

десятью сутками после начала лечения эти показатели нормализовались у коров опытной группы по сравнению с контрольными коровами.

В первые дни после начала лечения, по сравнению с исходными данными у подопытных животных наблюдалась тенденция к увеличению показателей бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови (БАСК и ЛАСК). Так у коров опытной группы уже на третьи сутки показатели БАСК повысились на 5,1%, на десятые сутки - на 6% по сравнению с исходными данными, а также на 3,9% по сравнению с контрольными животными. Данные ЛАСК также повысились у животных опытной группы на 2,5% и 1,7% соответственно по сравнению с контрольными животными.

Таблица 2 - Показатели неспецифической резистентности организма подопытных коров (M±m)

Сроки исследования (сут)	Показатели, %				
	БАСК	ЛАСК	ФАН	ФИ	ФЧ
Контрольная группа					
До лечения	41,2±2,34	22,5±0,82	46,3±1,80	7,8±0,46	3,5±0,26
1	50,4±3,22	23,0±1,64	38,0±1,54	6,0±0,24	3,0±0,52
3	51,6±1,20	24,0±1,86	40,2±2,12	7,0±0,38	2,3±0,24
10	52,5±4,22	25,5±1,24	45,0±3,84	7,0±0,44	2,2±0,08
Опытная группа					
До лечения	50,4±1,26	22,4±1,88	46,2±2,55	7,5±0,14	3,8±0,48
1	53,2±2,24	25,0±1,34	56,4±3,82	10,8±1,0	3,2±0,52
3	55,5±4,36	26,5±1,43	62,8±3,24	11,4±1,24	3,0±0,08
10	56,4±3,22	27,2±2,64	60,4±2,86	9,0±1,90	3,0±0,09

Анализ таблицы показывает, что показатели фагоцитарной активности нейтрофилов (ФАН), фагоцитарного индекса (ФИ) и фагоцитарного числа (ФЧ) у подопытных животных до лечения находились без существенных изменений. Вместе с тем, у коров опытной группы ФАН и ФИ начиная с первых суток и до конца исследований повышались от 56,4% и 10,8% до 60,4% и 11,4% соответственно.

Заключение. Лечение копыт крупного рогатого скота с препаратом ТПД ускоряется по сравнению с контрольными животными на 10 суток и способствует повышению иммунобиологической реактивности организма. Это позволяет нам рекомендовать применение ТПД в производственных условиях для лечения и оздоровления стада от некробактериоза.

Литература. 1. Архангельский, И.И. Препараты цинка в борьбе с копытной гнилью овец / И.И. Архангельский // Ветеринария, 1986.-№9.-С.35-36. 2. Кузнецова, Е.А. Изучение действия тетрациклина пролонгированного действия при инфекционных болезнях крупного рогатого скота / Е.А. Кузнецова, А.В. Альдяков // Ветеринарный врач, 2010.-№6.-С.39-41. 3. Хузин, Д.А. Этиология, патогенез и меры борьбы с некробактериозом крупного рогатого скота / Д.А. Хузин, Х.Н. Макаев, Ф.А. Хусниев, Д.Н. Латфуллин, Н.А. Мухаметшин // Ветеринарный врач, 2010.-№5.-С.49-51.

УДК 619:614.3 637

ВИДОВОЙ СОСТАВ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ МИКРОФЛОРЫ, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ МОЛОКА БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ КОРОВ

Левченко А. Г., Гащук Е.С.

Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

Введение. Безопасность продовольственного сырья и продуктов питания является одним из основных факторов, определяющих здоровье человека. Пищевые

токсикоинфекции в настоящее время представляют собой значимую проблему, причем источником болезни могут служить как сырье, так и готовая продукция. На этиологию пищевых токсикоинфекций указывают многие отечественные и зарубежные ученые [1].

Действующими ветеринарно-санитарными правилами Украины запрещается реализация молока, полученного от коров, больных маститом. Вследствие широкого распространения заболевания, значительного экономического ущерба и санитарной угрозы для людей, решением II Международного симпозиума микробиологов, иммунологов и инфекционистов, мастит коров зачислен к первоочередным проблемам ветеринарной науки и практики. Законодательство Украины, гармонизировано с требованиями Евросоюза, определило новые, более сложные задачи в деле охраны здоровья животных и населения по обеспечению системы производства высококачественных продуктов животноводства.

Важнейшую роль в решении этих задач должны играть меры, направленные на обеспечение производства молока, которое должно соответствовать международным стандартам качества и безопасности, быть свободным от остатков токсичных веществ и патогенных микроорганизмов. Довольно часто такое молоко вызывает у людей расстройство функций желудочно-кишечного тракта, ангины, токсикоинфекции, дисбактериозы, аллергии [4].

Молочное скотоводство Украины – одна из ведущих отраслей животноводства, которая потребляет до 38 % кормовых ресурсов. На его долю приходится около 50 % всех затрат и свыше 25 % валовой продукции. Поставленные перед сельским хозяйством задачи требуют наряду с увеличением валового производства молока, улучшение его качества. Одним из факторов, влияющих на эти показатели, является заболевание коров маститом. По данным Всемирной организации инфекций здоровья животных, мастит приводит к более значительным убыткам, чем все болезни вместе взятые. Ущерб складывается из преждевременной выбраковки коров, недополучения молока и телят, ухудшения биологических, технологических и питательных качеств молока, увеличения заболеваний молодняка вследствие выпойки им молозива или молока больных маститом животных, повышенного бесплодия маток, затрат на диагностику, лечение. Кроме экономического, мастит причиняет и социальный вред, так как патогенные микроорганизмы вызывают заболевания людей [2].

Мастит возникает в результате сочетанного воздействия этиологического (возбудитель) и предрасполагающих факторов, основными из которых являются: нарушение правил кормления, содержания и доения коров, неисправность доильной аппаратуры, неудовлетворительное проведение на фермах профилактических мероприятий, а также несвоевременное выявление и лечение особей со скрытой формой болезни [3, 5].

В связи с этим целью данной работы стало выделение, идентификация, изучение биологических свойств штаммов микроорганизмов, полученных из молока больных маститом коров, и установление их чувствительности к антибиотикам.

Материал и методы исследований. При определении бактериальной обсемененности молока коров, больных маститом, использовали питательные среды: молочно-солевой агар для выделения *Staphylococcus aureus*; среда Эндо – *Escherichiacoli*; кровяной агар с 1% глюкозой представители рода *Streptococcusagalactiae*. агар для определения энтерококков Chromocult® с целью изоляции *Enterococcusfaecalis*.

Чувствительность бактериальных культур к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом. При этом использовали суспензию бактериальных клеток из суточной агаровой культуры в 0.85%-ном изотоническом растворе хлорида натрия, стандартизованную по отраслевому стандарту мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича на 5 ед. - 0,5 млрд. бактерий в 1 мл (~1,5x10 КОЕ/мл). Суспензию наносили на поверхность агара в объеме 0,2 мл (x10 КОЕ), равномерно распределяя стерильным шпателем. Через 10 - 15 мин накладывали диски (не более шести на чашку диаметром 100 мм). Посевы инкубировали при 28 °С. Предварительный учет проводили через 24 ч, окончательный - через 48 ч. Результаты регистрировали при появлении сливного роста на контрольных чашках (без дисков). Диаметры зон задержки роста культуры вокруг дисков, включая диаметр самого диска, измеряли штангенциркулем с точностью

до 1 мм.

Влияние антибиотиков на патогенную микрофлору регистрировали с помощью РЭМ 106 и (рисунок 1). Основной характеристикой РЭМ 106 и является его разрешающая сила, т.е. способность дать отдельное изображение двух смежных точек объекта, между которыми имеется малый угловой промежуток. Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили с помощью хроматографа 6850 N с идентификационной системой Sherlock.

Результаты исследований. Для выявления мастита на молочных фермах Сумской и Харьковской областей, за 3 года исследований, было обследовано 3860 коров. В 93 % случаев у них диагностировали мастит, в том числе клиническую форму в 19,4 %, субклиническую - в 80,6 % случаев.

Из 910 проб молока коров с субклинической формой мастита в 390 проб выделили *S. aureus*, в 290 – *S. agalactiae* и в 241 – *E. coli*; с клинической формой - из 728 проб: 318 - *S. aureus*; 200 - *S. agalactiae* и 210 - *E. coli*, *E. faecalis*. Установили, что в большинстве случаев причиной мастита является *S. aureus*.

По результатам исследований были идентифицированы патогенные микроорганизмы: *S. aureus*, *S. agalactiae*, *E. coli* (рисунок 1).

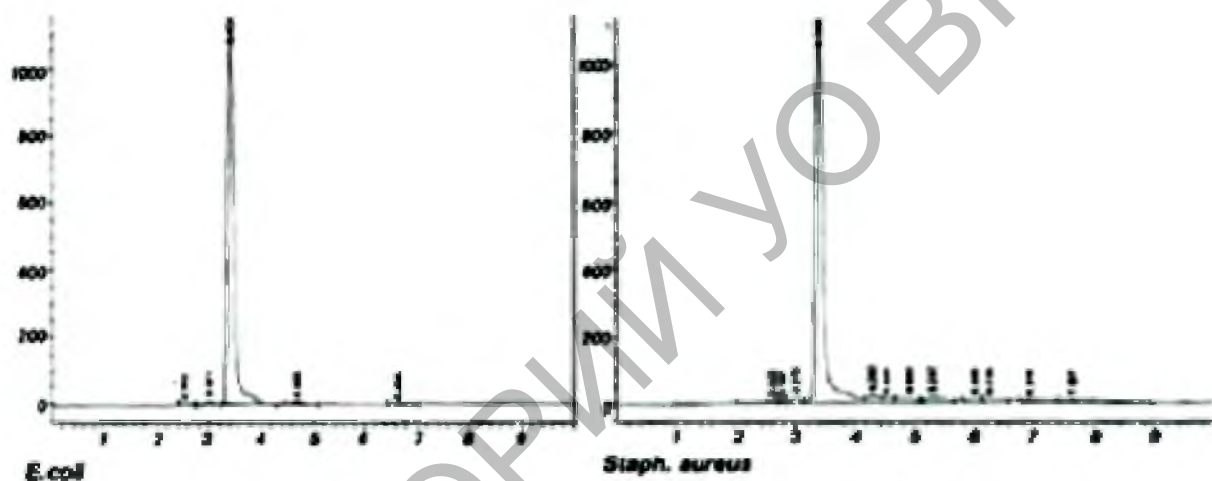


Рисунок 1 - Хроматографическая идентификация выделенных штаммов

В зависимости от чувствительности микроорганизма вокруг диска образуется большая или меньшая зона задержки роста на фоне сплошного газона культуры. Штангенциркулем по дну чашки измеряли диаметры зон задержки роста, включая размер дисков. Рост отдельных колоний испытуемого штамма в пределах зоны свидетельствовал о наличии в культуре устойчивых к антибиотику клеток. Чувствительность выделенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам определяли диффузией в агар (метод бумажных дисков). В исследованиях пользовались диагностическими дисками с неомицином, окситетрациклином, тилозином, ампициллином, канамицином, гентамицином, энрофлоксацином и цефтиофур гидрохлоридом.

Анализ результатов исследований показал (таблица 1), что выделенные культуры микроорганизмов наиболее чувствительны к цефтиофур гидрохлориду.

Из таблицы 1 видно, что культуры *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* и *Enterococcus faecalis* наиболее чувствительны к цефтиофур гидрохлориду. *Staphylococcus aureus* также чувствителен к энрофлоксацину, тилозину, окситетрациклину, малочувствительными – к неомицину, ампициллину, канамицину и гентамицину. Культуры *Streptococcus agalactiae* проявляли свою чувствительность к канамицину, ампициллину и были малочувствительны - к неомицину, окситетрациклину, тилозину, гентамицину и энрофлоксацину. Исследуемые штаммы *Escherichia coli* были чувствительны к канамицину, энрофлоксацину. *Enterococcus faecalis* не чувствителен к неомицину, окситетрациклину, канамицину и гентамицину.

Таблица 1 – Чувствительность микрофлоры, выделенной из секрета молочной железы коров, больных маститом, к антибактериальным препаратам

№ п/п	Антибактериальные препараты	Зона задержки роста (d), в мм			
		<i>S. aureus</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>
1	Неомицин	±	±	±	-
2	Окситетрациклин	+	±	-	-
3	Тилозин	+	±	±	+
4	Ампицилин	±	+	±	+
5	Канамицин	±	+	+	-
6	Гентамицин	±	±	-	-
7	Энрофлоксацин	+	±	+	±
8	Цефтиофура гидрохлорид	+	+	+	+

Примечание: «-» - нечувствительные (зона задержки роста <10 мм);

"±" - малочувствительные (зона задержки роста <16 мм);

"+" - чувствительные (зона задержки роста > 16 мм)

Действие цефтиофура гидрохлорида на структуру бактериальных клеток *S. aureus* определяли с помощью РЭМ 106 и.

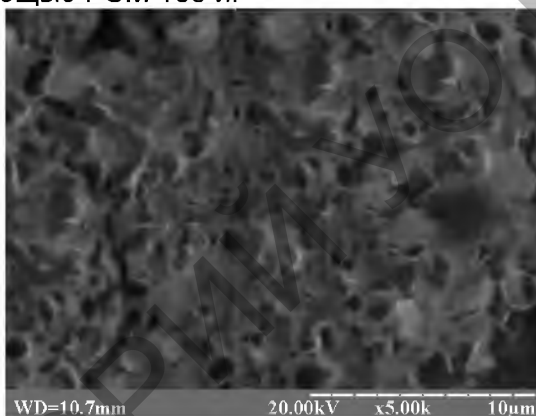


Рисунок 2 - Действие цефтиофура гидрохлорида на *S. aureus*

Как видно из рисунка 2, цефтиофура гидрохлорид нарушает целостность цитоплазматической мембраны, образование клеточной стенки посредством ингибирования синтеза пептидогликана. Механизм действия цефтиофура гидрохлорида связан с влиянием на цитоплазматическую мембрану микроорганизмов, где молекулы препарата сорбируются на фосфолипидах, что нарушает ее проницаемость и способствует выходу из клетки жизненно важных элементов цитоплазмы.

Заключение. В результате исследований в молоке больных маститом коров выявлены *Staphylococcus aureus* – 708 проб, *Streptococcus agalactiae* – 490 проб, *Escherichia coli* – 451 проба. Наибольшей антибактериальной активностью обладал в отношении *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*–цефтиофура гидрохлорид. Установлено разрушающее действие данного препарата на бактериальную клетку.

Литература: 1. Kjaestad H.P. *Cubicle refusal and rearing accommodation as possible mastitis risk factors in cubicle-housed dairy heifers* / Kjaestad H.P., E. Simensen // *Acta veter. Scand.* – 2001. – Vol. 42, № 1. – P. 123 – 130; 2. Родионов Г.В., Постанева Е.В., Ананьева Т.В. *Изменение микрофлоры сырого молока по сезонам года* // *Молочная промышленность.* 2011. № 6. С. 58, 59; 3. Godden S.M. *The effect of sampling time and sample handling on the detection of Staphylococcus aureus in milk from quarters with subclinical mastitis* / S.M. Godden, J.T. Jansen, K.E. Leslie // *Canad. Veter. J.* – 2002. – Vol. 43, № 1. – P. 38-42; 4. Власенко В. В. *Якість та безпека молока в Україні та ЄС і сучасний стан і перспективи розвитку* / В. В. Власенко // *Ефективне тваринництво.* – 2006. – № 3. – С. 32–34; 5. С.І.Климнюк, О.Ситник, М.С.Творко *Практична мікробіологія Тернопіль, "Укрмедкнига", 2004.-С.100-125*