

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

ІНСТИТУТ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА ЗДОРОВ'Я ТВАРИН
ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

Спеціальність 8.11010102 – «Ветеринарно-санітарна експертиза,
якість та безпека продукції тваринництва»

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Зав. кафедри паразитології та
ветсанекспертизи
канд. вет. наук, доц.

 Н.М. Зажарська

« 15 » травня 2017 р.

ДИПЛОМНА РОБОТА

ПОРІВНЯННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ
КІЛЬКОСТІ СОМАТИЧНИХ КЛІТИН КОЗИНОГО МОЛОКА В
УМОВАХ ЛАБОРАТОРІЇ КАФЕДРИ ПАРАЗИТОЛОГІЇ ТА
ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ
ДНІПРОПЕТРОВСЬКОГО ДЕРЖАВНОГО АГРАРНО-
ЕКОНОМІЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

26.04 – ДР. 1378 17 05 24. 002. ПЗ

Студентка-дипломниця

 Л.І. Жарко

Керівник дипломної роботи
канд. вет. наук, доц.

 Н.М. Зажарська

Консультанти:
з охорони праці
канд. с.-г. наук, доц.

 В.О. Сапронова

з економічних питань
канд. вет. наук, доц.

 В.В. Зажарський

Дніпро - 2017

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	3
АНОТАЦІЯ.....	4
ВСТУП	7
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	9
2. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ	18
2.1. Матеріал і методи досліджень	18
2.2. Характеристика лабораторії.....	29
2.3. Результати власних досліджень та їх аналіз	33
2.4. Розрахунок економічної ефективності	40
3. ОХОРОНА ПРАЦІ У ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ.....	41
3.1. Аналіз стану охорони праці у лабораторії ветеринарно-санітарної експертизи	41
3.2. Аналіз небезпечних та шкідливих виробничих факторів	44
3.3. Пожежна безпека у лабораторії ветеринарно-санітарної експертизи.....	45
4. ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ	47
5. СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	48
6. ДОДАТКИ	54

РЕФЕРАТ

Дипломна робота на тему «Порівняння ефективності методів визначення кількості соматичних клітин козиного молока в умовах лабораторії кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету» Жарко Лілії Ігорівни представлена на 64 сторінках друкованого тексту і включає 2 таблиці, 13 рисунків, 4 додатки та 56 джерел використаної літератури.

Предмет досліджень: ефективність методів визначення кількості соматичних клітин у козиному молоці. Об'єкт дослідження: соматичні клітини козиного молока.

Для підрахунку соматичних клітин у козиному молоці за методом Прескота-Бріда найкращими виявилися методи фарбування піроніном Y і Май-Грюнвальда, тому що чітко зафарбовується цитоплазма та ядра соматичних клітин. При підрахунку клітин у мазках, пофарбованих будь-яким методом, не виявлено зразків з кількістю соматичних клітин до 100 тис/мл. При прямому підрахунку соматичних клітин у мазках козиного молока, зафарбованих будь-яким методом, виявляється більша кількість клітин, ніж за допомогою приладів. Розподіл діапазонів соматичних клітин схожий між різними методами фарбування мазків, що ще раз доводить точність методу прямого підрахунку клітин у мазках молока, хоч це більш трудомісткі методи, ніж апаратні. Зі збільшенням кількості соматичних клітин підвищувалися показники жиру, але статистичної різниці не визначено. Також виявлено, що при зниженні вмісту білку температура замерзання підвищувалась.

За результатами досліджень опублікована наукова стаття «Порівняння ефективності методів визначення кількості соматичних клітин козиного молока» у науково-технічному бюлетні НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. – Дніпропетровськ, 2016. – 4 (4). – С. 29–35. Режим доступу <http://biosafety-center.com/> 2016-т-4-№4/ (додаток 1).

АНОТАЦІЯ
ПОРІВНЯННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ
КІЛЬКОСТІ СОМАТИЧНИХ КЛІТИН КОЗИНОГО МОЛОКА
В УМОВАХ ЛАБОРАТОРІЇ КАФЕДРИ ПАРАЗИТОЛОГІЇ ТА
ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ ДНІПРОПЕТРОВСЬКОГО
ДЕРЖАВНОГО АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

ЖАРКО Л.І.

У статті порівняно ефективність визначення кількості соматичних клітин у козиному молоці різними методами. Досліджували соматичні клітини в індивідуальних пробах молока від 28 кіз на приладах «Соматос», «SomaCount Flow Cytometer» та методом підрахунку в мазках, пофарбованих за Романовським-Гімза, Май-Грюнвальдом і піроніном Y.

При підрахунку клітин у мазках, пофарбованих будь-яким методом не виявлено зразків з кількістю соматичних клітин до 100 тис/мл. За результатами досліджень на приладах "Соматос" та "SomaCount Flow Cytometer" найбільша частина мазків відносилася до рівня – 101 – 500 тис/мл – 35,7 і 50% мазків молока відповідно. Найбільша частина мазків щодо методів фарбування – за Романовським-Гімза – 42,9% та за Май-Грюнвальдом – 39,3% відносилася до діапазону 1001–3000 тис/мл, тоді як мазки, пофарбовані піроніном Y і метиловим зеленим – 35,7% – до діапазону 501–1000 тис/мл.

При прямому підрахунку соматичних клітин у мазках козиного молока, зафарбованих будь-яким методом, виявляється більша кількість клітин, ніж за допомогою приладів. Розподіл діапазонів соматичних клітин схожий між різними методами фарбування мазків, що ще раз доводить точність методу прямого підрахунку клітин у мазках молока, хоч це більш трудомісткі методи, ніж апаратні.

Для підрахунку соматичних клітин у козиному молоці за методом Прескота-Бріда пропонується фарбувати мазки методом Май-Грюнвальда,

тому що чітко зафарбовується цитоплазма та ядра соматичних клітин, а вартість барвників набагато менша ніж метода з піроніном Y.

Зі збільшенням кількості соматичних клітин поступово підвищувалися показники жиру, але статистичної різниці не виявлено. Також спостерігалася позитивна кореляція між кількістю соматичних клітин і вмістом білку і лактози, однак в останній групі (соматичних клітин більше 3 млн/мл) відбулося різке зниження показників. Протилежна тенденція спостерігалася відносно температури замерзання молока. Таким чином, після аналізу отриманих результатів виявлено, що при зниженні вмісту білку температура замерзання підвищувалась.

ANNOTATION

COMPARISON OF METHODS EFFICIENCY FOR DETERMINATION OF SOMATIC CELLS COUNT IN GOAT MILK AT THE LABORATORY OF DEPARTMENT OF PARASITOLOGY AND VETERINARY SANITARIAN EXPERTISE IN DNEPROPETROVSK STATE AGRARIAN AND ECONOMIC UNIVERSITY

ZHARKOL.I.

The efficiency of determination of somatic cells count in goat milk by different methods was compared. Somatic cells in individual milk samples from 28 goats were analyzed by means of analyzer "Somatos», «SomaCountFlowCytometer» and the by counting of cells in milk films stained with pironin Y, at Romanovsky-Giemsa and May-Grunwald methods.

When counting cells in milk films stained by any method there were not found the samples with somatic cells count to 100×10^3 cells / ml. According to the research by means of "Somatos" and "SomaCountFlowCytometer" most of milk films related to the level of – $101\text{--}500 \times 10^3$ cells / ml – 35.7 and 50% respectively.

The largest part of stained milk films – by Romanovsky-Giemsa staining – 42.9% and by May-Grunwald staining – 39.3% belonged to the range of $1001-3000 \times 10^3$ cells / ml, whereas films, stained with pironin Y and methyl green – 35.7% – to a range of $501-1000 \times 10^3$ cells / ml.

The greater number of cells in direct counting of somatic cells in goat milk films, stained by any method was determined than using appliances. The distribution ranges of somatic cells is similar between different methods of film staining, which once again proves the accuracy of the method of direct cell counting in milk films, though it is more labor-intensive methods than hardware.

May-Grunwald staining is proposed for counting of somatic cells in goat milk films by Prescott and Breed method, because cytoplasm and nuclei of somatic cells are well stained, and cost much less than staining with pironin Y.

While increasing of somatic cell count fat content was gradually raised, but significant difference was not found. Also there was a positive correlation between the somatic cells count and protein and lactose, but in the last group (somatic cell count of more than 3 million / ml), there was a sharp decrease. The opposite trend was observed regarding the freezing point of milk. It was found that while reducing of protein in goat milk, freezing temperature increased.

ВСТУП

Сьогодні молоко – обов'язковий продукт харчування здорових людей. Воно входить до складу майже всіх дієт, широко використовується в раціоні людей, робота яких пов'язана з дією шкідливих виробничих чинників. В їжу, окрім коров'ячого, вживають також молоко інших тварин – верблюдиць, овець, кобил, буйволиць, самиці яка, зебри та інших ссавців, як в натуральному вигляді, так і у вигляді різних продуктів.

Виробництво козиного молока динамічно розвивається і має велике значення для добробуту сотень мільйонів людей у всьому світі, а також є важливою частиною економіки в багатьох країнах.

Молоко кіз – це смачний, поживний і цінний продукт харчування для людей різного віку. Слід мати на увазі, що козине молоко має значні переваги над коров'ячим, є цінним молочним продуктом і невід'ємною частиною здорового харчування, застосовується в якості поживного джерела для немовлят і дітей, а також як функціональне харчування з великою кількістю поживних речовин та відносно низьким вмістом енергії, у козиному молоці багато солей кобальту, що входить до складу вітаміну B₁₂, вітамінів A і D, які необхідні дітям [51, 57]. Тому козине молоко є потенційно недооціненою "скарбницею", щодо сприяють зміцненню здоров'я [57].

Сучасні дослідження західних вчених підтверджують, що для людського організму фізіологічно більше підходить саме козине молоко. Користь і шкода козиного молока вивчають у багатьох країнах світу [1]. Наприклад, канадські вчені стверджують, що за допомогою козиного молока можна успішно досягти позитивних результатів у лікуванні жовчнокам'яної хвороби, епілепсії у дітей, фіброміоми, захворювань суглобів і шкірних хвороб. Абсолютно не варто при годуванні маленьких діточок грудного вигодовування періоду замінити коров'яче молоко козиним, так як мінеральних речовин в козиному молоці в 4 рази більше, що є значним навантаженням для ще слабкою сечовивідної системи дитини. Дітям до

однорічного віку взагалі варто уникати вживання козиного молока. [30]. Все-таки козине молоко в Україні не отримало поки такого широкого застосування, як коров'яче.

Рівень соматичних клітин у молоці розглядається як індикатор здоров'я молочної залози. У результаті багатьох досліджень у молоці не виявлено сталої субпопуляції соматичних клітин. За своїм складом соматичні клітини молока представлені епітелієм альвеол і молоковивідних шляхів молочної залози та лейкоцитами (поліморфноядерними гранулоцитами), лімфоцитами та макрофагами [37].

Кількість соматичних клітин не тільки вважається показником внутришньовим'яної інфекції, а й чутливим інструментом для аналізу впливу маститу на надої, склад молока та ефективність згортання і виробництва сиру та інших факторів [23, 25, 29, 55].

Метою дослідження було порівняти різні методи визначення кількості соматичних клітин у козиному молоці. Для виконання мети були поставлені такі завдання:

- 1) дослідити проби козиного молока на кількість соматичних клітин апаратними методами;
- 2) оцінити придатність методів Хількевича та Архангельського для визначення соматичних клітин у козиному молоці;
- 3) провести фарбування мазків козиного молока різними методами для підрахунку соматичних клітин прямим методом (за Прескотом-Брідом);
- 4) порівняти ефективність методів фарбування мазків козиного молока.

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Виробництво високоякісного молока-сировини в Україні на цей час досить актуальне. Це обумовлено передусім потребою забезпечення молокопереробної промисловості такою молочною сировиною, яка відповідає високим стандартам якості й безпечності. Крім того, для України дуже важливо, щоб вітчизняна молочна продукція була конкурентоспроможною, мала успішний доступ до міжнародних ринків Світової організації торгівлі (СОТ) і ЄС [28]. А отже, слід забезпечити відповідність кожної ланки в ланцюгу виробництва молока й молокопродуктів міжнародним вимогам. Первинна ланка харчового ланцюга молочної продукції – виробництво молока на молочних фермах. Від того, як налагоджено виробництво молока-сировини залежить конкурентоспроможність молокопродукції як на внутрішньому, так і на зовнішньому ринках. Первинна ланка виробництва молокопродуктів є основною в забезпеченні їх якості й безпечності. В Україні передбачено підняти вимоги до сирого молока, щоб вітчизняні молокопереробні підприємства отримували сировину з показниками якості й безпечності, визначеними міжнародними стандартами. [26].

У країнах з розвиненим козівництвом молоко широко використовується для виробництва сирів, йогурту та інших кисломолочних продуктів. Козине молоко, з урахуванням його фізико-хімічних властивостей і деяких інших параметрів, вважається більш прийнятним, в порівнянні з коров'ячим, для виробництва продуктів дитячого харчування [3, 30]. Найбільш розвинена галузь молочного козівництва в промисловому масштабі в країнах Європи і Середземномор'я. Ці країни можна назвати центром дослідження молочного козівництва.

З початку 2000-х років зростає попит на козине молоко і продукції з нього, який пояснюється загальносвітовими інтересом до натуральних і

екологічно чистих продуктів. До того ж споживання козиного молока є частиною європейської культури харчування. Так у Франції, Греції, Італії, Іспанії та Голландії частка споживання козиного молока (з огляду на сири) становить не менше 15-20% загального обсягу споживання молока. [31].

Результати наукових досліджень останніх років, висновки провідних дієтологів, педіатрів свідчать про необхідність пошуку та створення в Україні нових джерел сировинних ресурсів для організації сталого вітчизняного виробництва спеціальних функціональних харчових продуктів. Зростаючий інтерес до розвитку молочного козівництва у теперішній час зумовлено декількома чинниками. По-перше, необхідність у козиному молоці пов'язана з його високими харчовими та дієтичними властивостями, що підтверджується багаторічними медичними дослідженнями. По-друге, з розвитком молочного козівництва вирішується проблема зайнятості сільського населення, розширюється можливість використання більш різноманітного та дешевого набору кормів [32].

Історично склалося, що кози до відносно недавнього часу вирощувалися переважно на приватних подвір'ях або в дрібних фермерських господарствах. За винятком окремих країн, комерційна продаж козиного молока була практично невідома до Другої світової війни. Після Другої світової війни козине молоко насамперед використовували в якості заміни коров'ячого молока для осіб, які страждають на алергію і різними гастроінтестинальними розладами. Причиною нового сплеску інтересу до козиного молока, особливо в країнах Західної Європи, США і країнах Океанії з 1960 по 1970 р, був загальносвітовий тренд «Назад до природи» [31]. У науковій літературі зростання виробництва і споживання козиного молока пояснюють 4 основними факторами:

- 1) приростом загальної чисельності населення Землі і, відповідно, збільшенням потреби в їжі і використанні сільськогосподарської сировини;

2) підвищеним попитом на продукти для здорового харчування, такі, як козиний йогурт, козиний сир і ін.; альтернативою для людей, які страждають харчовою алергією і (або) гастроінтестинальними розладами;

3) наявністю ряду цікавих характеристик фракційного складу і фізико-хімічних особливостей козиного молока [25].

Білки і жири козиного молока через будови молекул цих речовин легко засвоюються в організмі людини. Особливий інтерес представляють гіпоалергенні і біологічні властивості козиного молока. Високотехнологічні харчові продукти на основі козиного молока, сири та інші білкові продукти можуть забезпечити раціональне, повноцінне і здорове харчування населення. Специфіка та структура білкового та жирового компонента козиного молока сприяє їх кращому засвоюванню організмом та зумовлює лікувальний ефект під час таких захворювань як різні види харчової алергії, анемії, туберкульоз тощо. Крім цього, вживання козиного молока традиційно оздоровчо впливає на загальний стан здоров'я людини [31].

В останні роки такі фактори, як соціологічні та економічні, набули суттєвого впливу на харчову промисловість і, в результаті цього, з'явилися нові продукти з характеристиками за вимогами маркетингу. Варто вказати, що на сьогодні у світовій практиці чітко простежується тенденція збільшення кількості заготівельного молока-сировини, за рахунок залучення в промислову переробку козиного молока, особливо при виробництві дитячого та лікувального харчування, сирів. Загальне його виробництво в світі перевищило 18 млн. тонн та зросло за останні 3 роки на 4,3 % [19].

Молочний жир представляє найбільш цінну частину молока. Він у два рази поживніший (9,3 ккал в 1 г), порівняно з молочним цукром та білком (4,2 ккал в 1 г). При цьому його перетравлюваність досягає 95 %. Харчова цінність молочного жиру підвищується завдяки тому, що до його складу входять необхідні організму людини поліненасичені жирні кислоти [28]. Жири козиного молока також мають свої переваги. У їх складі більше

незамінних жирних кислот: лінолевої та арахідонової, і, крім того, підвищена концентрація середньоланцюгових жирних кислот (капронової, каприлової, капринової) – їх утричі більше, ніж у коров'ячому молоці. Цим пояснюється добра засвоюваність жирів козиного молока і можливість використання продуктів із нього при зниженні активності ферментів, що розщеплюють жир. Низка досліджень свідчить, що жир козиного молока містить кон'юговану лінолеву кислоту, яка відіграє важливу роль у профілактиці ожиріння, атеросклерозу, деяких онкологічних захворювань, алергії. Лінолева кислота корисна для поліпшення імунітету. Збалансований також і амінокислотний склад козиного молока. Такі амінокислоти, як цистеїн і лізин, покращують засвоєння мінеральних речовин – кальцію, фосфору, заліза, міді [25].

Запальний процес в молочній залозі кіз, як наслідок впливу патогенних мікроорганізмів, токсинів або пошкодження тканини, призводить до змін секреції молока, його кількості, складу і властивостей, збільшення вмісту альбуміну в молочній сироватці, зниження секреція компонентів молока (казеїну, жиру, лактози), зменшення термічної стійкості молока, подовження часу для коагуляції молока, і його збереження. На підставі вищезазначеного, можна зробити висновок, що підвищення рівня соматичних клітин в молоці кіз впливає на його придатність для обробки [20, 23, 24].

Вміст соматичних клітин в натуральному молоці – найважливіший показник його якості, який зумовила технологічну придатність молока для виробництва ряду молочних продуктів (особливо сирів). Підвищена кількість соматичних клітин свідчить про захворювання на мастит, а також інші запальні процеси в організмі тварини або наявність молозива чи стародійного молока. В 1 мл нормального сирого коров'ячого молока міститься від 100 до 300 тис. соматичних клітин, з яких 90% становлять епітеліальні клітини, не більше 8% – поліморфноядерні лейкоцити і лімфоцити і майже 1% – макрофаги. У молоці з домішками молозива, маститного чи стародійного

молока кількість соматичних клітин підвищується в залежності від обсягу додавання від 1 до 10 млн / мл [26, 41].

Показник кількості соматичних клітин у сирому молоці корів у нашій країні використовують тільки для встановлення гатунку молока, тоді як на молочних фермах країн ЄС, США, Канади тощо його активно застосовують, щоб контролювати мастит, для управління якістю, безпечністю молока та умовами його виробництва [45].

В молоці більшості видів тварин соматичні клітини у неінфікованій залозі є лейкоцити, що складаються з лімфоцитів, поліморфноядерних нейтрофілів і макрофагів та злущених епітеліальних клітин, які служать в якості важливих компонентів захисту молочної залози проти потенційних патогенів, головним чином бактерій [38]. У порівнянні з вівцями і коровами, кози мають більш низький рівень плазміногену. Кози менше, ніж корови і вівці піддаються зовнішнім стресам, через відсутність плазміногену для відповіді [2, 14]. Кількість соматичних клітин в молоці кіз залежить від індивідуальних особливостей, їх віку, умов утримання, годівлі та інших факторів [22, 27].

В Ізраїлі, де кількість соматичних клітин у корів на фермах у збірному молоці у танках в більшості стад зводиться до $\sim 200,000$ клітин / мл, показник знаходиться всього в 3 рази вище рівня неінфікованих корів, кількість соматичних клітин втрачає прогностичне значення для виходу сиру, хоча ефект субклінічного маститу на якість молока як і раніше залишається.

Внутрішньовим'яні інфекції у кіз становлять величезну проблему для здоров'я тварин, змінюють склад молока, знижують гігієнічну цінність молока, погіршують технологічні властивості молока і викликають високі економічні втрати в молочному тваринництві сьогодні. Велика частина внутрішньовим'яних інфекцій у молочних кіз можуть бути віднесені до групи субклінічного маститу без будь-яких зовнішніх клінічних симптомів. Стафілококи, безумовно, найбільш поширений тип патогенних

мікроорганізмів в козиному молоці, але частота виникнення цієї патогенної групи сильно розрізняється [27].

Золотий стандарт для виявлення маститу це визначення бактеріологічного статусу, але аналіз забирає багато часу, коштовний і не має значення для практичного використання. Кількість соматичних клітин, найбільш інформативний для діагностики стану здоров'я вимені у корів, може бути не надійним параметром для визначення субклінічного маститу в пропонованому статичному рівні 1 мільйон клітин в 1мл, який був запропонований багатьма авторами. Кількість соматичних клітин у кіз показує великі зміни (наприклад, в період лактації) і часто вищі числа: > 1 мільйону клітин в 1мл визначали без появи субклінічного маститу. Кількість соматичних клітин може збільшитися тільки за рахунок фізіологічних чинників (наприклад, породи, кількості окотів, стадії лактації, еструсу), гігієнічних норм і доїльного обладнання [23].

При дослідженні складових молока альпійських кіз угорськими вченими виявлено, що з підвищенням кількості соматичних клітин істотно підвищується вміст білку, рН, Na, але знижується вміст лактози і температура замерзання. Істотної різниці не було знайдено між кількістю соматичних клітин і вмістом Ca у козиному молоці [3].

При дослідженні козиного стада протягом 11 років найбільший вміст лактози був визначений в молоці кіз первісток, які народили одне козеня; одночасно, в них спостерігався найнижчий надій молока. Статистичної різниці між показниками лактози кіз різних порід не виявлено. Наймолодші кози мали найнижчу кількість соматичних клітин і цей показник систематично зростав із числом лактацій [40].

Ізраїльські вчені стверджують, що бактеріальні інфекції і стадії лактації є двома найбільш важливими факторами, які впливають на якість молока кіз. Позитивна залежність між казеїном, лактозою і сиропридатністю, і

негативний зв'язок між останнім показником і кількістю соматичних клітин пов'язані з бактеріальною інфекцією, і з молоком пізньої лактації [2, 53].

Підвищення кількості соматичних клітин у збірному молоці кіз є проблемою у виробництві молочних продуктів з козиного молока. У Норвегії кількість соматичних клітин в збірному молоці останні десятиліття реєструється на рівні більше 1 млн / мл, а у здорових кіз повинно бути нижче 500 тис / мл [54], в США якщо число соматичних клітин становить менше 300 тис / мл збірного молока, то стадо вважається у відмінному стані і мастит присутній в мінімальній кількості. При наявності від 300 до 500 тис / мл у стаді здійснюються заходи по боротьбі з маститом. При вмісті в 1 мл молока від 500 до 750 тисяч соматичних клітин стан стада незадовільний і мастит може стати проблемою, яка призводить до зниження продуктивності стада. Якщо вміст соматичних клітин перевищує 750 тисяч в 1 мл – стан стада в загрозовому становищі [33].

На думку Looper M. існують два способи зниження кількості соматичних клітин у молоці тварин. Перший метод – вибракування корів, це процес, який може швидко зменшити кількість соматичних клітин у збірному молоці. Другий метод – управління маститом, що включає дослідження зразків молока від кожної корови щомісяця, профілактику за допомогою годівлі, санітарні заходи під час доїння корів, сухостою, першої лактації. Недавні дослідження показують, що введення в раціон селену і вітаміну Е покращує стан тканини в молочній залозі [47].

Кози виявилися найбільш толерантним видом жуйних щодо фізіологічних маніпуляцій (низька частота доїння), внутрішньовим'яної інфекції і зовнішніх або емоційних стресів, які знижують секрецію молока. Ці переваги пояснюються їх унікальними морфологічними і фізіологічними особливостями. У молочних корів, число соматичних клітин широко використовується для оцінки якості молока і встановлення ціни. Це відбувається тому, що підвищення кількості соматичних клітин є наслідком

запального процесу через присутність внутрішньовим'яної інфекції; також цей показник вважається чутливим маркером стану здоров'я вимені у кіз [48, 49]. Нормальний рівень соматичних клітин у неінфікованому вимені кіз (~ 300 тис / мл), і овець (~ 200 тис / мл) істотно вище, ніж у молочних корів (~ 70 тис / мл), отже, цей показник в інфікованому вимені кіз і овець, як правило, значно вище, ніж у корів. Це означає, що схеми градації молока засновані на кількості соматичних клітин у кіз і овець, повинні бути спеціально пристосовані до цих двох видів, і не можуть бути просто повторені з тих, які встановлені у корів. Багато неінфекційних факторів також можуть викликати значні відмінності в кількості соматичних клітин в козиному молоці. Одна з проблем, унікальних для кіз, є помітне підвищення цього показнику в молоці зі здорового вим'я ближче до кінця лактації [4, 5, 18, 27, 49,].

Як правило, корови з високою кількістю соматичних клітин мають мастит, який викликаний *Streptococcus aureus* і *Streptococcus agalactiae*. Ці бактерії, особливо золотистий стафілокок, часто не реагують на звичайні антибіотики, тому необхідно визначати чутливість до антибіотиків. Якщо кількість соматичних клітин не зменшується після інтенсивного лікування, тварина повинна бути забита.

Грунтуючись на поширеності бактеріальних інфекцій і ряду досліджень як на рівні стада, так і на рівні інфікування молочної залози в окремих тваринах Leitner та ін. запропонували схему класифікації молока кіз і овець. Згідно з цією пропозицією, молоко з кількістю соматичних клітин $> 3,5$ млн / мл не повинно прийматися на молокопереробні підприємства.

Клас А: кількість соматичних клітин < 840 тис. / мл, пов'язаний з субклінічною бактеріальною інфекцією до 25% кіз в стаді, втрати молока до 0,8% і втрати сиру до 3,3%.

Клас В: кількість соматичних клітин $> 840 - 1200$ тис. / мл, пов'язаний з субклінічною бактеріальною інфекцією до 50% от кіз в стаді, втрати молока до 1,5% і втрати сиру до 6,5%.

Клас С: кількість соматичних клітин $1600 - 3500$ тис. / мл, пов'язані з субклінічним бактеріальною інфекції до 75% кіз у стаді, втрати молока до 2,3% і втрати сиру до 9,8%.

Згідно з цією пропозицією, молоко з $SCC > 3500$ тис. / мл, не повинні прийматися для маркетингу через: (I) високу ймовірність того, що таке молоко буде містити патогени і токсини, (II) погану промислову якість молока (в основному слабке або повна відсутність згортання), і (III) потенціальне утворення токсичних речовин в молоці [53].

Таким чином, для сортування якості козиного молока для виробничих цілей, потрібні інші критерії, ніж кількість соматичних клітин [50].

В Україні декількома вченими ретельно вивчаються вплив різноманітних факторів (сезон року, період лактації, час надою) на кількість соматичних клітин у козиному молоці [6, 8, 11, 18, 19, 34, 57]. Також вивчаються особливості показника соматичних клітин у козиному молоці в порівнянні з коров'ячим [9, 10, 13, 14]. Проводяться дослідження з пошуку засобів і методів зниження кількості соматичних клітин у козиному молоці. Завжди економічно доцільніше проводити профілактику, і важливу роль у цьому відіграє санітарно-гігієнічний догляд за вим'ям. В наш час приділяють недостатню увагу гомеопатичним засобам для доїння, але їх використання, як відомо з публікацій Зажарської та ін, дійсно покращує санітарно-гігієнічні показники козиного молока [7, 12, 15, 33, 36]. Крім існуючих засобів («Фітосепт», «Зорянка», «Ніжнодій» та ін.) вивчений вплив наночастинок срібла для обробок вимені кіз. Зовнішнє застосування препаратів спричинило токсичну дію на молочну залозу, що виявилось збільшенням бактеріального забруднення і кількості соматичних клітин у молоці [35].

Виходячи з вищезазначеного, якісне козине молоко може бути

отримане лише від здорової тварини. Важливим показником якості і безпеки є кількість соматичних клітин у молоці. Тому обґрунтований пошук доступного і ефективного методу визначення кількості соматичних клітин у козиному молоці.

2. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріал і методи досліджень

Матеріалом для досліджень було 28 проб молока кіз порід німецька біла, англо-нубійська, альпійська, що були відібрані у підсобному господарстві «Укрсільгоспром», виробничо-комерційній фірмі, що знаходиться у м. Підгороднє Дніпропетровського району Дніпропетровської області.

Діяльність ферми направлена на розведення чистопородних високопродуктивних європейських порід овець і кіз, отримання молока та переробка його на сир. Тварин утримують у вольєрах з глибокою підстилкою із сіна. Годують тварин сіном із добавками зернових (пшениця, ячмінь, горох), подрібненою капустою та морквою, комбікормом "Сідлайф" для дійних кіз, мікроелементною добавкою.

Від кожної кози було взято середню пробу молока з ранкового надою кожної кози (додаток 2). Проби відбирали у мірні пластикові флакони та нумерували згідно номеру кожної кози, попередньо обробивши вим'я теплою водою та здоївши перші цівки молока в окремий посуд. Транспортували проби молока у сумці-холодильнику протягом 1-2 годин після взяття проб.

Дослідження молока проводили в лабораторії № 402 гігієни харчової продукції Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету.

Визначення соматичних клітин проводилося апаратними методами: на приладі "SomaCount Flow Cytometer" (метод проточної цитометрії) в умовах лабораторії ТОВ "Дейрі Менеджмент Систем" Дніпропетровської обласної громадської організації «Сільськогосподарська консультаційна служба» (додаток 3) та за допомогою віскозиметричного аналізатора "Соматос" на кафедрі паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету.

Проточна цитометрія («SomaCount Flow Cytometer») – метод дослідження, при якому клітини маркуються спеціальним флуоресцентним барвником, а потім піддаються впливу лазерного випромінювання. Інтенсивність флуоресценції, індукований лазерним випромінюванням, пропорційна вмісту ДНК в молекулах клітин. Принцип проточної цитометрії полягає в тому, що клітини або ядра поодиночі перетинають зфокусований світловий пучок, зазвичай лазерний. Світло хвилі певної довжини збуджує молекули флуоресціюючих барвників, зв'язаних з різними клітинними компонентами, при цьому може відбуватись збудження декількох різних барвників, що дозволяє одразу оцінити декілька клітинних параметрів. Світло, що виділяється барвниками, збирається за допомогою системи лінз та дзеркал та розкладається на компоненти. Світлові сигнали детектуються, трансформуються в електричні імпульси і потім в форму, зручну для комп'ютерної обробки та зберігання інформації. Проточна цитометрія – швидкий, кількісний метод оцінки багатьох параметрів флуоресціюючих клітин.

Кількість соматичних клітин визначали за допомогою віскозиметричного аналізатора "СОМАТОС-М" (додаток 4). Прилад призначений для контролю молока з метою визначення кількості соматичних клітин у молоці по умовній в'язкості, вимірюваної за часом витікання контрольованої проби через капіляр. Метод ґрунтується на взаємодії препарату «Мастоприм» із соматичними клітинами, в результаті чого змінюється консистенція молока.

Проведення аналізу: до колби приладу вносили піпеткою 5 см³ водного розчину «Мастоприм» та 10 см³ досліджуваного молока, яке попередньо обережно перемішували та ретельно профільтрували через декілька шарів марлі. Вибравши на приладі програму для дослідження, натискаємо на кнопку «Пуск». Після цього відбувається автоматичне перемішування сумішей протягом 30 секунд з десятиразовим відхиленням робочої посудини

від вертикальної осі на 145° . Після завершення автоматичного перемішування, колба приладу поверталась на місце, а клапан відкривався пропускаючи розчин. Середня тривалість одного дослідження була приблизно 4 хвилини. Кількість соматичних клітин у досліджуваному молоці визначали за часом витікання суміші [32].

Фізико-хімічний склад козиного молока визначали за допомогою ультразвукового аналізатора молока "Ekomilk тип MILKANA KAM 98-2a". Робота аналізатора заснована на принципі зміни параметрів ультразвукових коливань при проходженні їх через пробу молока при двох заданих температурах і подальшої обробки вимірювання порівняння залежності зміни швидкості і загасання ультразвукових коливань від показників якості (жиру, білка, сухого знежиреного молочного залишку, точки замерзання, кислотності, провідності, густини). Основні біохімічні показники молозива були встановлені на ультразвуковому аналізаторі молока "Ekomilk тип MILKANA KAM 98-2a". Робота аналізатора заснована на принципі зміни параметрів ультразвукових коливань при проходженні їх через пробу молока при двох заданих температурах і подальшої обробки вимірювання порівняння залежності зміни швидкості і загасання ультразвукових коливань від показників якості (жиру, білка, сухого знежиреного молочного залишку, точки замерзання, кислотності, провідності, густини) [39].

Виготовляли мазки молока, застосовували фіксатор Карнуа, фарбували піроніном Y і метиловим зеленим [23], за Романовським-Гімза, за Майн-Грюнвальдом, підраховували соматичні клітини за методом Прескота-Бріда під мікроскопом (об'єтив 100) за допомогою імерсійної олії [46].

Метод Прескота-Бріда.

Предметні скельця, на яких робилися мазки козиного молока, готували за загальноприйнятою методикою. Перед роботою скельця діставали пінцетом із суміші для зберігання скелець (спирт-ефір в рівних кількостях) висушували та робили мазки молока.

Виготовлення мазків: перемішану пробу молока мікропіпеткою 0,005 мл наносили на предметне скло площею 1 см² (рис. 1). З паперу виготовляли трафарет, підкладали під скельце на темному фоні.



Рис.1 Нанесення 0,005 мл козиного молока на предметні скельця за допомогою мікропіпетки

Мазки робили шляхом нанесення проб молока рівномірним тонким шаром голкою і розтирали по всій площі квадрату (рис. 2). Підсушений на повітрі мазок фарбували різними методами та проводили підрахунок пофарбованих клітин із використанням мікроскопу. У кожному мазку переглядали 100 полів зору. Підраховану кількість клітин множили на коефіцієнт з урахуванням значень об'єктива і окуляра і визначали їх кількість в 1 см³ молока. Для виведення коефіцієнта за допомогою об'єкт-метра визначають діаметр поля зору мікроскопа і обчислюють площу одного поля зору по формулі πR^2 . Потім обчислювали, скільки полів зору мікроскопа розміщувалось на площі 1 см². Отриманий результат переводили на об'єм.

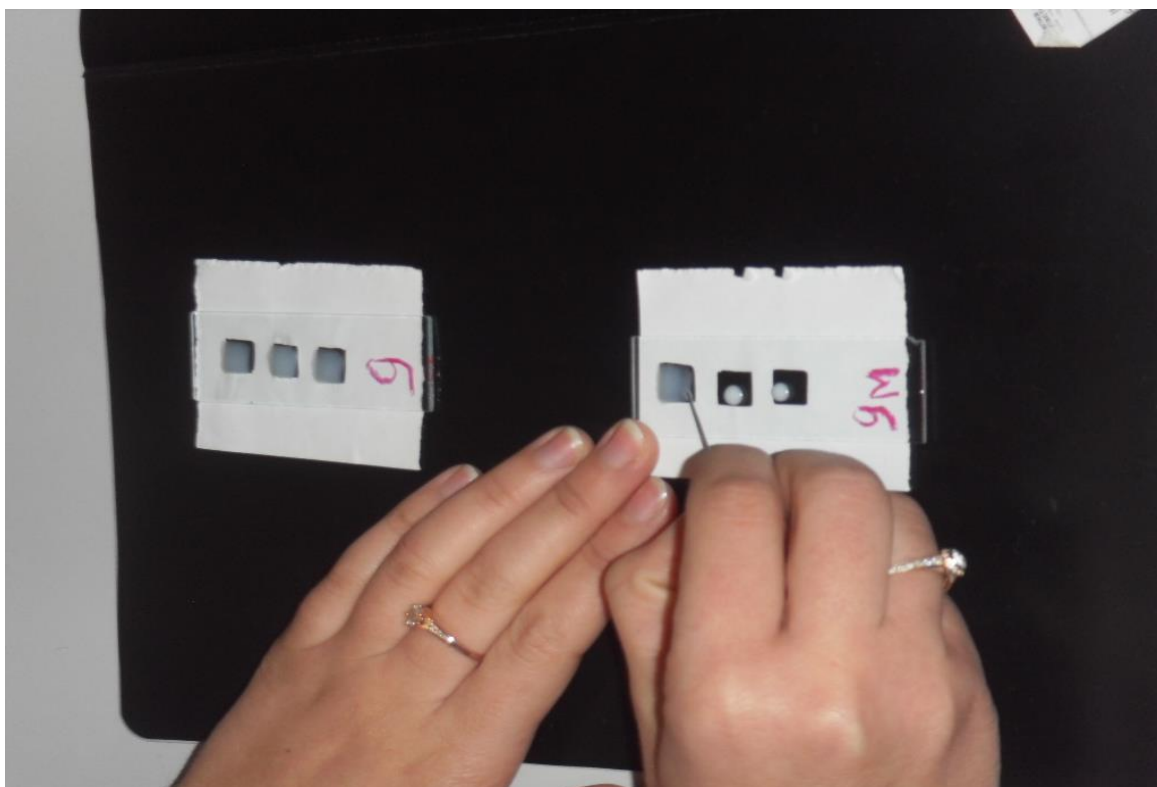


Рис.2. Розподіл козиного молока по всій площі трафарету

Фарбування мазків молока кіз

Фарбування мазків молока піроніном У і метиловим зеленим

Перед початком роботи приготували фіксатор Карнуа (по черзі додавали хлороформ і льодяну оцтову кислоту в етиловий спирт і ретельно перемішували). Приготування фарбника: піронін У (1,0 г) і метиловий зелений (0,56г) додавали у колбу з демінералізованою водою (196 мл) і ретельно перемішували. Фільтрували через відповідний фільтр.

Виконували фарбування мазків за такою схемою. Спочатку занурювали мазки молока у фіксатор Карнуа – протягом 5 хв; далі переносили в 50% етанол – протягом 1 хв і 30% етанол – протягом 1 хв; наступним кроком було занурення у воду – протягом 1хв; розчин барвника піронін У – метиловий зелений – протягом 6 хв; швидко промивали в н-бутиловому спирті, а потім у ксилолі (рис. 3, 4).



Рис.3. Процес фарбування мазків козиного молока піроніном Y



Рис.4. Мазки молока пофарбовані піроніном Y.

Фарбування мазків молока за Романовським-Гімза.

Методика фарбування: готували робочий розчин фарби Романовського-Гімза. Для цього 15—20 крапель фарби Романовського-Гімза додавали до 10 мл дистильованої води. Мазки розміщали в чашку Петрі і на них піпеткою наносили робочий фарбувальний розчин. Мазки забарвлювали 20 - 25 хвилин при 37°C. Після фарбування мазки промивали у проточній воді, висушували на повітрі і досліджували при масляній імерсії, об'єктив $\times 100$.

Будучи в розчині синьо-фіолетовим поліхромний барвник Романовського-Гімзи фарбує цитоплазму в голубий колір, а ядра клітин і найпростіших, тіла бактерій, їх капсули, слиз – у червоно-фіолетовий.

Фарбування клітин в мазках молока за Май-Грюнвальдом.

Фарбування проводиться готовим розчином фарби Май-Грюнвальд. На фіксований мазок наносили 1-2 мл готової фарби Май-Грюнвальда і залишали на ньому 3 хвилини (рис. 5).



Рис.5. Фарбування мазків козиного молока за методом Май-Грюнвальда

Після закінчення зазначеного часу на мазок промивали водою і дофарбовували за Романовським-Гімза протягом 10-15 хв (30 крапель фарби на 10 мл води). Далі препарат промивали дистильованою водою і висушували на повітрі.

Підрахунок соматичних клітин молока у камері Горяєва

Для підрахунку найбільш часто застосовується камера типу Бюркера з вигравіруваним на ній сіткою Горяєва. Рахункова камера складається з товстого предметного скла з особливим поглибленням. На дні поглиблення лічильної камери розміщена сітка, в клітинах якої і підраховуються формені елементи. По краях поглиблення є піднесення, куди накладається покривне скло. Між нижньою поверхнею цього скла і дном поглиблення утворюється замкнутий простір, яке і являє собою лічильну камеру. Глибина камери відповідає 0,1 мм. Сітка Горяєва має 225 великих квадратів (15x15), 25 з яких поділені на малі, по 16 у кожному; є також порожні квадрати, зібрані в групи по 4 квадрати. Всього в сітці 100 великих порожніх квадратів, зібраних в 25 груп (5X5). Кожна сторона маленького квадрата дорівнює 1 / 20 мм, а оскільки висота камери становить 0,10 мм, то обсяг дорівнює 1 / 4000 ММЗ.

При роботі з камерою дотримувалися певного порядку її заповнення. Спочатку поглиблення з сіткою покривали спеціальним шліфованим покривним скельцем і, злегка притискували, зміщували його в протилежні сторони до появи кілець Ньютона. Це вказує на те, що покривне скельце притерто до сторін камери (тільки за такої умови об'єм суспензії мікроорганізмів, що знаходиться в камері, відповідає розрахунковому). Після цього камеру заповнювали сумішшю молока підготовленим за методом Хількевича або Архангельського через борозенку камери піпеткою. Підрахунок клітин починали через 3–5 хв після заповнення камери, щоб клітини осіли і при мікроскопуванні були видні в одній площині (рис. 6).



Рис.6. Мікроскоп бінокулярний з відеокамерою. Підрахунок соматичних клітин у камері Горяєва.

Метод Н.М.Хількевича.

У пробірку наливали 0,4 мл розведеної фарби Романовського-Гімза (1 мл дистильованої води і 5 крапель фарби) і 20 мм³ досліджуваного секрету вимені, отримували розведення 1:20. Через 15-30 хв заповнювали камеру Горяєва. Лейкоцити підраховували в 1 великому квадраті і результат множили на 5000.

Метод І.І.Архангельского

Спочатку готують розчин солюбілізатора: до 0,9% розчину натрію хлориду, що містить 1% формаліну і 12,5% етилового спирту, додають 1% солюбілізатор і нагрівають при 60°C протягом 20 хв. Як солюбілізатор використовують Синтанол ДС-10 (оксиетировані жирні спирти фракції С₁₀-

C₁₆ з 10 молями окису етилену) або ПП-40 (поліоксиетиловані похідні пентолу з 40 молями окису етилену). Після розчинення солубілізатора до розчину додають 1% насичений спиртовий розчин основного фуксину і фільтрують через паперовий фільтр. Фарбу до розчину солубілізатора додають безпосередньо перед дослідженням.

Для підрахунку соматичних клітин в пробірці, що містить 10 мл розчину солубілізатора з барвником, додають 0,1 мл ретельно перемішаного молока і прогрівають на водяній бані при 80°C 30 хв. Після охолодження вміст пробірки перемішують і вносять краплю рідини під покривне скло камери: Горяєва, Фукс-Розенталя або ін. Підрахунок клітин ведуть під мікроскопом (окуляр 7 або 10, об'єктив 8 або 10) у всій камері або в певному її обсязі.

Розрахунок кількості соматичних клітин в 1 см³ проводять за формулою:

$$X = (1000 \times C \times A) : V$$

де X – кількість соматичних клітин в 1 см³ молока;

A – кількість підрахованих соматичних клітин;

C – розведення;

1000 – множник, що приводить результат до об'єму 1 см³;

V – об'єм, в якому підраховані клітини.

Метод І.І.Архангельського і ін. в модифікації В.І. Слободяника.

Модифікація методу І.І. Архангельського і ін. полягає в тому, що насичений спиртовий розчин основного фуксину додають до солубілізуючого розчину в кількості не 1%, а 0,25%. і використовують готовий фарбувальний розчин в кількості не 10 мл, а 5.

Це дозволяє готувати повністю фарбувальний розчин завчасно і використовувати його протягом 15 днів після приготування.

Розрахунки ведуть за зазначеною формулою з урахуванням зробленого розведення проби молока.

Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали у програмі Microsoft Office Excel, 2010. Ступінь вірогідності оцінювали за критерієм Стьюдента (Плохинський М.О., 1978).

2.2. Характеристика лабораторії

Факультет ветеринарної медицини Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету знаходиться за адресою: вул. Мандриківська, 276, м. Дніпропетровськ. На 4 поверсі факультету ветеринарної медицини на кафедрі паразитології та ветсанекспертизи знаходиться лабораторія гігієни харчової продукції № 402.

На кафедрі для магістрів спеціальності 8.11010102 «Ветеринарно-санітарна експертиза, якість та безпека продукції тваринництва» викладаються такі дисципліни, як: «Ветеринарно-санітарна експертиза», «Якість та безпека продукції тваринництва», «Гігієна первинної переробки тварин і продуктів забою», «Гігієна молока і молочних продуктів», «Гігієна рослин та рослинних продуктів», «Ветеринарно-санітарний контроль переробки продуктів тваринного походження», «Кодекс Аліментаріус та система управління якістю (НАССР)» «Стандартизація та сертифікація продуктів тваринного походження», «Ветеринарно-санітарна експертиза у разі патології».

Студенти навчаються проводити органолептичні та лабораторні дослідження для визначення якості та безпечності м'яса, ковбасних виробів, молока, молочних продуктів, риби та яєць. Студенти ознайомлюються з основними супровідними документами при транспортуванні забійних тварин, проводять визначення свіжості м'яса, визначення м'яса різних видів тварин, набувають навичок в оцінці фізико-хімічних показників молока і молочних продуктів (густина, кислотність, жирність) та меду (водність, кислотність, діастазне число).

У зв'язку з перенавантаженням навчальної аудиторії № 408 і неможливістю проводити наукові дослідження під час лабораторних занять було прийнято рішення у вересні 2015 року створити наукову лабораторію №

402 за підтримки ректорату Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету.

У лабораторії № 402 активно проводять дослідження студенти – члени наукового гуртка з ветсанекспертизи. Під керівництвом провідних доцентів кафедри Зажарської Н.М., Шевчик Р.С., Бойко О.О. студенти досліджують різноманітну харчову продукцію, а отримані результати використовують для написання дипломних робіт у магістратурі. Також у лабораторії студенти вивчають показники резистентності ссавців під керівництвом доцента Дуди Ю.В. і старшого викладача Кунєвої Л.В.

Лабораторія гігієни харчової продукції № 402 кафедра паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи здійснює роботу за такими напрямками: дослідження щодо моніторингу параметрів безпечності та якості сирого козиного молока для перегляду державних стандартів що регламентують гатунковість молока; порівняння методів дослідження молока корів і кіз на прихований мастит; вивчення впливу гомеопатичних засобів для доїння на безпечність та якість козиного молока; моніторинг якості і безпечності м'яса і риби в залежності від способу консервування; дослідження меду різного ботанічного походження; визначення вмісту нітратів у рослинній продукції і шляхи зниження.

Відповідальними за техніку безпеки є старший лаборант Пиндик І.М. Приготування хімічних реактивів для проведення реакцій забезпечує лаборант, лікар ветеринарної медицини – Погосян Т. А.

Лабораторія кафедри оснащена всім необхідним обладнанням для проведення навчальних занять з ветеринарно-санітарної експертизи: віскозиметричним аналізатором “Соматос-М”, ультразвуковим аналізатором молока “Екомілк”, сушильною шафою, центрифугою «Орбита», термостатом (рис.7), магнітним змішувачем, люмінесцентною лампою, вагами, нітратометром, РН метром, рефрактометром, центрифугою, м'ясорубкою, ареометрами, центрифугою, скляним лабораторним посудом, штативами,

електроплитою, магнітною мішалкою холодильником, лабораторними столами, шафами, мікроскопом з відеокамерою (рис.8).



Рис.7. Контроль роботи термостату



Рис.8. Мікроскоп бінокулярний

Підлога приміщення вологонепроникна, викладена плиткою, добре миється і дезінфікується. Стіни пофарбовані, вікна пластикові, обладнані сонцезахисними рулонними шторами.

Освітлення природне та штучне. Лампи захищені плафонами, що попереджає потрапляння в продукцію скла у разі їхньої поломки. За умов достатнього освітлення зростає ефективність праці, легше виявляються порушення санітарних вимог.

У лабораторію підведений водопровід, опалювання централізоване, є холодна і гаряча вода.

2.3. Результати досліджень та їх аналіз.

Намагалися визначити кількість соматичних клітин молока в камері Горяєва за методами Хількевича (рис.9) та Архангельського, але результати незадовільні, оскільки краплі жиру козиного молока не дають повноцінно дослідити і підрахувати кількість клітин.

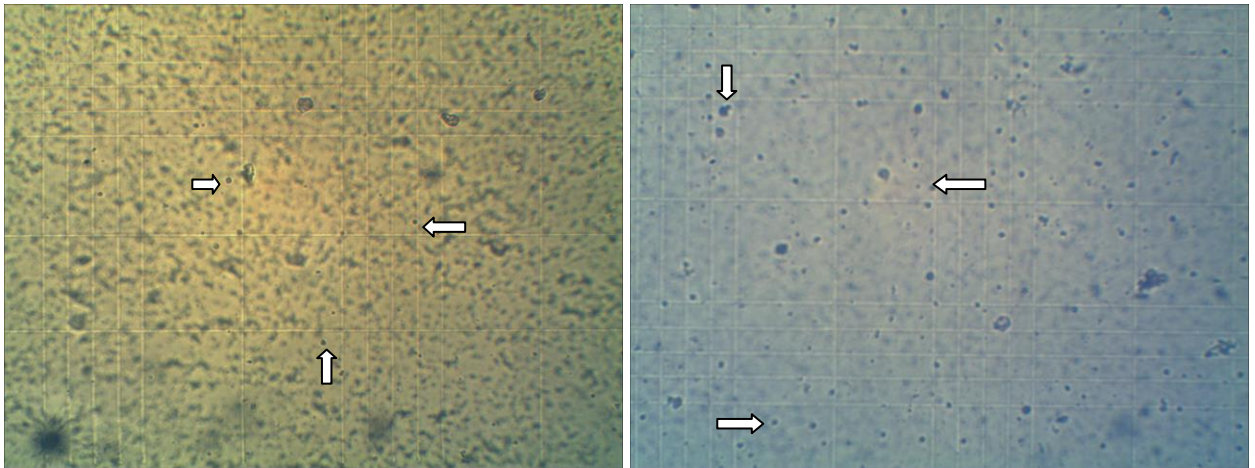


Рис. 9. Соматичні клітини в молоці здорової кози (зліва) та з субклінічним маститом у камері Горяєва (справа). Метод Хількевича. $\times 400$

При дослідженні мазків молока за методом Май-Грюнвальда отримали найкращі результати у порівнянні з іншими методами фарбування мазків. Виявили соматичні клітини з чітко окресленою цитоплазмою та ядрами (рис.10). При фарбуванні мазків піроніном Y результат – задовільний, але через високу вартість матеріалів цей метод використовувати недоцільно (рис.11).

Метод фарбування мазків за Романовським-Гімза не прийнятний для козиного молока, тому що часто виявляються «тіні» клітин, так звані цитоплазматичні частинки, часточки фарби (рис. 12).

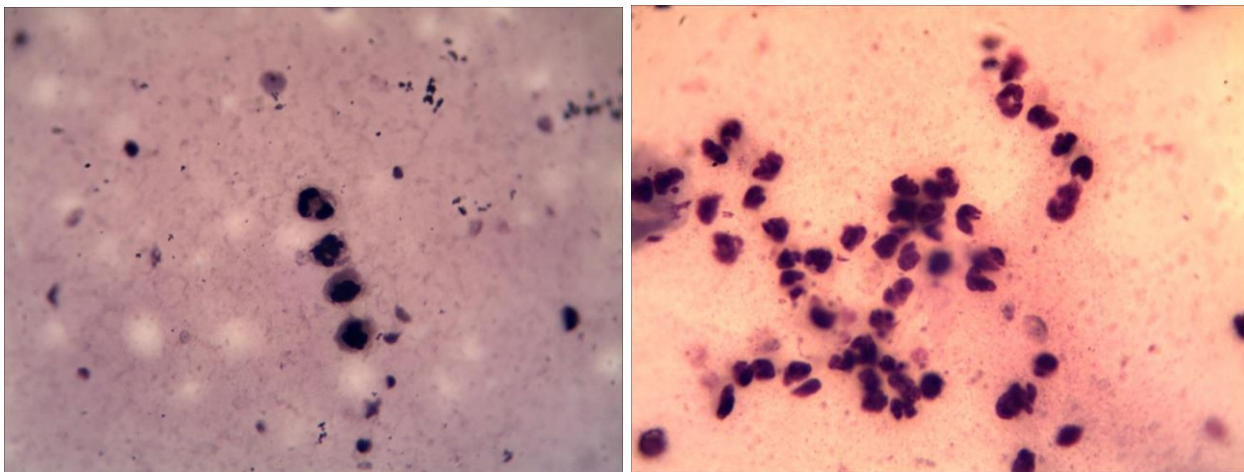


Рис.10. Соматичні клітини у мазках козиного молока. Фарбування за Май-Грюнвальдом. $\times 1000$

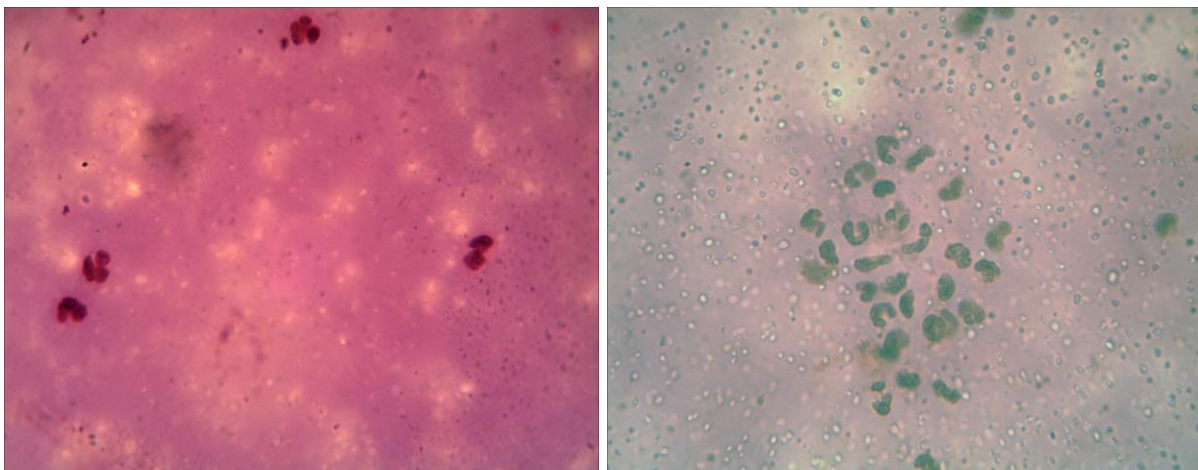


Рис.11. Соматичні клітини у мазках козиного молока. Фарбування піроніном $\Upsilon \times 1000$

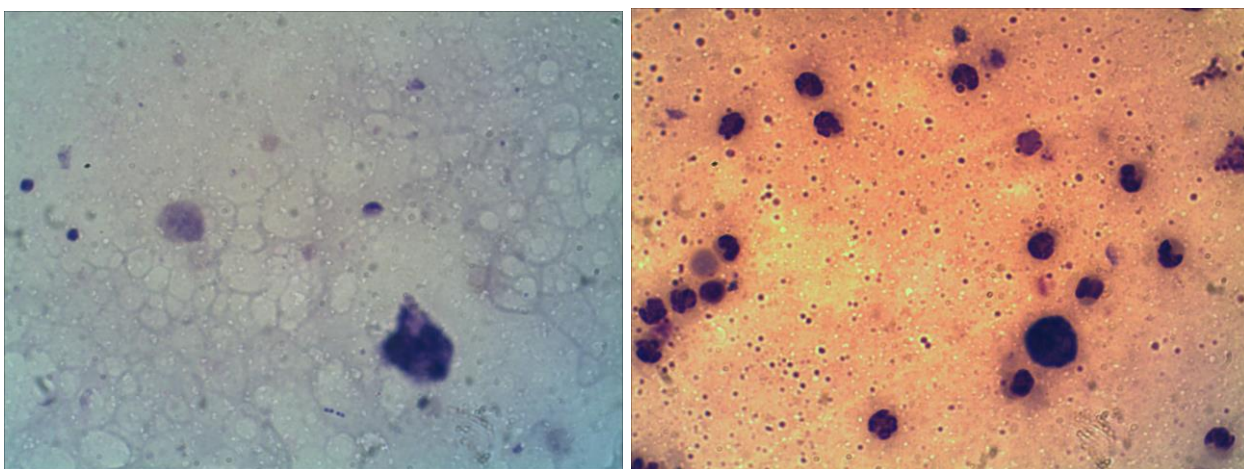


Рис.12 Соматичні клітини у мазках козиного молока. Фарбування за Романовським-Гімза $\times 1000$

Деякі вчені відмічають, що в молоці більшості видів тварин соматичні клітини у неінфікованій залозі представлені лейкоцитами, що складаються з лімфоцитів, поліморфно-ядерних нейтрофілів і макрофагів, які служать в якості важливих компонентів захисту молочної залози проти потенційних патогенів, головним чином бактерій. Молоко також містить злуцнені епітеліальні клітини. У неінфікованій залозі корів соматичні клітини складаються з епітеліальних клітин на 40%, а у кіз – на 27%

Арбітражним методом вважають підрахунок соматичних клітин молока за методом Прескота-Бріда.

Мазки козиного молока рекомендують фарбувати піроніном [23], але барвники для проведення дослідження мають високу вартість, тому ми порівнювали рекомендований метод з більш доступними. Для полегшення обробки результати дослідження молока кіз розподілили на 5 діапазонів за кількістю соматичних клітин. З таблиці 1 видно, що найменша кількість соматичних клітин на останньому рівні (>3 млн/мл) відмічена при підрахунку за допомогою приладу "Соматос". При підрахунку клітин у мазках, пофарбованих будь-яким методом не виявлено зразків з кількістю соматичних клітин до 100 тис/мл.

Таблиця 1.

Визначення кількості соматичних клітин в козиному молоці різними методами

Рівень соматичних клітин у молоці, тис/мл	Кількість соматичних клітин, визначених різними методами, тис/мл				
	на приладах		підрахунок у мазках молока, пофарбованих		
	"Соматос"	"SomaCount Flow Cytometer"	за Романовським-Гімза	піроніном Y і метиловим зеленим	за Май-Грюнвальдом
до 100	72±6	66±20			
101-500	254±38	302±35	425±12	392±47	354±136
501-1000	766±141	741±71	851±62	811±357	734±57
1001-3000	1768±342	1518±205	2293±163	1790±205	1706±164
>3000	5500±501	8865±3374	9869±3730	10903±3520	7677±3326

Метод підрахунку соматичних клітин проточною цитометрією за допомогою "SomaCount Flow Cytometer" вважається більш точним методом у порівнянні з віскозиметричними приладами, але калібрування приладу відбувалось по молоку корів, що не зовсім підходить для проведення дослідження, оскільки результати не досить точні, що підтвердилося при підрахунку клітин у мазках. Якщо проводити калібрування приладу по козиному молоку, то дані будуть співвідноситися з підрахунком соматичних клітин у мазках.

Із різноманітних методів фарбування мазків найбільша кількість соматичних клітин у діапазоні (>3 млн/мл) відмічена при застосуванні піроніну Y і метилового зеленого – майже 11 млн клітин у мілілітрі молока. Такий великий показник протистоїть показнику, отриманому за допомогою "Соматосу" – 5,5 млн/мл. Це ще раз доводить, що віскозиметричний прилад "Соматос" є тільки непрямим методом визначення кількості соматичних клітин, і в козиному молоці ця різниця між методами більш суттєва (таблиця 1).

З рисунку 13 бачимо, що за результатами досліджень на приладах "Соматос" та "SomaCount Flow Cytometer" виявлено 32,1 і 7,1% мазків молока відповідно з кількістю соматичних клітин до 100 тис/мл. Як вже було зазначено вище, при дослідженні у мазках молока, пофарбованих будь-яким з методів, діапазон соматичних клітин до 100 тис/мл. не виявлено.

За результатами досліджень на приладах "Соматос" та "SomaCount Flow Cytometer" найбільша частина мазків відносилася до рівня – 101 – 500 тис/мл – 35,7 і 50% мазків молока відповідно. Найбільша частина мазків щодо методів фарбування – за Романовським-Гімза – 42,9% та за Май-Грюнвальдом – 39,3% відноситься до діапазону 1001–3000 тис/мл, тоді як мазки, пофарбовані піроніном Y і метиловим зеленим – 35,7% – до діапазону 501–1000 тис/мл. Це доводить, що при прямому підрахунку соматичних

клітин у мазках козиного молока, зафарбованих будь-яким методом, виявляється більша кількість клітин, ніж за допомогою приладів.

Розподіл діапазонів соматичних клітин схожий між різними методами фарбування мазків, що ще раз доводить точність методу прямого підрахунку клітин у мазках молока, хоч це більш трудомісткі методи, ніж апаратні.

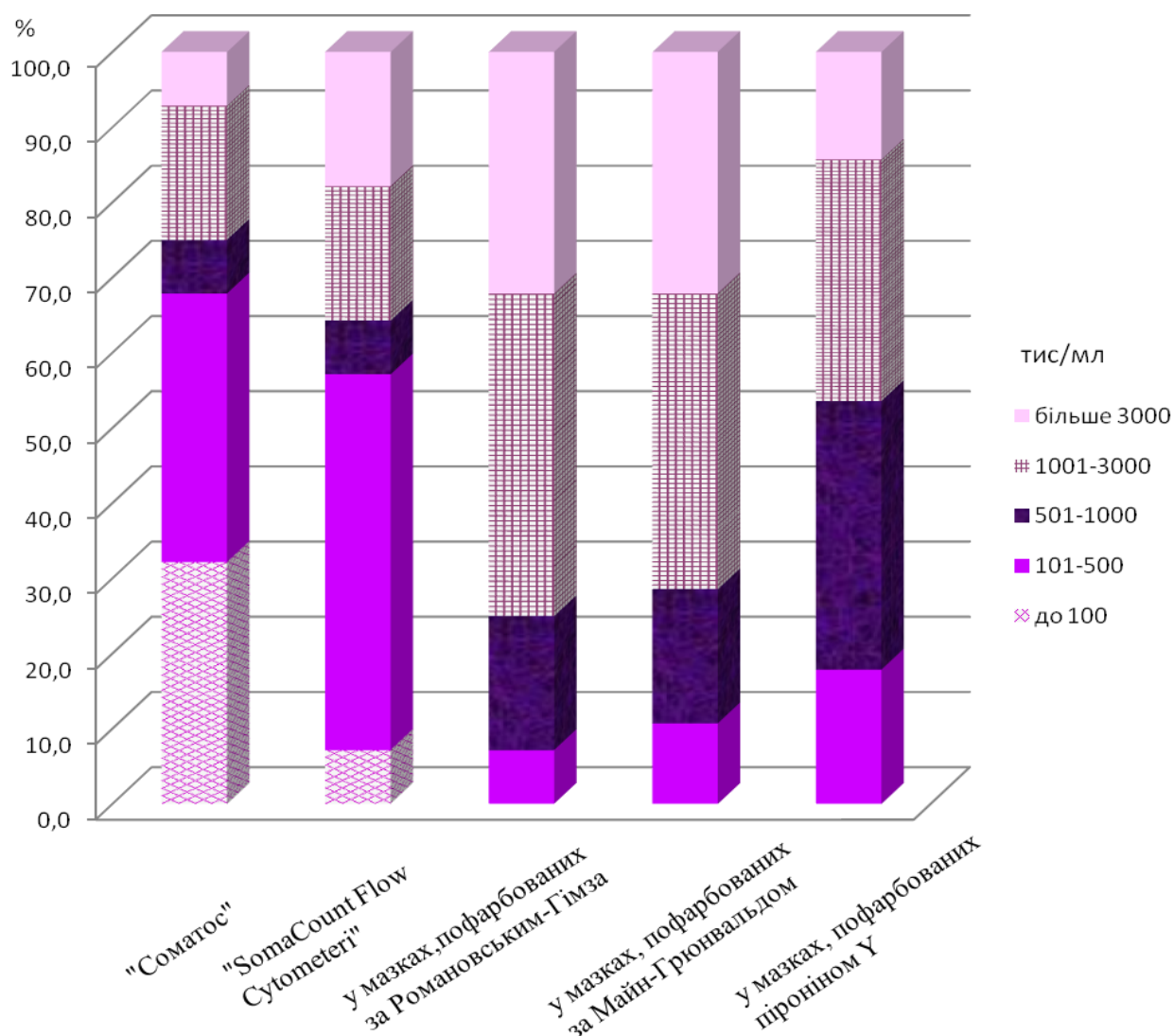


Рис.13. Розподіл мазків за різними методами підрахунку соматичних клітин у молоці

З таблиці 2 видно, що зі збільшенням кількості соматичних клітин поступово підвищувалися показники жиру. Також спостерігалася позитивна кореляція між кількістю соматичних клітин і вмістом білку і лактози, однак в

останній групі (більше 3 млн/мл.) відбулося різке зниження показників. Протилежна тенденція спостерігалася відносно температури замерзання молока. Таким чином, після аналізу отриманих результатів виявлено, що при зниженні вмісту білку температура замерзання підвищувалась. Така тенденція спостерігалася і в інших дослідженнях, описаних в попередніх власних публікаціях [16, 35].

Таблиця 2.

Показники молока в залежності від рівня соматичних клітин

Показник, од. вимір.	Рівень соматичних клітин у молоці, тис/мл			
	101-500, n=5	501-1000, n=10	1001-3000, n=9	>3000, n=4
Кількість соматичних клітин у молоці (метод з піроніном), тис/мл	392±47	812±357	1790±205	10903±3520
Жир, %	2,62±0,37	2,74±0,32	3,05±0,37	4,37±0,84
Білок, %	3,13±0,12	3,16±0,04	3,33±0,07	2,82±0,52
Лактоза, %	4,72±0,17	4,77±0,06	5,01±0,10	4,18±0,81
Температура замерзання, °C	-0,558±0,021	-0,565±0,007	-0,592±0,011	-0,515±0,078
Електропровідність, мС/м	5,34±0,189	5,29±0,09	5,38±0,16	5,74±0,36

Дослідження угорських вчених також виявили позитивну кореляцію ($P < 0,01$) між кількістю соматичних клітин і вмістом білка ($r = 0,67$; $p < 0,001$) і негативну кореляцію між кількістю соматичних клітин і вмістом лактози ($r = -0,41$, $p < 0,001$) і температурою замерзання ($r = -0,33$) [50].

За результатами Bagnicka E. et al. не виявлено кореляційного зв'язку між кількістю соматичних клітин і вмістом білка, жиру і лактози у козиному молоці [42]. Польські вчені вказують на наявність впливу кількості соматичних клітин на вміст лактози у козиному молоці [44].

За власними дослідженнями зі збільшенням кількості соматичних клітин майже поступово підвищуються показники електропровідності. Підвищення електропровідності молока зазвичай пов'язують з виникненням субклінічного маститу у корів, тобто зі збільшенням кількості соматичних клітин.

Кількість соматичних клітин, найбільш інформативний для діагностики стану здоров'я вимені у корів, може бути не надійним параметром для визначення субклінічного маститу у кіз. Цей показник дуже змінюється (наприклад, в період лактації кіз) і часто значення більше 1 млн/мл визначають без появи субклінічного маститу. Кількість соматичних клітин може збільшитися тільки за рахунок фізіологічних чинників (наприклад, породи, кількості окотів, стадії лактації, еструсу), гігієнічних параметрів і доїльного обладнання. Золотий стандарт для виявлення маститу це визначення бактеріологічного статусу, але аналіз забирає багато часу і коштів і не використовується часто. Пропонується використовувати в якості альтернативи такі параметри субклінічного маститу у кіз, як число соматичних клітин, Каліфорнійський маститний тест, електропровідність, склад молока (жир, білок, лактоза), N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (NAGase), лактоферин, β -глюкуронідази та лактатдегідрогенази [54].

2.4. Розрахунок економічної ефективності.

Для підрахунку соматичних клітин у козиному молоці за методом Прескота-Бріда у мазках, зафарбованих методом Май-Грюнвальда чітко визначається цитоплазма та ядра соматичних клітин, як і за методом фарбування з піроніномУ. Тому доцільно вирахувати вартість цих двох методів.

1. На фарбування 28 мазків молока за методом Май-Грюнвальда витратили:

25 мл фарби Май-Грюнвальда – 19,5 грн. (вартість 1 л фарби 777,90 грн.)

15мл фарби Романовського-Гімза – 2,7 грн. (1 л фарби коштує 180 грн.)

Кількість витрачених коштів на фарбування мазків молока за Май-Грюнвальдом становить 22,2 грн.

2. На фарбування 28 мазків молока піроніном У і метиловим зеленим витратили:

піронін У 0,25 г – 600 грн. (вартість 1,0 г піроніну У 2400 грн.)

метиловий зелений 0,14 г – 0,77 грн. (100г метилового зеленого коштує 540 грн.)

етанол 50% 50мл – 12 грн. (вартість 100 мл 50 % -го етанолу 24 грн.)

етанол 30% 50мл – 11 грн. (100 мл 30 %-го етанолу коштує 22 грн.)

бутиловий спирт 50 мл – 4 грн. (вартість 1 л – 80 грн.)

ксилол 50 мл – 2,65 грн. (1 л коштує 53 грн.)

Загальна вартість хімреактивів при фарбуванні мазків молока піроніном У і метиловим зеленим склала 630,42 грн.

За результатами розрахунку загальних ветеринарних витрат можна зробити висновки, що вартість реактивів для дослідження мазків молока за методом Май-Грюнвальда менша у 28,4 рази у порівнянні з фарбуванням мазків піроніномУ.

3. ОХОРОНА ПРАЦІ У ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ

3.1 Аналіз охорони праці в лабораторії кафедри паразитології та ветсанекспертизи

Державна політика в галузі охорони праці базується на принципах пріоритету життя і здоров'я працівників відповідно до результатів виробничої діяльності підприємства. Встановленні єдині нормативи з охорони праці для всіх підприємств, незалежно від форми власності, використання економічних методів управління охороною праці, міжнародного співробітництва в галузі охорони праці, використання світового досвіду організації роботи щодо поліпшення умов праці.

Охорона праці – це система законодавчих актів, організаційних, соціально-економічних, гігієнічних, механічних та лікувально-профілактичних заходів, що спрямовані на створення безпечних умов праці та працездатності людини в процесі її трудової діяльності.

Основні положення з охорони праці в Україні встановлені й регламентуються конституцією України, кодексом законів про працю, законом "Про охорону праці", а також розробленими на їх основі і відповідно до них нормативно-правовими актами.

Трудове законодавство регламентується законодавчими актами, основними з яких є Конституція України, Кодекс законів про працю, Закон України «Про охорону праці»

Складовими охорони праці є законодавство про працю, виробнича санітарія, і безпека застосування різних технічних засобів на виробничих процесах і сільському господарстві.

Трудове законодавство регламентується Конституцією України, Кодексом законів про працю, Законом України "Про охорону праці".

Конституційне право громадян нашої держави на охорону життя й здоров'я у процесі трудової діяльності відображене у законі України "Про охорону праці", прийнятого Верховною Радою України 21.11.2002 р.

Дія закону поширюється на всі підприємства, установи, організації незалежно від форми власності і виду їх діяльності, на всіх працюючих, незалежно від посади та рівня кваліфікації.

Метою охорони праці є зниження та ліквідація виробничого травматизму і професійних захворювань на основі заходів, які забезпечують безпеку праці.

Згідно положення "Про роботу по охороні праці і техніці безпеки на підприємствах, в організаціях і в установах" відповідальність за охорону праці і техніку безпеки, з дотриманням діючого Законодавства в покладена на керівника установи, а контроль за виконанням вимог з охорони праці, направлених на зниження виробничого травматизму і захворюваності у господарстві, здійснює інженер з охорони праці і техніки безпеки.

Складовими частинами охорони праці є законодавство про працю, виробнича санітарія та безпека застосування різних технічних засобів на виробничих процесах у сільському господарстві.

Дія закону розповсюджується на всі підприємства, установи та організації, незалежно від форми власності та видів їх діяльності.

При вступі на роботу всі робітники та спеціалісти проходять вступний інструктаж Один раз на 6 місяців проводиться поточний інструктаж.

При проведенні інструктажу кожен з працюючих та студентів-стажистів повинен засвоїти такі положення:

- відповідальність за виконання інструкцій і постанов;
- правила особистої гігієни при роботі з реактивами
- основні правила пожежно- та електробезпеки;
- основні питання організації охорони праці;
- про надання першої медичної допомоги у випадку травмування або отруєння.

Дана дипломна робота виконувалась в умовах лабораторії кафедри паразитології та ветсанекспертизи Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету.

Управління охороною праці – це підготовка, прийняття та реалізація рішень по здійсненню організаційних, технічних, санітарно-гігієнічних і лікувально-профілактичних заходів, спрямованих на забезпечення здоров'я та працездатності людини в процесі праці. Система управління охороною праці (СУОП) є складовою частиною загальної системи керування підприємством (стаття 15 Закону України "Про охорону праці" (2002) та НПАОП) 0.00-4.21-04 "Типове положення про службу охорони праці".

За охорону праці в лабораторії відповідає Пиндик І.М. Ефективна система управління охороною праці сприяє удосконаленню і покращенню діяльності кожного структурного підрозділу і кожної посадової особи; забезпечує працюючих правилами, стандартами, нормами, інструкціями та іншими нормативними актами; розробляє зміст та методики проведення інструктажу з питань охорони праці; організовує навчання, підвищення кваліфікації та перевірки знань з питань охорони праці посадових осіб. Мета інструктажу – навчити працівника правильно і безпечно для себе і навколишнього середовища виконувати свої трудові обов'язки, згідно НПАОП 0.00 – 4.12 – 05.

Відповідальний за проведення вступного інструктажу, та за дотриманням правил з охорони праці та проведення відповідно подальших інструктажів в лабораторії - Пиндик І.М.

Інструктаж поділяється на: вступний (реєструється у журналі вступного інструктажу з питань охорони праці), первинний інструктаж на робочому місці, повторний, позаплановий, цільовий (реєстрація інструктажів у журналі з питань охорони праці на робочому місці).

В обов'язки керівника входять розробка перспективних річних планів про покращення умов праці і оперативний контроль за станом охорони

праці. Інструктаж по техніці безпеки і навчання проводяться згідно з «Положення про проведення інструктажу по техніці безпеки й навчанню працівників безпечним методам роботи на підприємствах, організаціях, закладах і спільних підприємствах».

Працівники лабораторії періодично проходять інструктаж з питань охорони праці: надання першої медичної допомоги потерпілому під час нещасного випадку, правила поведінки та дії при виникненні аварійних ситуаціях, пожеж. Повторний, або періодичний, інструктаж проводиться один раз у шість місяців, для підтримки та відновлення знань з охорони праці у працівників.

Планування та фінансування робіт з охорони праці

Планування організаційно-технічних заходів з охорони праці – одна з провідних функцій управління охорони праці. Планування робіт по охороні праці буває:

1. Перспективним (на тривалий термін);
2. Поточним (на рік);
3. Оперативним (на квартал, місяць, декаду).

До перспективних планів належить комплексний план покращення умов праці і санітарно-оздоровчих заходів. Таке планування, як правило, розраховане на термін від 2 до 5 років.

Поточні плани передбачають реалізацію заходів із покращення умов праці, створення кращих умов в лабораторії.

Оперативні плани складаються для швидкого виправлення виявлених в процесі державного, відомчого і громадського контролю недоліків в стані охорони праці.

Фінансування робіт з охорони праці здійснюється державним коштом. А також фінансування профілактичних заходів з охорони праці, виконання загальнодержавних, галузевих та регіональних програм поліпшення стану безпеки, гігієни праці та виробничого середовища.

Усі працівники підприємства регулярно проходять навчання та перевірку з питань охорони праці (НПООП 0.00-4.12-05).

В лабораторії працівники, які не пройшли інструктаж, не допускаються до роботи так як вони можуть отримати досить серйозні пошкодження. За порушення законодавства з питань охорони праці, не виконання розпоряджень посадових осіб, органів державного нагляду за охороною праці, юридичні та фізичні особи, які відповідно до законодавства використовують найману працю, притягуються органами державного нагляду з охорони праці до сплати штрафу у порядку, встановленого законом України.

Усі працівники лабораторії обов'язково проходять медичний огляд перед прийняттям на роботу, а за тим вже в встановленні строки, не рідше одного разу на рік. При проходженні медичного огляду обов'язково заводиться санітарна книжка, в неї заносяться відомості про здоров'я, результати медичних оглядів та аналізів, дані про профілактичні щеплення працівників.

3.2. Пожежна безпека

Пожежа – це неконтрольоване горіння поза спеціальним вогнищем, що розповсюджується в часі і просторі та створює загрозу життю і здоров'ю людей, навколишньому середовищу.

Основним нормативним документом, що регламентує вимоги щодо пожежної безпеки є Закон України “Про пожежну безпеку”.

Основними причинами пожеж на виробництві є:

- необережне поводження з вогнем;
- незадовільний стан електротехнічних пристроїв та порушення правил їх монтажу та експлуатації;
- порушення режимів технологічних процесів;
- несправність опалювальних приладів;

- невиконання вимог нормативних документів з питань пожежної безпеки;
- коротке замикання.

З метою попередження пожежі необхідно: проводити інструктажі з пожежної безпеки; дотримуватись правил протипожежної безпеки; перевіряти електрообладнання.

В лабораторії необхідно дотримуватись наступних правил пожежної безпеки:

- забороняється палити на робочому місці;
- забороняється залишати без догляду ввімкнені електроприлади;
- забороняється зберігати на робочому місці легкозаймисті речовини у великій кількості.

З метою своєчасного оповіщення, в лабораторії необхідно встановити протипожежну сигналізацію.

Кожен робітник повинен знати правила для правильного і безпечного гасіння при виникненні пожежі. Підчас горіння легко займистих рідин, треба на полум'я накинути вологу азбестову ковдру, яка в подальшому попередить поширення вогню. При опіках у людини необхідно негайно надати першу медичну допомогу. Під час надання першої медичної допомоги необхідно негайно звільнити потерпілого від одягу, та накласти стерильні бинтові пов'язки на місця ураження. В ніякому разі при наданні допомоги потерпілому суворо забороняється торкатися до уражених ділянок тіла, наносити на уражену шкіру речовин, які тільки збільшать больові відчуття у потерпілого. Відповідна медична допомога може лише надаватися лікарем у відповідних умовах.

4. ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ.

1. Для підрахунку соматичних клітин у козиному молоці за методом Прескота-Бріда найкращими виявилися методи фарбування піроніном Y і Май-Грюнвальда, тому що чітко зафарбовується цитоплазма та ядра соматичних клітин.

2. При підрахунку клітин у мазках, пофарбованих будь-яким методом, не виявлено зразків з кількістю соматичних клітин до 100 тис/мл

3. За результатами досліджень на приладах "Соматос" та "SomaCount Flow Cytometer" найбільша частина мазків відносилася до рівня – 101 – 500 тис/мл – 35,7 і 50% мазків молока відповідно. Найбільша частина мазків щодо методів фарбування – за Романовським-Гімза – 42,9% та за Май-Грюнвальдом – 39,3% відносилася до діапазону 1001–3000 тис/мл, тоді як мазки, пофарбовані піроніном Y і метиловим зеленим – 35,7% – до діапазону 501–1000 тис/мл.

4. При прямому підрахунку соматичних клітин у мазках козиного молока, зафарбованих будь-яким методом, виявляється більша кількість клітин, ніж за допомогою приладів. Розподіл діапазонів соматичних клітин схожий між різними методами фарбування мазків, що ще раз доводить точність методу прямого підрахунку клітин у мазках молока, хоч це більш трудомісткі методи, ніж апаратні.

5. Зі збільшенням кількості соматичних клітин підвищувалися показники жиру, але статистичної різниці не визначено. Також виявлено, що при зниженні вмісту білку температура замерзання підвищувалась.

Пропозиції

Для підрахунку соматичних клітин у козиному молоці за методом Прескота-Бріда пропонується фарбувати мазки методом Май-Грюнвальда – чітко зафарбовується цитоплазма та ядра соматичних клітин, а вартість реактивів для дослідження мазків молока за методом Май-Грюнвальда менша у 28,4 рази у порівнянні з фарбуванням мазків піроніном^oY.

5. СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Брюнчугин В.В. Продуктивность и технологические свойства молока коз зааненской, альпийской и нубийской пород: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. сельхоз. наук: спец. 06.02.10 «Частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства» / Брюнчугин В.В. – Москва, 2012. – С. 21.
2. Галкин А.В., Трепалина Е.П. О соматических клетках в молоке. Молочная река. – 2015. – 1 (57). – С.46–47.
3. Громова Т.Я. Технологічні рішення щодо перспективних напрямів використання козиного молока – 2011. – С.114–120.
4. Зажарська Н.М. Бактеріальне забруднення молока за різних температур і термінів зберігання / Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького. – 2016. – 18. – С. 108–111.
5. Зажарська Н.М. Порівняльна характеристика коров'ячого і козиного молока за даними лабораторії LILCO / Науковий вісник Національного університету і природокористування України. – К., 2016 – 237. – 297–308.
6. Зажарська Н.М. Вплив ветеринарно-санітарних заходів на молочну продуктивність кіз у фермерському господарстві (тези) / Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах: Матеріали VIII Міжнародної наукової конференції. – Дніпропетровськ: Ліра, 2015. – С. 235-237.
7. Зажарська Н.М. Застосування мазі для доїння «Фітосепт» козам для обробки вимені / Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки. Вип. 77. – Одеса:ТЕС, 2015. – С. 31–35.
8. Зажарська Н.М. Вплив періоду лактації, часу надою, сезону на кількість соматичних клітин молока корів: [електронний ресурс] / Зажарська Н.М., Прядка О.В. // Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та

екологічного контролю ресурсів АПК, Т.3, №1, 2015 – 6с. Режим доступу <http://biosafety-center.com/> 2015-т-3-№1/

9. Зажарська Н.М. Посезонна динаміка кількості соматичних клітин у молоці корів та кіз // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії. – Х.: РВВ ХДЗВА., 2014. – Випуск 28, ч. 2 «Ветеринарні науки». – С. 78-80.

10. Зажарська Н.М. Кількість соматичних клітин у молоці корів та кіз // Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Ветеринарна медицина». – Випуск 1 (34), 2014. – С 89-92.

11. Зажарська Н.М. Підвищення якості та безпечності молока кіз в умовах фермерського господарства: [електронний ресурс] / Н.М.Зажарська, Коновалова К.С. //Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК,Т.2, № 3, 2014 – С. 101–105. Режим доступу <http://biosafety-center.com/> 2014-т-2-№3/

12. Зажарська Н.М. Санітарна якість козиного молока за використання гомеопатичних засобів для доїння / Н. М. Зажарська, А. О. Ряба // Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. – 2016. – 17 (1). – С. 72–77.

13. Зажарська Н.М. Моніторинг показників коров'ячого і козиного молока у лабораторії LILCO, Франція / Збірник тез міжнародної науково-практичної конференції «Роль аграрних вищих навчальних закладів у розвитку малих форм господарювання як фактора соціально-економічної стабільності сільських територій та само зайнятості населення». Науково-методичний центр «Агроосвіта». – Київ, 2016. – С.57–58.

14. Зажарська Н.М. Порівняльна характеристика коров'ячого і козиного молока за даними лабораторії LILCO / Науковий вісник Національного університету і природокористування України. – К., 2016 – Вип. 237. – 297–308.

15. Зажарська Н.М., Вінарчук А.В. Вплив мазі для доїння «Фітосепт» на санітарно-гігієнічні показники козиного молока / Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії. – Х.: РВВ ХДЗВА., 2015. – Випуск 30, ч. 2 «Ветеринарні науки». – С. 244–248
16. Зажарська Н.М., Грамма В.О. Порівняльна характеристика показників якості молока кіз німецької білої, альпійської та англо-нубійської порід / Вісник Житомирського національного агроекологічного університету. – 2016. – № 1 (53), т. 1. – С. 214–220.
17. Зажарська Н.М., Жарко Л.І. Порівняння ефективності методів визначення кількості соматичних клітин козиного молока: [електронний ресурс] / Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. – Дніпропетровськ, 2016. – 4 (4). – С. 29–35. Режим доступу <http://biosafety-center.com/> 2016-т-4-№4/
18. Зажарська Н.М., Костюченко К.Г. Вплив періоду лактації, часу надою, сезону на кількість соматичних клітин молока кіз / Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії. – Х.: РВВ ХДЗВА, 2015. – Випуск 31, ч.2. «Ветеринарні науки». – С. 179–184
19. Зажарська Н.М., Бойко О.О., Бригаденко В. Вплив дієти на продуктивність і характеристики козячого молока // Індійський журнал досліджень тварин. 2016 DOI:
20. Иолчиев Б.С. Биотехнологические особенности молока коз / Молочная промышленность 2000 – (7)- С. 44
21. . Касянчук В.В., Скляр О.І., Гаркавенко Т.О., Меженська Н.А., Остапук М.П., Марченко А.М, Бергілевич О.О., Методичні рекомендації щодо підрахунку соматичних клітин в секреті вимені окремих корів та в збірному сирому молоці корів мікроскопічним методом визначення середньої геометричної величини. — Київ, 2011 — с. 40.

22. Касянчук В.В., Скляр О.І., Гаркавенко Т.О., Марченко А.М. Програма покращення молочного стада на основі підрахунку соматичних клітин / Ветеринарна медицина України. - 2011. - 2. - С. 24-27.
23. Касянчук В.В., Скляр О.І., Бергілевич О.М. Показник кількості соматичних клітин у збірному сирому молоці корів – важливе джерело інформації про його якість та умови отримання // Ветеринарна медицина України.– 2013. – 2 (204). С. 24-28.
24. Коротков А.С. Влияние различных факторов на содержание соматических клеток в молоке коров Диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук Москва 2016. – С. 19.
25. Корнеева О.С., Шуваева Г.П., Пономарёв А.Н., Барбашина М.А. Динамика изменения физиолого биохимических свойств молока под действием- ферментных систем // Межрегиональный сборник научных работ ВГУ. – 2004. – 6. – 196 с.
26. Ладика Л.М. Молочна і м'ясна продуктивність кіз в умовах Сумського регіону: автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук: спец. 06.02.04 «Технологія виробництва продуктів тваринництва» / Ладика Л.М. – Харків, 2015. – 20 с.
27. Ладика Л.М. Методология изучения соматических клеток молока коз и мониторинговые исследования их уровня в Восточном регионе Украины // Животноводство и ветеринарная медицина –2014. – 3(14). - С. 14.
28. Молоко козине. Сировина. Технічні умови: ДСТУ 7006:2009. – [Чинний від 2010-01-01]. – К. : Держстандарт України, 2010. – 12 с. – (Національний стандарт України)
29. Рижкова Т. М., Бондаренко Т.А., Характеристика біохімічного складу молока кіз, що додатково до раціону згодовування отримували йодвмісні добавки / Збірник наукових праць «Годівля тварин». – 2012. – 4 (62). – С.40 –44.

30. Студеникин М.Я. Ефимова А. А. Экология и здоровье детей. – М. : Медицина. – 1998. – 384 с.
31. Скидан И.Н., Гуляев А.Е., Казначеев К.С. Жировые глобулы как детерминанты пищевой и биологической ценности козьего молока. Вопросы питания. – 2015. – 84 (2). – С. 81–95.
32. Техническое описание. Руководство по эксплуатации. Анализатор молока вискозиметрический „Соматос-М”. КНЖГ. 414117.001, 2008.
33. Фотина Т.И., Зажарская Н.Н. Влияние средств для гигиены вымени на санитарные показатели козьего молока // Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии : материалы V Международного съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов. УО ВГАВМ. – Витебск, 2015. – С. 52.
34. Т. І. Фотіна, Н. М. Зажарська. Фізико-хімічний склад козиного і овечого молока залежно від висоти випасання тварин / Біологія тварин, 2016, т. 18, № 4. – С.106-112.
35. Фотіна Т.І., Зажарська Н.М, Зубков О.О. Застосування наночастинок срібла козам для обробки вимені / Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. – 2016. – 17 (2). – С. 166–174.
36. Фотіна Т.І., Зажарська Н.М., Костюченко В.Ю. Вплив засобів для доїння на санітарну якість козиного молока / Вісник Сумського національного аграрного університету. – 2015. – 7 (37). – С. 59-65
37. Шаповалов С.О., Россо Л.М., Русько Н.П. Фізіологічна роль соматичних клітин молока, апоптоз та вільнорадикальні процеси Збірник наукових праць Харківського національного педагогічного університету імені Г.С. Сковороди. Біологія та валеологія, –2011. – 13. – С. 80–86

38. Шаповалов С.О., Русько Н.П., Ладика Л.М. Аналіз дослідження соматичних клітин кіз і моніторингові визначення їх рівня в стадах східного регіону України / Вісник аграрної науки – 2014. С. 33–37.
39. Шидловская В. П., Шабшаевич М. Л. Методы и устройства для контроля содержания соматических клеток в молоке-сырье. <http://upr-komplekt.tiu.ru/a86974-metody-ustrojstva-dlya.html>
40. Bagnicka E., Lukaszewicz M., Adnoy T. Environmental and genetic parameters of somatic cells and lactose contents in goat milk / Goat Milk Quality Regional IGA Conference Norway. Abstracts. – 2013.– P. 2.
41. Boutinard M., Guinard-Flament J., Jammes H. The number and activity of mammary epithelial cells, determining factors for milk production / Reproduction Nutrition Développement– 2002.– 44. – P. 499–508.
42. Bagnicka E., Lukaszewicz M., Adnoy T. Genetic parameters of somatic cell score and lactose content in goat's milk /Journal of Animal and Feed Sciences. – 2016. – 25. – P. 210–215.
43. Bagnicka E. Factors influencing technological properties of goat milk / Goat Milk Quality Regional IGA Conference, Norway. Abstracts. – 2013.– P. 14.
. Looper M. Reducing Somatic Cell Count in Dairy Cattle / Agriculture and Natural Resources. – 2013. <https://www.uaex.edu/publications/PDF/FSA-4002.pdf>
44. Gomes V. Effect of the stage of lactation on somatic cell count in healthy goats breed in Brazil/V. Gomes, M. Paiva, K. M. Madfureira, W. P. Araujo//Small Ruminant. — 2006 — P. 30–34.
45. Kavitha G., Isloor S., Rathnamma D., Rajeshwari Y., Nagaraja C., Sadish S. Induction of mastitis in rabbit mammary glands with bovine mastitis bacterial strains / International Journal of Pharma and Bio Sciences. – 2011. – 2 (3). – P. 266—276.
46. Ljutovac R., Gaborit P., Lauret A. The relationship between quality criteria of goat milk, its technological properties and the quality of the final products / Small Ruminant Research. – 2005. – 60. – P. 167–177.

47. Ljutovac R, Pirisi A., DeCremoux R., Gonzalo C. Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects / Small Ruminant Research.– 2007. – 68. – P. 126–144.
48. Leitner, G., Silanikove, N., Merin, U., 2008. Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count / Small Ruminant Research. – 2008. – 74. – P. 221–225.
49. Pajor F., Sramek A., Toth G., Poti P. Effect of somatic cell count on some chemical, physical and bacterial properties of milk in a Hungarian Alpine goat farm / Goat Milk Quality Regional IGA Conference, Norway. Abstracts. – 2013.– P. 38.
50. Silanikovea N., Leitner G., Merin U., Prosser C. Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects / Small Ruminant Research. – 2010. – 89. – P. 110–124.
51. Silanikove N., Merin U., Leitner G. On effects of stage of lactation and subclinical mastitis on milk quality in goats / Goat Milk Quality Regional IGA Conference, Norway. Abstracts. – 2013.– P. 44.
52. Solverod L. Udder health in Norwegian goat dairy herds / Goat Milk Quality Regional IGA Conference, Norway. Abstracts. – 2013.– P. 49.
53. Stuhr T., Aulrich K., Intramammary infections in dairy goats: recent knowledge and indicators for detection of subclinical mastitis. Landbauforschung Applied Agriculture and Forestry Research. –2010. – 4 (60). – P. 267–280.
54. Shkoropad L. Analysis of the production of goat's milk in Ukraine. Proc. of Ukrainian Scientific Research Institute of forecasting and test equipment and technologies for agricultural production. – 2014. – 18 (32). – P. 327–334.
55. Shapovalov S, Fotina T, Kalachnikov V, Zazharska N. Composition physico-chimique du lait de chèvre de l'Est de l'Ukraine / Revue Écologie-Environnement. Université Ibn Khaldoun, Tiaret – 2015. – 11. – P. 70–73.
56. Yangilar F. Potentially Functional Food: Goats' Milk and Products / Journal of Food and Nutrition Research. – 2013. – 4. – P. 68—81.

6. ДОДАТКИ



2. Відбір проб козиного молока



4. Проведення дослідження на віскозиметричному аналізаторі «СОМАТОС-М»