

10,9 %, у т.ч., лімфоцитів – на 17,8 %. При цьому підвищувався вміст імуноглобулінів, показники гуморальної ланки неспецифічного захисту – лізоцимна і бактерицидна активність сироватки крові, а також клітинної ланки – фагоцитарна активність нейтрофілів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Edwards A. C., Edwards M. V. Nutritional alternatives for antimicrobial control in pigs. *Manipulating Pig Production* / ed. R. J. van Barneveld ; Australasian Pig Science Association. Werribee, 2011. Vol. 13. P. 182-190.
2. Tam M., Gómez, S., González-Gross M., Marcos, A. Possible roles of magnesium on the immune system. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2003. Vol. 57(10). P. 1193-1197
3. Manzanilla E. G., Perez J. F., Martin M., Kamel C., Baucells F., Gasa J. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *Journal of Animal Science*. 2004. Vol. 82. P. 3210-3218
4. Saurabh S., Sahoo P. K. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture research*. 2008. Vol. 39, № 3. P. 223-239
5. Beale L. K., Brouwers H. J. M., Turner B., Jordan D., Al Jassim R., Chapman T. A. Probiotics limit the severity of post-weaning diarrhoea. *Manipulating Pig Production* / ed. R. J. van Barneveld ; Australasian Pig Science Association, Victoria, Australia. Werribee, 2011. № 13. P. 51.

МАСТИТИ КОРІВ. БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ

О.І. Зорік, П.С. Юрко

Державний біотехнологічний університет

zorik.helen@gmail.com

Мастит великої рогатої худоби – це захворювання з мультиетіологічною природою, яке визначається як запалення вимені (Angeloroulou A. et al., 2019). Мастит призводить до величезних економічних збитків через зменшення виробництва молока та зниження його якості, тому зараз вирішенням цієї проблеми переймається майже увесь сучасний світ (IDF Animal Health Report, 2021).

Основним способом лікування маститу є введення антибіотиків – зазвичай безпосередньо у вим'я. Наразі існує нагальна потреба в новій терапії для лікування та запобігання хвороби, враховуючи широке поширення резистентності до антибіотиків і супутніх проблем у лікуванні інфекцій людей і тварин (Angeloroulou A. et al., 2019). Одним із шляхів вирішення проблеми антибіотикорезистентності при лікуванні маститів є використання специфічних бактеріофагів. Так, ефективність бактеріофагів, виділених на молочних фермах, випробовується у лабораторних умовах на мишах, вивчаються механізми дії бактеріофагів як *in vitro*, так і на коровах *in vivo* (Geng H., 2020).

Основна мета нашого дослідження полягала в вивченні розповсюдження стафілококів як збудників маститів корів та можливості виділення та ідентифікації бактеріофагів як кандидатів для боротьби з маститами.

Визначання кількості мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ) проводили за ДСТУ 7357:2013. Якість молока визначали у відповідності до ДСТУ 3662:2018. Визначення *Staphylococcus aureus* проводили за ГОСТ 10444.2-94. Культивування бактеріофагів проводили шляхом інфікування культури *Staphylococcus aureus*. Визначення літичної активності бактеріофагів здійснювали за методом Аппельмана. Аналіз нуклеотидних послідовностей бактеріофагів проводили з використанням бази даних GenBank (NCBI). Підбір праймерів та перевірку специфічності проводили за допомогою програмного забезпечення Primer3 (v. 0.4.1) та Blast.

Було проведено мікробіологічні дослідження проб молока корів, хворих на клінічний, субклінічний та хронічний мастити у порівнянні із пробами молока здорової тварини. На першому етапі визначено загальне бактеріальне обсіменіння зразків молока. За результатами досліджень найбільша кількість мікроорганізмів виявлена у пробі, що отримана від корови, хворої на клінічний мастит. За вимогами ДСТУ 3662:2018 кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ за температури 30 °С) для молока першого гатунку становить ≤ 500 тис. КУО/см³, тобто 50×10^4 КУО/см³. Встановлено, що тільки проба молока, отримана від корови з вираженим клінічним маститом, не відповідала першому гатунку за показником загального бактеріального обсіменіння, але дослідження потребують продовження з метою отримання більшої вибірки.

На наступному етапі було проведено виділення бактерій роду *Staphylococcus* із дослідних зразків молока корів. Встановлено наявність стафілококів у пробах молока, що були отримані від хворих на хронічний та субклінічний мастити корів, причому кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ) знаходилась у допустимих межах. Така картина підтверджує необхідність постійного контролю та обов'язкового лікування корів хворих не тільки на клінічний, але й хронічний та субклінічний мастити під контролем лабораторних досліджень.

Альтернативою використання антибіотиків при лікуванні маститів може бути створення та впровадження лікарських форм на основі бактеріофагів. За характером життєвого циклу фаги поділяються на вірулентні та помірні. Значний інтерес у даному випадку представляють вірулентні фаги через те, що вони є суворо літичними мікроорганізмами (викликають загибель клітини-господаря), в той час як помірні фаги не тільки не викликають загибелі бактерій, але й можуть переносити гени стійкості до антибіотиків (Furfaro L.L. et al., 2018). Тому наступним етапом було відпрацювання методики виділення та розмноження стафілококових фагів у культурі бактерій, що в подальшому дозволить використати цей метод при виділенні бактеріофагів для лікування маститів КРС.

Одним із ефективних і швидких методів ідентифікації вірусів взагалі, а бактеріофагів зокрема, є використання молекулярно-генетичних методів, наприклад полімеразної ланцюгової реакції. Важливим етапом розробки системи для індикації стафілококового бактеріофагу в матеріалі є підбір праймерів. З цією метою було проаналізовано представлені у Gen Bank послідовності стафілококових фагів та обрано вірулентні для подальших досліджень. За допомогою платформ Blast та Primer3 було теоретично підібрано праймерну систему та розраховано температуру відпалу для виявлення геномів стафілококових фагів у дослідних зразках, що дозволить підтверджувати наявність саме вірулентних, а не помірних бактеріофагів. В якості цільового фагу було обрано *Staphylococcus phage Twort* (№ в GenBank AF485080.1), а саме гени, що кодують рибонуклеотид редуктазу та ендонуклеазу.

Таким чином, мастити корів, що викликані стійкими до антибіотиків мікроорганізмами, є однією із ключових проблем тваринництва. Альтернативою використання антибіотиків може стати застосування препаратів на основі живих бактеріофагів. В роботі показано результати мікробіологічних досліджень проб молока корів, відпрацьовано методику виділення та розмноження бактеріофагів, обрано праймерну систему для подальшого проведення полімеразної ланцюгової реакції. Дослідження продовжуються.