

УДК 637.127:576

Тетяна Супрович, Микола Супрович, Володимир Паневник

Подільський державний аграрно-технічний університет, Україна

СОМАТИЧНІ КЛІТИНИ МОЛОКА ТА АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА BoLA-DRB3 У КОРІВ ПРИ ЗАХВОРЮВАННІ НА МАСТИТ

Tetyana Suprovych, Mykola Suprovych, Volodymyr Panevnyk

SOMATIC CELL COUNT AND POLYMORPHISM OF ALLELES BOLA-DRB3 GENE IN COWS AT MASTITIS

Одним з показників якості молока за кордоном вважається SCC (Somatic Cell Count) – кількість лейкоцитів в молоці (кл/мл). При запальному процесі в молочній залозі відбувається процес фагоцитозу. Посилена міграція лейкоцитів у вогнище запалення супроводжується зростанням загального числа соматичних клітин в молоці, що веде до серйозного зниження його якісних показників: втрачається біологічна повноцінність, погіршуються технологічні властивості при переробці, знижується кислотність молока, відзначаються втрати жиру, казеїну, лактози. Підвищений вміст SCC, як правило, спостерігається у молоці корів на початку лактації, у період запуску. Їх суттєве збільшення у молоці пов'язане з субклінічними та клінічними формами маститу, що виникли, в тому числі, як наслідок дії патогенних чинників. Отже показник кількості соматичних клітин – важливий індикатор, який відображає здоров'я молочної залози корів і якість сирого молока.

Дослідження, які проводяться в багатьох країнах світу, свідчать, що найбільш вагомою причиною інтрамамарної інфекції корів та основним чинником стійкості серед безлічі інших, є генетична детермінованість цієї ознаки. Одним з найбільш значимим в цьому відношенні є ген BoLA-DRB3, що кодує антигени класу II. Молекули класу II розташовані на поверхні В-клітин, які після внутрішньоклітинного процесінгу презентують чужорідні антигени Т-клітинам для забезпечення імунної відповіді гуморального типу.

Мета досліджень полягала у визначенні вмісту соматичних клітин у сирому молоці від здорових та хворих на мастит корів української чорно-рябої молочної породи та виявленні алелів гена DRB3, зв'язаних із кількістю SCC у молоці. Дослідження проведено в племінному господарстві ТОВ «Козацька долина 2006» Дунаєвецького району Хмельницької області.

Субклінічні мастити визначалися за допомогою мастидинової проби. Клінічні мастити виявлялися щоденним оглядом корів під час кожного доїння за стандартною методикою клінічного обстеження вимені. При визначенні збудників субклінічних маститів від хворих корів одразу після доїння відбирали паренхімне молоко у стерильні пробірки. При гнійно-катаральному ураженні вимені у стерильні пробірки збирали виділення з хворої чверті. Патологічний матеріал ставили в термос із льодом і досліджували не пізніше, ніж через дві години після відбору проб. Стафілококи виділяли на гемоагарі з 5 % крові великої рогатої худоби і 5 % натрію хлориду. До роду *Staphylococcus* зараховували кокові каталазопозитивані культури, які ензимували глюкозу середовища Хью-Лейфсона. До виду *Staphylococcus aureus* відносили культури, які коагулювали плазму кролика.

Бактерії групи кишкової палички виділяли на середовищі Ендо, а стрептококи – на середовищі Гарро. Ідентифікацію проводили згідно з визначником бактерій Берджі.

Для визначення кількості соматичних клітин було відібрано 238 проб паренхімного молока від здорових і хворих на мастити корів. З проб молока готували мазки і проводили підрахунок кількості соматичних клітин за методикою Прескотта-Бріда.

Алельний спектр екзона 2 гена *BoLA-DRB3* вивчали за допомогою ПЛР. Виділення ДНК проводили з використанням наборів «DIAtom TMN APRep 200» фірми ТОВ «Лабораторія Ізоген» згідно з вимогами виробника. Ампліфікацію фрагмента екзона 2 гена *BoLA-DRB3* проводили в один чи два етапи (Van Eijk et al, 1992; Сулімова та ін., 1995) з використанням набору «GenePak TM PCR Core» (IsogeneLab.ltd.). Для одноетапної ПЛР використовували праймери HLO-30 і HLO-32. Для двоетапної – для першого раунду HLO-30 і HLO-31, для другого раунду було використано праймери HLO-30 і HLO-32. Характеристика праймерів: HLO-30(5'-3': TCCTCTCTCTGCAGCACATTTCC); HLO-31(5'-3':ATTCGCGCTCACCTCGCCGCT), HLO-32 (5'-3': TCGCCGCTGCACAGTGAAACTCTC). Рестрикційний аналіз продуктів ампліфікації проводили з використанням ендонуклеаз *RsaI*, *HaeIII* і *BstYI* (*XhoII*). Продукти реакції розділяли за допомогою електрофорезу в 4% агарозному гелі (TopVision™ LE GQ agarose, Fermentas, Канада) у присутності бромистого етидію (5мМ/мл) і тестували в УФ-світлі.

Встановлено, що при клінічному і субклінічному прояві маститів виділяється три основних збудника у співвідношенні: *Staphylococcus aureus* – 38,2%, *Streptococcus agalactiae* – 36,8%, *Escherichia coli* – 25%. За клінічного перебігу захворювання найчастіше визначається стафілококовий мастит – 41,3%. Коліформний мастит проявлявся у 34,8% випадків, а стрептококовий – у 23,9% випадків. При субклінічному маститі *Streptococcus agalactiae* виділявся з 40,9% патологічного матеріалу, *Staphylococcus aureus* – 31,8% та *Escherichia coli* – 27,3%.

За результатами проведених досліджень проб молока від 214 корів виявлено, що рівень соматичних клітин у молоці знаходився у межах від 70 до 426 тис/см³ і залежав від віку та лактації тварин. У первісток концентрація соматичних клітин була найнижча. Так у 94 корів першої лактації середній показник SCC склав 142 тис/см³, а 62 корів 5 лактації – 262 тис/см³ (Рис.1).

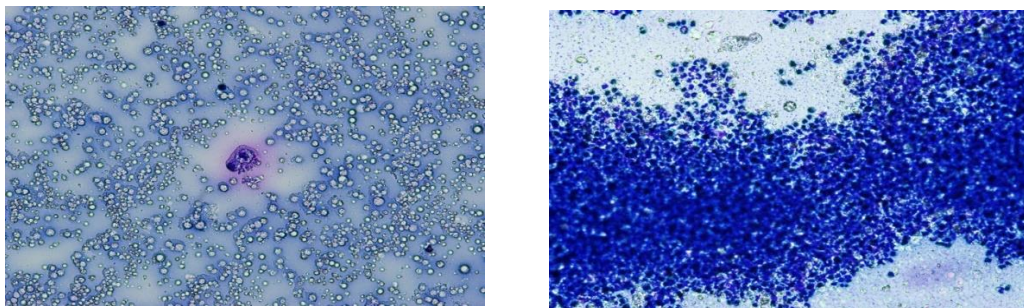


Рис.1. SCC здорової (ліворуч) і хворої на мастит корови

У тварин з субклінічними формами маститу кількість соматичних клітин коливається від 504 тис/см³ до 796 тис/см³, а при клінічній формі їх кількість значно зростає і коливається в межах від 862 тис/см³ до 6,926 млн/см³.

В групі корів з підвищеним SCC (>300000 кл/мл) нами виявлено маркерні алелі *BoLA-DRB3.2*: *24, *23 і *26; у тварин з SCC <100000 кл/мл найчастіше виявлялися алелі *BoLA-DRB3.2* *11, *13 та *22. У попередніх дослідженнях нами було встановлено, що у корів української чорно-рябої молочної породи тісний зв'язок із сприйнятливістю корів до маститів мають два алелі *BoLA-DRB3.2*: *24 і *26. Алелі *BoLA-DRB3.2**13 та *22 впливають на стійкість корів даної популяції до маститів.

Таким чином, у корів української чорно-рябої молочної породи зафіксовано асоціації між морфологічними і молекулярно-генетичними показниками захворюваності на мастит.