, ІІІ груп після лікування наближалися до контрольних. Слід відмітити перевагу ІІ групи над іншими дослідними групами за наближенням вмісту лейкоцитів, моноцитів і лімфоцитів після одужання до рівня контрольної групи. Це вказує на позитивну протизапальну дію лазерного випромінювання. За кількістю еозинофілів, нейтрофілів і моноцитів корови І групи переважали контрольних на 11,1%, 3,2%, 8,6% відповідно і поступалися останнім за вмістом лімфоцитів на 8%, але різниця виявилася не достовірною. У корів ІV виявили поступове зниження кількості лейкоцитів (Р<0,05) і лімфоцитів (Р<0,001) та підвищення паличкоядерних нейтрофілів (Р<0,001), що дає підставу вважати про подальший розвиток запального процесу.

Після лікування у корів з групи лазеротерапії (ІІ група) кількість альбумінів, фракцій глобулінів та А/Г знаходилися на одному рівні з контрольними, але існувала достовірна різниця за вмістом загального білка (Р<0,001). Вміст γ-глобулінів у тварин ІІ групи збільшувався на 4,4%, тоді, як кількість α1-та α2-глобулінів незначно знижувалась, що вказує на підсилення імунобіологічних процесів і протизапальну дію лазерного випромінювання. Тварини з групи антибіотикотерапії (І група) поступалися контрольним за вмістом загального білка (75,2±0,5 г/л та 78,9±0,2 г/л відповідно) (Р<0,001), альбумінів (28,8±0,2 г/л та 31,6±0,6 г/л відповідно) (Р<0,001), γ-глобулінів (24,6±0,5 та 25,4±0,8 відповідно) (Р<0,05) та А/Г (0,62±0,02 та 0,67±0,01 відповідно) (Р<0,05), що вказує на диспротеїнемію у крові. Щодо корів з групи новокаїнотерапії (ІІІ), то після одужання вони поступалися контрольним за вмістом загального білка на 3,0% (Р<0,001) і фракцій глобулінів на 3,4% (Р<0,05).

При дослідженні гуморальних факторів резистентності встановлено, що після лікування показники бактерицидної і лізоцимної активності сироватки крові у корів ІІ і ІІІ підвищилися і знаходилися практично на одному рівні з контрольними, що обумовлено підвищенням активності комплементу і стимулюванням мононуклеарної фагоцитарної системи. Це вказує на позитивну дію лазеро- і новокаїнотерапії та перевагу їх над антибіотикотерапією. Щодо циркулюючих імунних комплексів, то у корів ІІ і ІІІ груп не існувало достовірної різниці з контрольними. В той час, як корови І групи поступалися контрольним за кількістю великих ЦІК на 24,3% і перевершували останніх за показником середніх ЦІК на 24,0% та дрібних ЦІК у два рази (Р<0,001), що свідчить про недостатню активацію функціональних систем поліморфноядерних лейкоцитів і мононуклеарів. Низький рівень великих ЦІК і високий – дрібномолекулярних у корів ІV групи вказує на пригнічення фагоцитарної активності нейтрофілів.

Щодо клітинних факторів природної резистентності організму, то у корів ІІ групи рівень ФА і ФЧ максимально наближався до контрольних. Це вказує на підвищення поглинальної здатності нейтрофілів і підвищення резистентності організму. Слід відмітити, що тварини І, ІІ і ІІІ груп перевищували корів ІV групи за ФЧ (Р<0,001).

При визначенні оксиредуктазного потенціалу лейкоцитів встановлено, що відсоток НСТ-реагуючих клітин достовірно знижувався у корів І, ІІ і ІІІ груп. Проте у корів ІІ і ІІІ груп цей показник відповідав рівню здорових тварин (11,8% і 12,0% відповідно), що вказує на підвищення ферментативної активності лейкоцитів. У корів І групи відсоток НСТ-реагуючих клітин становив 12,3% і перевищував рівень контрольних на 2,5%. Істотно збільшувався (3,8±0,4%) порівняно з контролем (2,3±0,2%) відсоток НСТ++ (Р<0,01), що вказує на підвищення метаболічної активності нейтрофілів і пригнічення мононуклеарної фагоцитарної системи. У корів І, ІІ і ІІІ груп спостерігали достовірну різницю з тваринами ІV групи за рівнем ФА (Р<0,05), ФЧ (Р<0,001), відсотком НСТ-реагуючих клітин (Р<0,05).

При визначені стану імунокомпетентних клітин виявлено, що у корів І, ІІ і ІІІ груп після лікування зростала відносна кількість Т- і В-лімф. Під дією лазерного випромінювання (ІІ група) у корів збільшувалась кількість Т-лімф на 66% (з 0,98±0,06 Г/л до 1,63±0,03Г/л) (Р<0,001) і досягала рівня контролю. Щодо В-лімф, то у корів ІІ групи їх кількість наближалась до рівня контрольних (0,72±0,08 Г/л і 0,88±0,04 Г/л відповідно), існуюча різниця не достовірна.

За кількістю Т-лімф корови з групи антибіотикотерапії (І група) наближалися до рівня контрольних. Щодо В-лімф, то їх кількість у корів І групи не досягала показників контрольних (0,68±0,03 Г/л і 0,88±0,04 Г/л відповідно) (Р<0,001), що вказує на пригнічення антибіотиками утворення В-лімф. У корів з групи новокаїнотерапії (ІІІ група) не існувало розбіжностей з тваринами ІІ групи за абсолютною кількістю В-лімф.

При визначені субпопуляцій Т-лімф (рис. 1, 2) встановлено, що у корів І, ІІ і ІІІ груп після лікування ці показники наближалися до рівня контрольних. За кількістю Т-s у корів усіх груп спостерігалося незначне перевищення рівня контрольної групи. Внаслідок цього ІРІ у тварин усіх дослідних груп поступався контрольним, у тому числі у І і ІІ на 20,5%, у ІІІ на 24,1%, але різниця не достовірна. Корови ІІ групи перевершували корів І групи за кількістю Т-а на 3,5% (0,089±0,01 Г/л проти 0,086±0,02 Г/л),

Г/л

Рис. 1. Вміст Т-а і Т-т-лімфоцитів в крові дослідних та контрольної груп

Г/л

Рис. 2. Вміст Т-х, Т-s лімфоцитів та ІРІ в крові дослідних
та контрольної груп

Т-х - на 3,0% (1,03±0,05 Г/л проти 1,0±0,08 Г/л) і корів ІІІ групи за
кількістю Т-х на 7,2% (1,03±0,05 Г/л проти 0,95±0,06). Це свідчить про позитивну дію лазерного випромінювання на імунну систему, зокрема на стимуляцію Т-клітинної ланки. У корів ІV групи протягом терміну спостереження зберігалося достовірне зниження кількості Т-а на 67,3% (Р<0,001), Т-х - на 51,8% (Р<0,001), ІРІ – на 55,5% (Р<0,001) в порівнянні з контрольною групою.

**Вплив лазерної, етіотропної та патогенетичної терапії на гістоструктуру молочної залози корів, хворих на субклінічний мастит**

При гістологічному дослідженні уражених СМ чвертей молочної залози виявлено, що запальний процес носить переважно характер проліферативних змін, як у альвеолярному епітелії, так і у стромі залози. Ці зміни впливають на функціональну здатність молочної залози внаслідок зменшення активно функціонуючої паренхіми. Після лазеротерапії спостерігали зменшення процесів проліферації і альтерації в просвіті альвеолотрубок і в міжальвеолярній тканині. Відновлювалась секреторна функція залозистої тканини. Після антибіотикотерапії зберігалися потовщення у міжчасточковій сполучній тканині та процеси атрофії в окремих часточках. Незворотні атрофічні процеси, які відбулися в паренхімі вим’я, зменшують функціональні можливості молочної залози. Після застосування новокаїнотерапії спостерігалося посилення компенсаторних реакцій, зменшувалися процеси проліферації і альтерації. Секреторні клітини стали високими, але зберігалося розростання міжчасточкової і внутрішньочасточкової сполучної тканини. При цьому окремі атрофічні дольки не відновлювалися і цим зменшували функціональні можливості молочної залози. Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено, що лазерне випромінювання позитивно діє на залозисту тканину вим’я, повністю відновлює секреторну функцію молочної залози і сприяє відновленню молочної продуктивності.

**ВИСНОВКИ**

1. У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі, що виявляється у вивченні показників імунобіологічної реактивності організму корів, хворих на субклінічний мастит та її змін після застосування лазеротерапії; обгрунтування методу лазеротерапії корів, хворих на субклінічний мастит, в основі якого покладено стимулювання імунобіологічної реактивності організму.
2. При субклінічному маститі у корів спостерігається імунодефіцитний стан, про що свідчить зниження досліджуваних показників імунної системи: Т-лімф до 1,09±0,03 Г/л (проти 1,73±0,04 Г/л у клінічно здорових; Р<0,001), В-лімф до 0,46±0,02 Г/л (проти 0,90±0,05 Г/л; Р<0,001), Т-а до 0,036±0,07 Г/л (проти 0,110±0,07 Г/л; Р<0,05), Т-х до 0,53±0,04 Г/л (проти 1,11±0,08 Г/л; Р<0,001), Т-s до 0,54±0,05 Г/л (проти 0,52±0,05 Г/л; Р<0,001), ІРІ до 0,98±0,05 од. (проти 2,14±0,31 од.; Р<0,01).
3. У корів, хворих на субклінічний мастит, відбуваються зміни гуморальних факторів неспецифічного захисту: зменшення БАСК до 56,2±2,5% (проти 71,3±1,7% у клінічно здорових; Р<0,001), ЛАСК до 14,3±0,2 мкг/мл (проти 16,0±0,6мкг/мл; Р<0,05). Збільшення кількості дрібномолекулярних ЦІК до 124,9±27,6 од. (проти 63,3±8,3 од.; Р<0,05).
4. Субклінічний мастит призводить до суттєвих порушень морфо-біохімічного складу крові - зниження кількості еритроцитів до 5,4±0,2 Т/л (проти 5,9±0,3 Т/л у клінічно здорових; Р<0,001), гемоглобіну до 98,9±1,0 г/л (проти 104,0±2,1 г/л; Р<0,05), лейкоцитів до 4,9±0,2 Г/л (проти 5,9±0,2 Г/л; Р<0,01), лімфоцитів до 2,56±0,24 Г/л (проти 3,94±0,22; Р<0,001), загального білка до 74,8±0,4 г/л (проти 79,3±2,0 г/л; Р<0,05), альбумінів до 37,2±0,6 г/л (проти 40,4±0,5; Р<0,01), глобулінів до 46,8±0,1 г/л (проти 47,3±0,2; Р<0,05), А/Г коефіцієнта до 0,60±0,01 (проти 0,68±0,02; Р<0,01).
5. Після лазеротерапії корів, хворих на субклінічний мастит, відбувається наближення морфо-біохімічних і імунологічних показників крові до рівня клінічно здорових тварин, за винятком показника загального білка, який не досягав рівня клінічно здорових тварин на 3,7%.
6. При застосуванні мастисану-Б у крові корів спостерігалося достовірно зменшення вмісту білка, альбумінів, α2- і γ-глобулінів, А/Г порівняно із здоровими тваринами. Щодо стану основних ланок імунної системи, то знайдено достовірно меншу кількість В-лімф та перевищення дрібних ЦІК порівняно із контрольною групою.
7. Новокаїнотерапія виявилася ефективним і доступним методом лікування субклінічного маститу у корів. При лікуванні корів новокаїновими блокадами виявлялась достовірно менша кількість фракцій глобулінів та В‑лімф порівняно з контрольною групою. Решта показників після одужання тварин наближалась до контрольних.
8. Лазеротерапія сприяла швидкому відновленню гістологічної структури паренхіми вим’я хворих корів - припинялися процеси проліферації та альтерації, відновлювалася секреторна функція залозистої тканини, нормалізувалися секреторні процеси в альвеолярному епітелії. Тоді як при лікуванні мастисаном-Б процеси атрофії в окремих місцях часток зберігалися. При новокаїнотерапії посилювалися компенсаторні реакції у залозистій тканині, зменшувалися процеси проліферації і альтерації.
9. Частота захворювання корів на СМ була значно вищою порівняно з клінічними формами маститу. Задні долі вимені уражалися частіше (56,6%) передніх (43,4%). Відсоток захворювання корів на СМ збільшувався з підвищенням їх молочної продуктивності. Найбільший ступінь ураження корів СМ спостерігався у зимово-весняний період, у перший місяць лактації і в період запуску.
10. Лазеротерапія з використанням напівпровідникового лазерного апарату СТП-5 є високоефективним методом лікування СМ у корів. Терапевтична ефективність при його використанні становила 88,0% при курсі лікування 3,5 днів, при лікуванні мастисаном-Б – 72,0% при середній кількості сеансів 5, при використанні новокаїнової блокади за Д.Д. Логвиновим – 84,0% при курсі лікування 4 дня.
11. У молоці уражених долей вим’я виділяється мікрофлора, серед якої переважають стрептококи, в тому числі, Str. agalactiae – 26,6%, Str. dysgalactiae – 6,4%, Str. uberis – 10,9%; із стафілококів – Staph. aureus – 21,9%, Staph. saprophitis – 10,9%; змішана мікрофлора Str. agalactiae + Staph. aureus висівалась у 14,1% проб, Str. epidermidis – 9,2% випадків. Виділена мікрофлора була чутливою до більшості антибіотиків.
12. Економічна ефективність ветеринарних заходів при лазеротерапії становила 30,46 грн., у той час як при антибіотикотерапії – 19,04 грн., а при новокаїнотерапії – 21,60 грн. на 1 грн. затрат.

**ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

1. З метою профілактики клінічних форм маститу, попередження зниження молочної продуктивності корів і одержання молока високої санітарної якості, щорічно в господарствах під час проведення основної гінекологічної диспансеризації (навесні – квітень і восени – жовтень) від контрольних груп тварин досліджувати імунобіологічні показники крові і розглядати їх як діагностично-прогностичні тести щодо вибору і застосуванню відповідних методів терапії субклінічного маститу.
2. Для лікування корів, хворих на субклінічний мастит, рекомендуємо застосовувати високоефективний, екологічно чистий, економічно вигідний метод лазеротерапії з використанням апарату СТП-5 - один раз на день з експозицією 3 хвилини на кожну хвору долю протягом 4-5 днів. Рекомендуємо опромінювати біологічно активні точки вим’я, які розташовані у центрі долі і в основі дійки.
3. З метою прискорення впровадження високоефективного, екологічно чистого і економічно обґрунтованого методу лазеротерапії у практику ветеринарної медицини рекомендуємо господарствам відшукати необхідні резерви для придбання лазерного приладу СТП-5.

**СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Шпилева Л.О. Імунологічні показники крові у корів при субклінічному маститі // Науковий вісник НАУ. - Київ, 2000. - №22. - С. 123‑126.
2. Шпилева Л.О. Вплив лазеротерапії на імунологічні показники крові корів, хворих на субклінічний мастит // Ветеринарна медицина України. - 2000. - №7. - С. 22-23.
3. Шпилева Л.О. Лазер і мастисан-Б при субклінічному маститі у корів // Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків, 2000. – №78. – Т. ІІ. – С 242-247.
4. Шпилевая Л.А. Терапевтическая єффективность лазеротерапии при субклиническом мастите у коров // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 1999. – С. 36-39.
5. Шпилевая Л.А., Пархоменко Л.И. Применение мастисана-Б при субклиническом мастите у коров и его влияние на иммунную систему // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 2000. – С. 83-85.

*Дисертантка вивчила терапевтичну ефективність мастисану-Б при субклінічному маститі у корів і його імунокорегуючу дію на гуморальний та клітинний імунітет.*

1. Методичні рекомендації по діагностиці та лазеротерапії маститу у корів // Мороз І.Г., Руденко А.Ф., Ігнатов М.М., Шпилева Л.О., Зажарська Н,М. – Луганськ, 2000. – 19 с.

*Дисертантка розробила методику лазеротерапії субклінічного маститу у корів.*

1. Шпилевая Л.А. Микрофлора молока, выделяемая при субклиническом мастите у коров // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 2001. – С. 86-88.
2. Мороз И.Г., Руденко А.Ф., Кот В.С., Бублик В.Н., Зажарский В.В., Зажарская Н.Н., Меженская Н.А., Шпилевая Л.А., Фомин С.В., Тресницкий С.Н. Использование этиотропной терапии при акушерско-гинекологических заболеваниях // Збірник наукових праць Луганського ДАУ. – 2001. - №12 (24). – С. 65-69.

*Дисертантка провела апробацію лазеротерапії субклінічного маститу у корів.*

1. Мороз И.Г., Шпилевая Л.А. Гистоструктура молочной железы при субклиническом мастите у коров и ее изменение после лазеро- и антибиотикотерапии // Збірник наукових праць Луганського ЛНАУ. – 2002. – С. 59-62.

*Дисертантка провела гістологічні дослідження паренхіми молочної залози при субклінічному маститі у корів та її зміни при застосуванні різних методів лікування.*

**Шпилева Л.О. Іммунобіологічна реактивність корів, хворих на субклінічний мастит, і її зміни після лазеротерапії. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.07 – ветеринарне акушерство. – Національний аграрний університет. – Київ, 2003.

Дисертація присвячена вивченню причин поширення субклінічного маститу у корів, експрес-методів діагностики а також впливу лазерного випромінювання, антибіотиків та новокаїнової блокади на неспецифічну реактивність організму та гістоструктуру молочної залози корів, хворих на субклінічний мастит; визначення ефективності лазеротерапії порівняно з іншими лікувальними методами. В результаті проведених досліджень встановлено, що захворювання корів на субклінічний мастит призводить до порушень морфо-біохімічного складу крові, гуморальних факторів неспецифічного захисту; розвивається імунодефіцитний стан. Комплексно вивчено дію лазерного випромінювання, мастисану-Б та новокаїнової блокади за Д.Д. Логвиновим на гістоструктуру молочної залози. Встановлено, що лазерне випромінювання позитивно діє на залозисту тканину вим’я порівняно з менш ефективною дією антибіотиків. Доведена висока терапевтична ефективність низькоінтенсивного лазерного випромінювання від напівпровідникового діоду при субклінічному маститі у корів. Виявлено позитивну дію лазерного випромінювання на морфо-біохімічні і імунологічні показники крові корів. Доцільно застосовувати лазерне випромінювання при лікуванні субклінічного маститу у корів.

**Ключові слова:** субклінічний мастит, імунобіологічна реактивність, лазеротерапія, антибіотикотерапія, новокаїнотерапія, експрес-методи діагностики, морфо-біохімічні і імунологічні показники крові, неспецифічна резистентність, гістоструктура молочної залози.

**Шпилевая Л.А. Иммунобиологическая реактивность коров, больных субклиническим маститом, и ее изменения после лазеротерапии. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.07 – ветеринарное акушерство. – Национальный аграрный университет. - Киев, 2003.

Диссертация посвященная изучению причин распространения субклинического мастита у коров, экспресс-методов диагностики, а также влиянию лазеротерапии, этиотропного и патогенетического лечения на неспецифическую резистентность и гистоструктуру молочной железы коров, больных субклиническим маститом; определению эффективности лазеротерапии по сравнению с другими методами лечения. В результате проведенных исследований установлено, что у коров, больных субклиническим маститом происходят нарушения морфо-биохимического состава крови, гуморальных факторов неспецифической резистентности; развивается иммунодефицитное состояние.

Анализ результатов бактериологического исследования молока коров, больных субклиническим маститом, показал, что заболевание вызывается не одной культурой микроорганизмов, а их ассоциаций. В хозяйствах Луганской области доминирующими оказались Str.agalactiae и Staph.aureus. Выявлена высокая чувствительность всех выделенных микроорганизмов к неомицину, тетрациклину и канамицину.

Наиболее чувствительным методом экспресс-диагностики субклинического мастита у коров является метод с 0,5%-м спиртово-водным раствором бромтимолового синего (87,7%). При этом он дает наибольшее количество реакций, которые совпадают с результатами подсчета лейкоцитов в 1 см3 молока.

Было изучено действие лазерного излучения, мастисана-Б и новокаиновой блокады по Д.Д. Логвинову на гистоструктуру вымени. Установлено, что лазерное излучение положительно влияет на железистую ткань вымени по сравнению с менее эффективным действием антибиотиков. Доказана высокая терапевтическая эффективность низкоинтенсивного лазерного излучения от полупроводникового диода при субклиническом мастите у коров, которая составила 83,3% при курсе лечения 4,5 дней.

Лазерное излучение оказывает также положительное влияние на морфо-биохимические и иммунологические показатели крови коров. Под действием лазерного излучения увеличивается количество эритроцитов до 5,9±0,02 т/л, гемоглобина до 109,0±0,9 г/л; восстанавливается белковый состав сыворотки крови, при этом содержание γ-глобулинов уменьшается и составляет 32,8±0,7%; стабилизируется функциональное состояние Т-лимф и их субпопуляций, увеличивается количество Т-а (на 100%), Т-х (на 81,6%) и уменьшается – Т-s (на 15,8%).

Целесообразно применять лазерное излучение при лечении субклинического мастита у коров.

**Ключевые слова:** субклинический мастит, иммунобиологическая реактивность, лазеротерапия, антибиотикотерапия, новокаинотерапия, экспресс-метод диагностики, морфо-биохимические и иммунологические показатели крови, неспецифическая резистентность, гистоструктура вымени.

Shpilevaya L.A. Immunebiological reactivity of cows sick on subclinical mastitis and its changing after course of laser therapy. – Manuscript.

Thesis is presented for conferring a scientific degree of the candidate of veterinary sciences on a speciality 16.00.07 - veterinary obstetrics. – National agrarian university, Kiev, 2003.

The dissertation is devoted to studying etiopathogenesis of subclinical mastitis, express diagnostic methods and calculation of leukocytes in udder secret. The outcomes of researches on influence of laser radiation and antibiotics on nonspecific reactivity and udder histostructure of the cows in a case of subclinical mastitis are submitted in a thesis.

Therapeutic efficiency of laser in comparison with other curing methods is detected. By the conducted researches it was established subclinical mastitis lead to essential damage of morphologic-biochemical structure of a blood, humoral parameters of a nonspecific reactivity; immunedeficient state of organism.

For the first time there has been investigated the influence of laser radiation on udder histostructure. At analysis of medical properties of a laser radiation from the semiconducting diode it’s high therapeutic efficiency was established in a case of subclinical mastitis. It is detected the promotind effect of a laser radiation on biochemical, immunological parameters of cows.

In practical conditions for treatment of the cows, ill by a subclinical mastitis, it is expedient to use laser radiation.

**Keywords:** a subclinical mastitis, cows, immunebiological reactivity, laser therapy, antibiotic therapy, express methods of diagnostic of subclinical mastitis, morphologic-biochemical structure of a blood, immune parameters of a blood, factors of nonspecific reactivity of an organism, histostructure of udder.

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