

периодов отдыха животных на протяжении суток. Указанные изменения поведения коров являются важными способствующими факторами развития заболеваний в области пальца.

There was studied the influence of some ethological indexes on the digits region morbidity in cows housed on hard surfaces with different quantity of bedding. It was established that cows housed on hard surfaces with insufficient quantity of the bedding material leads to the decreasing of the rest time of the cows, the average duration of one period of rest and increasing of the quantity of rest periods of cows per day. The mentioned changes of cows behavior are the important promoting factors of the development of the foot diseases in cattle.

Дата надходження до редакції: 28.11.2011 р.
Рецензент: д.вет.н., професор М.Д.Камбур

УДК 575.2

Т.М. Супрович, к.б.н., Подільський ДАТУ

ЕКСПРЕСІЯ АНТИГЕНІВ VOLA-СИСТЕМИ У СТІЙКИХ ТА ЧУТЛИВИХ ДО МАСТИТІВ КОРІВ УКРАЇНСЬКОЇ ЧЕРВОНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ

У корів української червоно-рябої молочної породи виявлено чотири "інформативних" антигену класу I ВоLA-системи, які впливають на резистентність і чутливість до захворювань вимені. Визначено, що гнійно-некротичні запалення молочної залози найчастіше спостерігається при розсипному типі вивідної системи вимені. "Інформативні" антигени W6 і W15 мають достовірну різницю по частоті виявлення у корів з різним типом вивідної системи вимені.

Постановка проблеми у загальному вигляді. В двадцять першому столітті у ветеринарній медицині основним пріоритетом повинно стати не лікування, а профілактика інфекційних захворювань. З моменту відкриття головного комплексу гістосумісності доведено, що йому належить істотна роль у визначенні схильності до різних захворювань, а також до репродукції і тривалості життя [4]. Хвороби молочної залози великої рогатої худоби представляють одну з найважливіших проблем тваринництва [1]. За повідомленнями Європейської асоціації тваринників, мастити поширені у всіх країнах із розвиненим скотарством. Заходи, прийняті в різних країнах у боротьбі з різноманітними формами маститів, не приносять успіхів. Встановлено, що сприйнятливості корів до маститів – генетично обумовлена ознака. Корови мають різноманітну сприйнятливості або стійкість до маститів, ознака ця за даними численних досліджень передається нащадкам. Закордонними вченими ведуться наполегливі пошуки імуногенетичних маркерів, які асоціюються з резистентністю до маститів [2,3].

Мета роботи: визначити антигени класу I головного комплексу гістосумісності у корів української червоно-рябої молочної породи, які мають генетично детерміновану стійкість і сприйнятливості до маститів та проаналізувати експресію «інформативних» антигенів у при різних типах вивідної системи вимені.

Матеріали і методи досліджень. Наукова робота проводилася на базі ТОВ агрофірма ім. Суворова Чернівецької області та СТОВ "Іскра" с. Сокіл Кам'янець-Подільського району Хмельницької області.

Клінічні мастити виявлялися щоденним ог-

лядом корів під час кожного доїння спеціалістами господарства за стандартною методикою клінічного обстеження вимені. Субклінічні мастити визначалися за допомогою реакції секрету з кожної чверті на молочно-контрольній пластинці з 5% мастидином. Для визначення етіології маститів від хворих корів одразу після доїння відбирали молоко у стерильні пробірки, при гнійно-катаральному запаленні відбирали у стерильний посуд виділення з хворої чверті. Перед забором вим'я обробляли 70% спиртом. Патологічний матеріал досліджували не пізніше, ніж через дві години після відбору проб.

Вивчення морфології вивідної системи проводили анатомічним препаруванням молочної залози, яке здійснювалося на свіжому матеріалі. Анатомічне препарування залоз проводилося за методикою Ложкіна Е.Ф. (1993) в основі якої лежать сагітальні розтини кожної чверті окремо, із наступним препаруванням висхідних молочних протоків. Препарувалася не тільки кожна чверть вимені окремо, але й одночасно робився сагітальний розтин довгим ножом через верхівки сосків однієї половини вимені, тобто відразу дві чверті – передньої і задньої

Ідентифікація антигенів класу 1 ВоLA-системи проводилася стандартним двохступінчатим мікроцитотоксичним тестом за Kissmeyer-Nielsen у модифікації для великої рогатої худоби (Cardwell і ін., 1977; А.Р.Слепченко, Б.З.Іткін, 1979). Аналізу піддавалися 32 серологічно обумовлених антигени гістосумісності ВоLA-системи класу I. Для виявлення «інформативних» антигенів проведено аналіз отриманих результатів за наступними біометричними показниками: частота знаходження антигену (f), критерій відповідності (χ^2), ступінь

відносного ризику захворюваності (RR), етіологічна фракція (EF), атрибутивний ризик (δ).

Результати роботи та їх обговорення. При бактеріологічному дослідженні секрету від корів (n=56), хворих на гнійно-катаральний мастит найчастіше виділялися *Streptococcus agalactiae* (27%), *Staphylococcus aureus* (19%) та *Escherichia coli* (5%).

В результаті препарування 80 чвертей було виявлено 32 доли із магістральним, 43 із розсипним та 5 долей з змішаним типом вивідної системи (табл. 1).

Таблиця 1
Патологія чвертей вимені в залежності від особливостей морфології вивідної системи

Тип вивідної системи	Всього часток		Патологія	
	Кількість (n)	%	Кількість (n)	%
Магістральний	32	40	4	5,0
Розсипний	43	53,75	11	13,75
Змішаний	5	6,25	3	3,75
Всього	80	100	18	22,5

При магістральному типі у залозисту цистерну відкривається один (рідше два) магістральних протоки, тоді як протоки дрібних калібрів вливаються не в цистерну, а в магістральну протоку. Середня ширина цистерни була 6-7 см, а висота 9-10 см.

Розсипний тип – в цистерну вливається

множина рівновеликих протоків середнього калібру. У наших дослідженнях у цистерну відкривалося в середньому 5-7 протоків. При змішаному типі у цистерну відкривається один магістральний проток та 1-2 дрібних протоки.

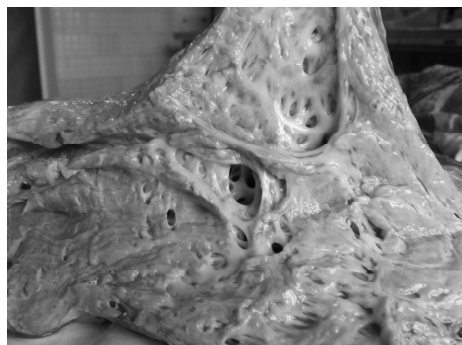


Фото 1. Змішаний тип вивідної системи молочної залози

В наших дослідженнях гнійно-некротичне ураження спостерігалось найчастіше при розсипному типі вивідної системи вимені.

В результаті проведених досліджень встановлена частота антигенів та кодуючих їх генів класу I BoLA – системи у здорових та сприйнятливих до маститів корів, у корів української червонорябої молочної породи (табл. 2).

Таблиця 2

Порівняльна характеристика біометричних показників антигенів BoLA, що виявляються в зв'язку із захворюваністю

Антигени BoLA	Частота антигену, (f)		Критерій відповідності, χ^2	Ступінь ризику, RR	Етіологічна фракція, EF	Атрибутивний ризик, δ
	Хворі (n= 110)	Здорові (n= 120)				
W2	0,200	0,172	0,120	1,203	0,017	0,034
W6	0,550	0,345	4,069*	6,320	0,225	0,310
W8	0,225	0,138	1,252	1,813	0,038	0,100
W21	0,100	0,172	1,014	0,535	-0,047	-0,087
W10	0,175	0,276	1,341	-2,556	-0,097	-0,140
W20	0,125	0,190	0,724	0,609	-0,045	-0,080
W31	0,050	0,130	0,902	0,352	-0,038	-0,092
W44	0,100	0,172	1,014	0,535	-0,046	-0,087
W14	0,050	0,086	0,468	0,559	-0,038	-0,040
W19	0,200	0,121	1,149	1,816	0,062	-0,090
W15	0,025	0,259	9,458**	4,073	0,154	0,320
A1	0,200	0,241	0,233	0,787	-0,011	-0,054
A2	0,050	0,155	2,628	0,287	-0,075	-0,120
A3	0,250	0,328	0,684	0,683	-0,064	-0,120
A6	0,100	0,224	2,544	0,385	-0,117	-0,160
A7	0,450	0,397	0,278	1,243	0,053	0,088
A8	0,300	0,155	2,949	2,336	0,079	0,170
A9	0,125	0,224	1,552	0,495	-0,055	-0,130
A10	0,225	0,207	0,047	1,112	-0,020	0,023
A11	0,375	0,328	0,235	1,229	0,040	0,070
A12	0,325	0,310	0,024	1,072	-0,012	0,022
A13	0,125	0,224	1,552	0,495	-0,036	-0,130
A14	0,150	0,138	0,028	1,102	0,030	0,014
A15	0,525	0,500	0,059	1,105	0,042	0,050
A16	0,150	0,172	0,087	0,850	-0,034	-0,027
A17	0,175	0,224	5,015*	-3,735	-0,035	-0,063
A18	0,250	0,379	1,800	0,546	-0,052	-0,210
A19	0,250	0,276	0,081	0,874	-0,042	-0,036
A21	0,400	0,190	5,248*	2,842	0,211	0,260
A22	0,150	0,190	0,260	0,752	-0,065	-0,050
A23	0,075	0,172	1,953	0,390	-0,084	-0,120
A24	0,550	0,397	2,245	1,856	0,194	0,250

* – P > 0,95; ** – P > 0,99

У обстежених здорових тварин досить часто | виявляються антигени MSUA15 (f=0,500),
Вісник Сумського національного аграрного університету

MSUA24 (f=0,397) та MSUA18 (f=0,379). Найбільше рідко виявлявся антиген W14 (f=0,086).

В групі хворих корів найбільш часто виявляються антигени MSUA1 та MSUA24 (f=0,550), MSUA15 (f=0,525) і W15 (f=0,450), рідко зустрічаються антигени MSUA7 (f=0,025) та MSUA2 (f=0,050).

Частота знаходження антигенів являється кількісною характеристикою. При цьому не враховується те, що тварини носії антигену не обов'язково хворіють на дане захворювання і навпаки, тварини без даного антигену можуть бути сприйнятливими до захворювання. Тому асоціативний зв'язок конкретного антигену з імунореактивністю тварин визначається сукупністю додаткових показників, які прийнято називати біометричними. Це критерій відповідності (χ^2), показники відносного ризику захворюваності (RR), етіологічної фракції (EF) і атрибутивного ризику (δ). Тільки інтегрована оцінка вказаних показників визначає "значимість" гену щодо захворюваності чи резистентності тварини, яка є носієм даного антигену.

Важливими для подальшого вивчення, з точки зору наявності статистичної залежності по різниці наявності даного антигену у хворих і здорових тварин, являються ті антигени, у яких критерій відповідності перевищує значення 3,8. Таких антигенів нараховується чотири: W6, W15, A17 і A21.

Саме на них треба звертати увагу при аналізі впливу антигену на стійкість чи сприйнятливості до захворювання у конкретної тварини.

Проведемо аналіз значень відносного ризику. Біологічний зміст даного показника полягає в тому, що він показує можливість розвитку захворювання у тварин-носіїв даного антигену відносно тварин, що його не мають. Показник відносного ризику більший двох рахується значимим. При значенні $RR < 1$ частота антигену в хворих тварин стає нижчою, чим у резистентних. В цьому випадку антиген виконує протилежну, тобто, "захисну" функцію. При значенні $RR < 0,5$ захисна роль антигену рахується вагомою. У цьому випадку значення RR визначається як $1/RR$. Для позначення захисної функції антигену значення ризику показують з протилежним знаком. Тому, чим більша негативна величина відносного ризику, тим вища "захисна" роль даного антигену. Тому в аналізі треба враховувати ті антигени, в яких значення більше 2, або менше - 2.

Зіставлення показників показує, що найбільш високі значимі значення відносного ризику (RR) виявлені для наступних антигенів: BoLA W6 (RR = 6,320), W10 (RR = -2,556), W15 (RR = 4,073), A17 (RR = -3,735), та A21 (RR = 2,842). З п'яти антигенів, тільки один A17 виконує "захисну" функцію. Інші три антигени, вказують на те, що тварини які їх мають схильні до захворювання.

З визначених по відносному ризику 5 антигенів, при дальшому аналізі, треба виключити антиген W10, тому що значення критерію відповідності для нього менше достовірної межі ($P > 0,95$), тобто $\chi^2 < 3,8$.

Для визначення інформативності 4 антигенів, що залишилися, розглянемо наступний показник – атрибутивний ризик. Цей показник (δ) є зростаючою функцією відносно ризику і частоти антигену в популяції. Тому атрибутивний ризик може вважатися мірою важкості фактора ризику даного захворювання. Біологічний зміст атрибутивного ризику полягає в тому, що його величина визначає який з антигенів, асоційованих із захворюванням, має найбільший генетичний зв'язок із ним. Високе значення атрибутивного ризику вказує на більш тісний зв'язок захворювання з "disease"-алеллю.

Негативне значення атрибутивного ризику вказує на те, що генетичний зв'язок захворювання з "disease"-алеллю треба вважати не значимим.

Найбільший генетичний зв'язок із захворюванням проявляють антигени W6 ($\delta = 0,310$), W15 ($\delta = 0,320$) і A21 ($\delta = 0,260$). Найменший генетичний зв'язок із захворюванням виявлено для антигенів A17 ($\delta = -0,063$).

В тих випадках, коли із захворюванням асоціюється декілька антигенів, виникає питання, яка з асоціацій є первинною. Величина етіологічної фракції (EF) надає більш вірну уяву про порівняльну силу асоціацій, ніж показник відносного ризику. Виражена в частках одиниці, вона показує ту частину хворих тварин, у яких сприйнятливості пов'язана з наявністю даного гена головного комплексу гістосумісності. Чим частіше визначається антиген у сприйнятливих тварин при незмінній частоті антигену в популяції, тим важливіша асоціація антиген-захворювання. Тому, навіть антиген, що зустрічається дуже рідко в популяції, може мати сильну асоціацію, у тому випадку, якщо він часто виявляється серед сприйнятливих тварин.

Величина етіологічної фракції для визначених раніше значимих антигенів наступна: W6 (EF = 0,225), W15 (EF = 0,154), A21 (EF = 0,260) і A17 (EF = -0,063).

Порівняння показників етіологічної фракції і атрибутивного ризику підтверджують значимість визначених 4 антигенів, як маркерів сприйнятливості і резистентності тварин, які мають дані антигени, до хвороб вимені корів української червоно-рябої молочної породи. З чотирьох антигенів 3 визначаються, як сприятливі до захворювання (W2, W15 і A21) і один A17 – характеризує резистентність до хвороб вимені (табл. 3).

Порівняльна характеристика спектру BoLA-антигенів, що виявилися у зв'язку з захворюванням

Антигени і їх зв'язок із захворюваністю		Частота антигену f	Критерій відповідності χ^2	Відносний ризик RR	Етіологічна фракція EF	Атрибутивний ризик δ
несприятливі	W6	6,320	0,310	4,069	0,225	0,001
	W15	4,073	0,320	9,458	0,154	0,001
	A21	2,842	0,260	5,248	0,260	0,001
сприятливі	A17	-3,735	-0,063	5,015	-0,063	0,001

Морфологічний тип вивідної системи молочної залози формується у корів на ранній стадії постнатального онтогенезу і залишається незмінним протягом усього терміну утримання тварини. У зв'язку з цим, нами був досліджений антигенний спектр BoLA-системи в корів із магістральним і розсипним типом вивідної системи.

Було виявлено достовірне розходження по частоті зустрічності „інформативних„ антигенів W6 та W15 ($P > 0,99$) у корів з різним типом вивідної системи вимені. Дані антигени проявляють негативний вплив на розвиток запального процесу у вимені і можуть використовуватися як імуногенетичні маркери

сприйнятливості корів української чорно-рябої породи до захворювання вимені.

Висновки: Отримані дані про наявність антигенів класу I BoLA- системи, що мають достовірний зв'язок з захворюванням молочної залози у стійких та сприйнятливих корів української червоно-рябої молочної породи, є цінним діагностичним тестом і дають можливість у ветеринарній медицині зменшення захворюваності на мастити у господарстві,

Перспективи подальших досліджень. У тваринництві дані дослідження дадуть можливість використовувати їх для направленої селекції корів, стійких до захворювання вимені.

Література

1. Любецький В.Й., Вальчук О.А. Розповсюдження маститу серед високопродуктивних корів // Науковий вісник аграрного національного університету. – К., 2005. – Вип.. 89. – С.294-297.
2. Эрнст Л.К., Шишков В.П., Орлова А.Р., Павленко С.П., Сулимова Г.Е., Удина И.Г. Молекулярно-генетические и статистические методы изучения Главного комплекса гистосовместимости крупного рогатого скота в связи с устойчивостью и восприимчивостью к лейкозам/ Метод. Рекомендации // М., 1998. – 29 с.
3. Ostergard H., Jehsen N.E. Statistical analysis of associations between cattle MHC (BoLA) and subclinical mastitis. // XXI Inter.Conf.on Animal Blood Grps. and Biochem.Polymorphisms (Turin, July 4-8, 1988). –1998. –P.12-14.
4. Amorena B., Stone W.H. Bovine Lymphocyte Antigens (BoLA: A serologic, genetic and histocompatibility antigens // Tissue Antigens. –1989. –Vol.16. –№ 3. –P.212-225.

У коров української червоно-рябої молочної породи виявлені чотири "інформативних" антигена класу I BoLA-системи, які впливають на резистентність і чутливість до захворювань вимені. Определенно, что гнойно-некротическое воспаление молочной железы чаще всего наблюдается при рассыпном типе выводящей системы вымени. "Информативные" антигены W6 и W15 имеют достоверную разницу по частоте выявления у коров с разным типом выводящей системы вымени.

Cows Ukrainian Red Pied dairy breed revealed four "informative" antigen class I BoLA systems that influence resistance and sensitive to diseases of the udder. Definitely, suppurative necrotic inflammation of the mammary gland is most often observed in loose-pin type system of the udder. "Informative" antigens W6 and W15 have significant difference in the frequency of detection of cows with a different type of pin system udder.

Дата надходження до редакції: 14.01.2011 р.
Рецензент: д.вет.н., професор М.І.Харенко