

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ЗАКЛАД ВИЩОЇ ОСВІТИ «ПОДІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ»**

Кваліфікаційна освітньо-наукова праця  
на правах рукопису

**БАНДУРА ВАСИЛЬ ВАСИЛЬОВИЧ**

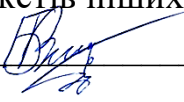
УДК 636.2:618.19-002:616.9:575(043)

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**КЛІНІКО-ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МАСТИТУ КОРІВ З  
УРАХУВАННЯМ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА *COLA-DRB3***

211 – ветеринарна медицина

Подається на здобуття наукового ступеня  
доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень.  
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання  
на відповідне джерело \_\_\_\_\_  В.В. Бандура

Науковий керівник – **Супрович Тетяна Михайлівна,**  
доктор сільськогосподарських наук, професор

**Кам'янець-Подільський – 2026**

## АНОТАЦІЯ

Бандура В.В. Клініко-патогенетичні особливості маститу корів з урахуванням поліморфізму гена BoLA-DRB3.

Кваліфікаційна освітньо-наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина (21 Ветеринарна медицина). Заклад вищої освіти «Подільський державний університет», Кам'янець-Подільський, 2026.

Мастит є одним із найбільш економічно значущих захворювань великої рогатої худоби, що спричиняє суттєві збитки у молочному скотарстві. Основні втрати пов'язані зі зниженням продуктивності та якості молока, витратами на лікування й утримання тварин, а також їх передчасним вибракуванням. Поряд із репродуктивними порушеннями та захворюваннями кінцівок мастит належить до провідних причин вибракування корів. Економічний тягар включає не лише прямі збитки, але й значні ресурси, необхідні для проведення профілактичних заходів. Поширеність маститу залишається високою: клінічні форми можуть уражати до третини поголів'я, тоді як субклінічні в окремих випадках досягають 70%.

Структура збитків залежить від форми перебігу захворювання. У разі клінічного маститу найбільші витрати пов'язані з вибракуванням і заміною тварин, зниженням надоїв, непридатністю молока для переробки, а також затратами на лікування і додаткову працю. Хронічний перебіг характеризується тривалими втратами продуктивності та підвищеним ризиком вибракування.

Економічні збитки при маститі значною мірою визначаються етіологією захворювання: інфекції, спричинені грамнегативними бактеріями, зазвичай зумовлюють більші втрати порівняно з грампозитивними. Захворювання супроводжується зниженням надоїв у середньому на 20-25%, а в окремих випадках – до 50%, при цьому загальне недоотримання молока може досягати сотень кілограмів за лактацію. Молоко стає непридатним для переробки, що суттєво посилює економічні збитки та додатково поглиблює зниження

продуктивності.

Основні дослідження проведено на базі ТОВ ім. Богдана Хмельницького з аналізом захворюваності корів на мастит у 2023-2025 роках. Встановлено тенденцію до зменшення чисельності дійного стада на 5,7% при високому рівні охоплення діагностикою (у середньому 92,8%), що забезпечує репрезентативність отриманих даних. Загальна захворюваність на мастит знизилась на 11,9% у абсолютному та на 2,5% у відносному вираженні, проте середній показник (36,2%) свідчив про значне поширення патології у стаді.

У структурі захворюваності домінував субклінічний мастит (25,4%), частка якого поступово зменшувалась у динаміці років. Водночас рівень клінічних форм залишався практично незмінним (у середньому 10,7%), що може свідчити про трансформацію частини субклінічних випадків у клінічно виражені. Сезонна динаміка характеризувалася чіткою залежністю від умов утримання: пікові значення реєструвалися у холодний період року, на який припадало до 70% випадків, тоді як мінімальні – у літній період.

Катаральна форма переважала у структурі захворювання, становлячи 61,2% випадків, із тенденцією до зростання цієї частки. Гнійно-катаральна форма становила 20,4% і характеризувалася відносною стабільністю. Частка серозної форми з часом зменшувалася (18,4%).

Аналіз клінічних форм маститу показав відносну стабільність їх поширеності (49 випадків протягом трьох років). Найвищу захворюваність відзначено у корів третьої та четвертої лактації.

При бактеріологічному дослідженні 20 зразків молока ідентифіковано 43 штами мікроорганізмів. Встановлено, що мікрофлора має полімікробний характер із домінуванням коагулазонегативних стафілококів (37,2%), *Escherichia coli* (20,9%) та *Staphylococcus aureus* (16,7%). У більшості випадків мікроорганізми входили до складу асоціацій, що свідчить про синергічну їх впливу на розвиток запального процесу.

Виявлено відмінності у видовому складі мікрофлори в залежності від клінічного прояву маститу. Видовий склад мікрофлори відрізнявся залежно від перебігу захворювання: при катаральному типі домінували *Staphylococcus aureus*

(21,9%) та *Escherichia coli* (19,5%). Для гнійно-катаральної форми характерним було переважання *Streptococcus agalactiae* (18,5%), а також присутність *Streptococcus pyogenes* і *Escherichia coli* (по 14,8%) з важким перебігом захворювання. *Staphylococcus aureus* виявляли у половині досліджених проб, а коагулазонегативні стафілококи – у 67,5% випадків. Водночас *Escherichia coli* була присутня за всіх форм маститу, що підтверджує її універсальну роль у патогенезі.

У сучасній ветеринарній практиці контроль маститу базується на поєднанні терапевтичних і профілактичних заходів, серед яких провідну роль відіграє антибактеріальна терапія. Широке застосування антимікробних препаратів у молочному скотарстві підвищує собівартість продукції та зумовлює необхідність їх раціонального використання. Водночас ефективність антибіотикотерапії знижується через зростання резистентності мікроорганізмів, що крім профілактики та діагностики вимагає чіткого контролю при терапії маститу та ефективних підходів шляхом створення та реалізації системи профілактично орієнтованого та точного лікування.

У переході до інтегрованої системи контролю маститу важливу роль відіграє генетичний фактор. Врахування генетичної стійкості тварин до інфекцій дозволяє не лише оптимізувати селекцію стада, а й розробляти індивідуальні стратегії лікування. Використання генетичних маркерів сприяє підвищенню резистентності корів та прогнозуванню їхньої відповіді на терапію.

Головним завданням дисертаційного дослідження було виявлення особливостей перебігу захворювання та результатів лікування корів української чорно-рябої молочної породи (УЧРМ) за наявності в їх генотипі генетичних маркерів схильності до маститів, у якості котрих використано алелі гена BoLA-DRB3 (екзон 2).

Локус DRB3 є одним із найбільш досліджених компонентів МНС великої рогатої худоби (BoLA) і відіграє ключову роль у формуванні імунної відповіді. Екзон 2 цього гена кодує антиген-зв'язувальну ділянку молекули класу II МНС, що безпосередньо визначає розпізнавання та презентацію антигенів Т-лімфоцитам. Саме ця ділянка характеризується високим ступенем поліморфізму,

що зумовлює значну варіабельність імунної відповіді на патогени. Поряд з цим, встановлення тісного і достовірного зв'язку між окремими алелями BoLA-DRB3.2 та імунною стійкістю до маститу підтверджує доцільність їх використання як маркерів для прогнозування перебігу.

Дослідження алельного поліморфізму гена BoLA-DRB3 проведено методом ПЛР-ПДРФ, який забезпечує високу відтворюваність та інформативність завдяки кодомінантному успадкуванню, а можливість точного визначення індивідуальних генотипів корів дозволила оцінити асоціації між генетичним поліморфізмом та фенотиповими ознаками тварин.

У межах дослідження встановлено зв'язок алельних варіантів гена BoLA-DRB3.2 з перебігом маститу у корів. У тварин УЧРМ з алелями \*24 ( $P < 0,05$ ) та \*26 ( $P < 0,05$ ) в генотипі виявлено статистично достовірну асоціацію схильності до захворювання, що свідчить про підвищення можливого ризику маститу. Для алеля BoLA-DRB3.2\*28 ( $P < 0,01$ ) встановлено асоціацію з резистентністю до захворювання, що дозволяє розглядати його як маркер стійкості до маститу.

У корів УЧМ породи виявлено асоціацію маститу з алелем \*26 ( $P < 0,001$ ), який характеризується найвищим рівнем відносного ризику та статистичної значущості серед досліджених варіантів. Отримані результати узгоджуються з літературними даними, де алелі \*24 і \*26 також асоційовані з підвищеним ризиком маститу, тоді як алель \*28 пов'язаний із зниженим рівнем соматичних клітин у молоці.

Таким чином, алелі BoLA-DRB3.2\*24, \*26 та \*28 було визначено як генетичні маркери і використано для оцінки перебігу захворювання та ефективності лікування. Для аналізу сформовано дві групи Д1 – у генотипі яких наявні маркерні алелі BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 і Д2 – у яких зазначені маркери відсутні або мають слабкий зв'язок із захворюванням. В практичній частині використано комплексну схему лікування клінічного маститу, яка базувалася на антибактеріальному препараті Амоксицилін 15% LA у дозі 1 мл/10 кг маси тіла внутрішньом'язово з інтервалом 48 годин (2-3 введення). Локально застосовували Синулокс LC для уражених часток вимені (по 1 шприцу-губі 3-5 діб з інтервалом 24 години). Як протизапальний засіб використовували Айніл у дозі 3 мл/100 кг

маси тіла протягом 1-3 діб. Постійно проводився моніторинг клінічного стану вим'я в процесі терапії та після її завершення.

Результати лікування оцінювали на основі порівняльного аналізу показників клітинної та гуморальної ланок імунної відповіді, отриманих при дослідженні крові, з урахуванням генетичних маркерів BoLA-DRB3.2 у дослідних групах Д1 і Д2 відносно контрольної групи клінічно здорових тварин. Оцінювання проводили за такими напрямками:

- показники природнього та адаптивного імунітету на початку лікування, 3 і 9-у добу експерименту
- комплексна та індивідуальна оцінка ефективності терапії у корів;
- визначення показників ефективності лікування.

У дослідженні встановлено, що наявність алелів \*24 і \*26 впливає на інтенсивність запальної реакції, ступінь гематологічних порушень та швидкість відновлення імунного статусу тварин у процесі терапії.

До початку лікування у корів обох дослідних груп реєстрували виражений лейкоцитоз у межах  $12,9-13,2 \times 10^9/\text{л}$ , зниження рівня гемоглобіну (97-101,2 г/л) та помірне зменшення загального протеїну (63,6-64,6 г/л), що свідчило про активний запальний процес і системну відповідь організму. При цьому кількість еритроцитів залишалася стабільною ( $6,06-6,23 \times 10^{12}/\text{л}$ ) і перебувала в межах фізіологічної норми, що вказує на відсутність виражених порушень еритропоезу ( $P > 0,05$ ).

На 3-тю добу лікування відмічена тенденція до поступового зниження рівня лейкоцитів та стабілізації білкового обміну. Більш чітка позитивна динаміка проявилася на 9-ту добу терапії. У групі Д1 рівень гемоглобіну підвищився до 114,3 г/л ( $P < 0,05$ ), у групі Д2 – до 118,4 г/л ( $P < 0,001$ ), що свідчить про загальну нормалізацію метаболічних процесів. Одночасно спостерігалось зниження кількості лейкоцитів: у Д1 до рівня  $11 \times 10^9/\text{л}$  ( $P < 0,05$ ), у Д2 до  $12,2 \times 10^9/\text{л}$  ( $P < 0,05$ ), що відображає поступове згасання запального процесу та зменшення системної імунної активації. Позитивна динаміка була характерною для показника загального протеїну, який зріс до 70,9 г/л та 69,2 г/л, відповідно, у групах Д1 і Д2 ( $P < 0,05$ ). Інтенсивність змін була дещо вищою у тварин у дослідній групі з наявністю в генотипах маркерів BoLA-DRB3.2\*24 і \*26

маститів, що може бути пов'язано з більш глибокими початковими порушеннями білкового обміну.

Відмінності між групами протягом періоду спостереження виявлено за лейкоцитарною формулою. Активна фаза запалення та пригнічення специфічної імунної відповіді у тварин з алелями DRB3.2\*24 і \*26 на початку захворювання проявлялася значною лімфопенією, нейтрофільним зсувом вліво та підвищенням чисельності базофілів. Подібний гематологічний профіль асоціюється з генетично зумовленим тяжким перебігом маститу за наявності маркерів сприйнятливості та уповільненою ранньою імунною адаптацією. Проведена терапія супроводжувалася нормалізацією показників, однак повного відновлення до рівня контролю досягнути не вдалося. У групі Д2 початкові зміни були менш вираженими, а відновлення лімфоцитарного та нейтрофільного компонентів відбувалося швидше, з тенденцією до наближення до фізіологічних значень ( $P > 0,05$ ).

Ген VoLA-DRB3 кодує молекули презентації антигенів Т-лімфоцитам і визначає ефективність запуску адаптивної імунної відповіді. В дослідженні було встановлено вплив його алелів на інтенсивність активації Т- і В-ланок імунітету та їх вплив на характер імунної відповіді та перебіг запального процесу.

Частка ТЕ-РУЛ у корів із катаральним маститом до лікування склала 55,4% у групі Д1 та 58% у – Д2 проти 69,4% у контролі ( $P < 0,001$ ). У процесі лікування відбулося поступове відновлення показника. На 9-ту добу рівень Т-лімфоцитів у Д2 підвищився до 63% ( $P < 0,05$ ), у Д1 – до 62,4% ( $P < 0,05$ ). Виявлені зміни засвідчили поступову реактивацію клітинної ланки імунітету на фоні проведеного лікування з більш вираженою позитивною динамікою у тварин зі слабо асоційованими алелями VoLA-DRB3.2.

Оцінка Т-клітинної ланки визначила ефективність імунної відповіді та глибину відновлення під час терапії. Частка ТА-РУЛ до лікування склала 35 та 37% у групах Д1 у Д2 проти 46,4% у контролі ( $P < 0,001$ ). У процесі терапії спостерігалось поступове але незначне зростання показника до 38,4 та 40,8%, відповідно, в обох дослідних групах ( $P < 0,01$ ). Більш вираженою динамікою відновлення ефекторної активності Т-клітин характеризувалися корови зі слабо

асоційованими алелями.

До лікування встановлено значний дисбаланс регуляторної ланки: зниження Т-хелперів до 37,2% у Д1 та 37,8% у Д2 проти 46,4% у контролі ( $P < 0,001$ ) та зниження Т-супресорів до 20,8% у Д1. Імунорегуляторний індекс знаходився на межі референтних значень і становив 1,79 у Д1 та 1,63 у Д2. На 9-ту добу відзначено нормалізацію ІРІ до значень 1,74 і 1,3.

Частка В-лімфоцитів на початку експерименту характеризувалася показниками у 40,9 та 46,2% проти 50% у контролі ( $P < 0,05-0,001$ ). У процесі терапії показники зросли на 2,5-6,5% ( $P < 0,05$ ) і практично порівнялися з даними групи здорових тварин. Більш виражена позитивна динаміка відновлення гуморальної ланки імунітету у корів зі слабо асоційованими алелями показала більш активне відновлення функціонального стану гуморальної ланки імунітету.

Комплексне лікування катарального маститу забезпечило 100% одужання незалежно від генотипу корів. Виявлено генетично обумовлені відмінності тривалості відновлення: у тварин носіїв генетичних маркерів BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 період одужання складав 4-5 діб, тоді як тварини з менш асоційованими алелями одужання відбувалося на 2 доби швидше.

Аналіз ефективності лікування маститу засвідчив стійку позитивну динаміку клінічного стану та суттєві зміни клітинної і гуморальної ланок імунітету в обох дослідних групах. Встановлено, що ефективність терапії залежала від генетичних маркерів BoLA-DRB3.2: у корів зі слабоасоційованими алелями показники відновлення були вищими за всіма критеріями. Клінічна ефективність лікування у цій групі становила 86%, а інтегральна – 84,4%, що достовірно перевищувало показники групи Д1.

Індивідуальна оцінка ефективності лікування маститу окремих тварин показала відмінності в результатах терапії, пов'язані з наявністю у тварин генетичних маркерів BoLA-DRB3.2\*24 і \*26. У окремих корів групи Д2 індивідуальний показник загальної ефективності сягнув 90% з повним відновленням клінічних, гематологічних та імунологічних параметрів. Натомість у групі Д1 ефективність терапії була нижчою. Різниця між крайніми значеннями становила 16-17% ( $P < 0,05$ ), що підтверджує вплив генотипу на індивідуальну

відповідь на лікування.

Обмеження використання антибактеріальних препаратів для дійних корів зумовлює пошук нових ефективних методів комплексного контролю перебігу та результатів лікування маститу. Серед альтернативних методів важлива роль належить варіантам терапії з використанням генетичних маркерів, зокрема алелів гена BoLA-DRB3.2\*24 і \*26. В нашій роботі встановлено, що індивідуальний підхід до лікування катарального маститу з врахуванням наявності в генотипах корів маркерних алелів змінює традиційні підходи до процесу терапії і може суттєво впливати на її результати.

**Ключові слова:** корови, мастит, збудники маститу, природний і адаптивний імунітет, ПЛР-ПДРФ, алелі гена BoLA-DRB3, ефективність лікування.

## ANNOTATION

Bandura V.V. Clinical and pathogenetic features of mastitis in cows, taking into account the polymorphism of the BoLA-DRB3 gene.

Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 211 – Veterinary medicine (21 Veterinary). Higher educational institution «Podillia State University», Kamianets-Podilskyi, 2026.

Mastitis is one of the most economically significant diseases in cattle, causing substantial losses in dairy farming. The main losses are associated with decreased productivity and milk quality, increased costs for treatment and animal maintenance, as well as premature culling. Alongside reproductive disorders and limb diseases, mastitis is among the leading causes of cow culling. The economic burden includes not only direct losses but also significant resources required for preventive measures. The prevalence of mastitis remains high: clinical forms may affect up to one-third of the herd, while subclinical forms in some cases reach up to 70%.

The structure of losses depends on the course of the disease. In clinical mastitis, the greatest costs are associated with culling and replacement of animals, decreased

milk yield, unsuitability of milk for processing, as well as treatment and additional labour costs. The chronic course is characterized by prolonged productivity losses and an increased risk of culling.

Economic losses from mastitis are largely determined by its etiology: infections caused by gram-negative bacteria usually result in greater losses compared to gram-positive ones. The disease is accompanied by a reduction in milk yield by an average of 20-25%, and in some cases up to 50%, while total milk loss can reach hundreds of kilograms per lactation. Milk becomes unsuitable for processing, which significantly exacerbates economic losses and further reduces productivity.

The main studies were conducted at LLC named after Bohdan Khmelnytskyi, analyzing mastitis incidence in cows during 2023–2025. A decrease in the number of dairy cows by 5,7% was observed alongside a high diagnostic coverage (on average 92,8%), ensuring the representativeness of the data. The overall incidence of mastitis decreased by 11,9% in absolute terms and by 2,5% in relative terms; however, the average rate (36,2%) indicated a significant spread of the pathology in the herd.

Subclinical mastitis predominated in the disease structure (25,4%), with a gradual decline over the years. At the same time, the level of clinical forms remained almost unchanged (on average 10,7%), which may indicate the transformation of some subclinical cases into clinically expressed ones. Seasonal dynamics showed a clear dependence on housing conditions: peak incidence occurred during the cold period, accounting for up to 70% of cases, while the lowest levels were recorded in summer.

The catarrhal form predominated in the disease pattern, accounting for 61,2% of cases, with a tendency for this proportion to increase. The purulent-catarrhal form accounted for 20,4%, exhibiting relative stability. The proportion of the serous form decreased over time (18,4%). Analysis of the clinical forms of mastitis showed relative stability in prevalence (49 cases over three years). The highest incidence was observed in cows in their third or fourth lactation.

Bacteriological examination of 20 milk samples identified 43 microbial strains. The microflora was polymicrobial, dominated by coagulase-negative staphylococci (37,2%), *Escherichia coli* (20,9%), and *Staphylococcus aureus* (16,7%). In most cases,

microorganisms formed associations, indicating their synergistic role in the development of the inflammatory process.

Differences in microbial species composition were observed depending on the clinical manifestation of mastitis. The species composition of the microflora varied depending on the course of the disease: in the catarrhal type, *Staphylococcus aureus* (21,9%) and *Escherichia coli* (19,5%) were predominant. The purulent-necrotic form was characterized by the predominance of *Streptococcus agalactiae* (18,5%), along with *Streptococcus pyogenes* and *Escherichia coli* (14,8% each), associated with a severe disease course. *Staphylococcus aureus* was detected in half of the samples, and coagulase-negative staphylococci in 67,5% of cases. *Escherichia coli* was present in all forms of mastitis, confirming its universal role in pathogenesis.

In modern veterinary practice, the management of mastitis is based on a combination of therapeutic and preventive measures, with antimicrobial therapy playing a key role. The widespread use of antimicrobials in dairy farming increases production costs and necessitates their rational use. At the same time, the effectiveness of antibiotic therapy is decreasing due to the growing resistance of microorganisms, which, in addition to prevention and diagnostics, requires strict control during treatment and the development of effective approaches through a system of preventive-oriented and precision therapy.

In the transition to an integrated mastitis control system, genetic factors play an important role. Considering genetic resistance of animals to infections allows not only optimization of herd selection but also the development of individualized treatment strategies. The use of genetic markers contributes to increased resistance in cows and enables prediction of their response to therapy.

The main objective of the dissertation study was to identify the features of disease progression and treatment outcomes in Ukrainian Black-and-White dairy cows with genetic markers of mastitis susceptibility, specifically alleles of the BoLA-DRB3 gene (exon 2).

The DRB3 locus is one of the most studied components of the bovine major histocompatibility complex (BoLA) and plays a key role in immune response

formation. Exon 2 of this gene encodes the antigen-binding site of MHC class II molecules, which directly determines antigen recognition and presentation to T lymphocytes. This region is highly polymorphic, resulting in significant variability in immune responses to pathogens. The established strong and significant association between specific BoLA-DRB3.2 alleles and immune resistance to mastitis confirms their usefulness as markers for predicting disease progression.

The allelic polymorphism of the BoLA-DRB3 gene was studied using PCR-RFLP, which ensures high reproducibility and informativeness due to codominant inheritance. Accurate determination of individual cow genotypes allowed assessment of associations between genetic polymorphism and phenotypic traits.

The study established a link between allelic variants of the BoLA-DRB3.2 gene and the course of mastitis in cows. In Ukrainian Black-and-White dairy cows, alleles \*24 ( $P < 0,05$ ) and \*26 ( $P < 0,05$ ) were significantly associated with increased susceptibility to the disease. Allele \*28 ( $P < 0,01$ ) was associated with resistance, suggesting its potential as a marker of mastitis resistance.

In Ukrainian Black-and-White cows, mastitis was strongly associated with allele \*26 ( $P < 00001$ ), which showed the highest relative risk and statistical significance. These results are consistent with literature data, where alleles \*24 and \*26 are also linked to increased mastitis risk, while allele \*28 is associated with lower somatic cell counts in milk.

Thus, alleles BoLA-DRB3.2\*24, \*26, and \*28 was identified as genetic markers and used to evaluate disease progression and treatment effectiveness. Two experimental groups were formed: D1 (carrying alleles \*24 and \*26) and D2 (lacking these markers or showing weak association).

A complex therapy for clinical mastitis was applied: systemic administration of Amoxicillin 15% LA (1 ml/10 kg body weight intramuscularly every 48 hours, 2-3 injections), local treatment with Synulox LC (one intramammary syringe per affected quarter for 3-5 days at 24-hour intervals), and anti-inflammatory therapy with Aynil (3 ml/100 kg body weight for 1-3 days). Continuous monitoring of udder condition was conducted during and after treatment.

The treatment outcomes were assessed on the basis of a comparative analysis of the parameters of the cellular and humoral components of the immune response, obtained from blood tests, taking into account the BoLA-DRB3.2 genetic markers in the experimental groups D1 and D2 relative to the control group of clinically healthy animals. The assessment was carried out in the following areas:

- indicators of innate and adaptive immunity at the start of treatment, and on days 3 and 9 of the experiment;
- a comprehensive and individual assessment of the efficacy of therapy in cows;
- determination of treatment efficacy indicators.

The study found that the presence of alleles \*24 and \*26 influences the intensity of the inflammatory response, the severity of haematological abnormalities, and the rate at which the animals' immune status recovers during treatment.

Prior to the start of treatment, cows in both experimental groups exhibited marked leukocytosis within the range of  $12,9-13,2 \times 10^9/l$ , a decrease in haemoglobin levels (97-101,2 g/l) and a moderate reduction in total protein (63,6-64,6 g/l), indicating an active inflammatory process and a systemic response by the organism. At the same time, the red blood cell count remained stable ( $6,06-6,23 \times 10^{12}/L$ ) and was within the physiological range, indicating the absence of marked disturbances in erythropoiesis ( $P > 0,05$ ).

By the third day of treatment, a trend towards a gradual decrease in white blood cell count and stabilisation of protein metabolism was observed. A more pronounced positive trend became apparent on the 9th day of treatment. In group D1, the haemoglobin level rose to 114,3 g/l ( $P < 0,05$ ), and in group D2 to 118,4 g/l ( $P < 0,001$ ), indicating a general normalisation of metabolic processes. At the same time, a decrease in white blood cell count was observed: in group D1 to  $11 \times 10^9/l$  ( $P < 0,05$ ), and in group D2 to  $12,2 \times 10^9/l$  ( $P < 0,05$ ), reflecting the gradual resolution of the inflammatory process and a reduction in systemic immune activation. A positive trend was observed for total protein, which increased to 70,9 g/l and 69,2 g/l, respectively, in groups D1 and D2 ( $P < 0,05$ ). The intensity of the changes was slightly higher in animals in the experimental group carrying the BoLA-DRB3.2\*24 and \*26 mastitis markers in their

genotypes, which may be associated with more profound initial disturbances in protein metabolism.

Differences between the groups were observed in the white blood cell count throughout the observation period. The active phase of inflammation and suppression of the specific immune response in animals with DRB3.2\*24 and \*26 alleles at the onset of the disease was manifested by significant lymphopenia, a left shift in the neutrophil count, and an increase in basophil numbers. A similar haematological profile is associated with a genetically determined more severe course of mastitis in the presence of susceptibility markers and delayed early immune adaptation. The therapy administered was accompanied by normalisation of the parameters; however, complete recovery to control levels was not achieved. In group D2, the initial changes were less pronounced, and the recovery of the lymphocytic and neutrophilic components occurred more rapidly, with a tendency to approach physiological values ( $P > 0,05$ ).

The BoLA-DRB3 gene encodes molecules responsible for antigen presentation to T lymphocytes and plays a key role in determining the effectiveness of the adaptive immune response. The study demonstrated that its alleles influence the intensity of T- and B-cell activation, as well as shape the nature of the immune response and the progression of the inflammatory process.

The proportion of TE-RFC (total lymphocytes) in cows with catarrhal mastitis prior to treatment was 55,4% in group D1 and 58% in group D2, compared with 69,4% in the control group ( $P < 0,001$ ). During treatment, a gradual recovery of this indicator occurred. By day 9, the T-lymphocyte level in group D2 had risen to 63% ( $P < 0,05$ ), and in group D1 to 61,3% ( $P < 0,05$ ). The observed changes indicated a gradual reactivation of the cellular component of immunity against the background of the treatment, with a more pronounced positive trend in animals with weakly associated BoLA-DRB3.2 alleles.

Assessment of the T-cell component determined the efficacy of the immune response and the extent of recovery during treatment. The proportion of TA-RFC (active lymphocytes) prior to treatment was 35% and 37% in groups D1 and D2, respectively, compared with 46,4% in the control group ( $P < 0,001$ ). During therapy, a

gradual but slight increase in this indicator was observed, to 38,4% and 40,8%, respectively, in both experimental groups ( $P < 0,01$ ). Cows with weakly associated alleles exhibited a more pronounced recovery in T-cell effector activity.

Comprehensive treatment of catarrhal mastitis resulted in a 100% recovery rate, regardless of the cows' genotype. Genetically determined differences in recovery time were identified: in animals carrying the BoLA-DRB3.2\*24 and \*26 genetic markers, the recovery period was 4-5 days, whereas in animals with less associated alleles, recovery occurred 2 days sooner.

An analysis of the efficacy of mastitis treatment revealed a sustained positive trend in clinical status and significant changes in the cellular and humoral components of the immune system in both experimental groups. It was established that the efficacy of therapy depended on the BoLA-DRB3.2 genetic markers: in cows with weakly associated alleles, recovery rates were higher across all criteria. The clinical efficacy of treatment in this group was 86%, and the overall efficacy was 84,4%, which significantly exceeded the figures for group D1 by 12% and 10,9%, respectively.

An individual assessment of the effectiveness of mastitis treatment in individual animals revealed differences in treatment outcomes associated with the presence of the BoLA-DRB3.2\*24 and \*26 genetic markers in the animals. In some cows in group D2, the individual overall efficacy rate reached 90% with full recovery of clinical, haematological and immunological parameters. In contrast, in group D1, treatment efficacy was lower. The difference between the extreme values was 16-17% ( $P < 0,05$ ), confirming the influence of genotype on the individual response to treatment.

Limitations in antibiotic use in dairy cows necessitate alternative approaches. Genetic marker-based strategies, particularly involving BoLA-DRB3.2 alleles \*24 and \*26, offer promising perspectives. Our study has shown that a personalised approach to the treatment of catarrhal mastitis, taking into account the presence of marker alleles in the cows' genotypes, alters traditional therapeutic approaches and can have a significant impact on treatment outcomes.

**Keywords:** cows; mastitis; mastitis pathogens; innate and adaptive immunity; PCR-RFLP; *BoLA-DRB3* gene alleles; treatment efficacy.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

**Статті у виданнях, які проіндексовані у базі даних Scopus/WoS:**

1. Suprovych, T. M., Salyha, Yu. T., Suprovych, M. P., Fedorovych, Ye. I., Fedorovych, V. V., Laiter-Moskaliuk, S. V., Tokarchuk, T. S., & Bandura, V. V. (2024). Genetic diversity of the Ukrainian black-and-white dairy breed population by the BoLA-DRB3 gene under the effect of Holsteinization. *Cytology and Genetics*, 58, 560–571. <https://doi.org/10.3103/S0095452724060100> (Здобувач проводив реакцію ПЛР-ПДРФ, аналіз фореграм і оформляв матеріали статті до друку).

**Статті у фахових наукових виданнях України, включених до категорії Б:**

2. Suprovych, T. M., Suprovych, M. P., Bandura, V. V., & Chornyi, I. O. (2023). Генетичні дослідження великої рогатої худоби на основі ДНК-маркерів. *Podilian Bulletin: Agriculture, Engineering, Economics*, (38), 192–202. <https://doi.org/10.37406/2706-9052-2023-1.29> (Здобувач проводив забір крові від тварин у господарстві, реакцію ПЛР-ПДРФ, аналіз фореграм і оформляв матеріали статті до друку).

3. Bandura, V. V., & Suprovych, T. M. (2025). Ordering of alleles “without specific nomenclature” of BoLA-DRB3 exon 2 gene obtained by PCR-RFLP. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького*, 27(103), 88–96. <https://nvlvet.com.ua/index.php/agriculture> (Здобувач проводив аналіз фореграм і оформляв матеріали статті до друку).

4. Bandura, V. V., & Suprovych, T. M. (2025). Генетичний профіль української червоної молочної породи за геном BoLA-DRB3. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних лікарських засобів та кормових добавок та Інституту біології тварин*, 26(2), 23–32. <https://doi.org/10.36359/scivp.2025-26-2.03> (Здобувач проводив реакцію ПЛР-ПДРФ, аналіз фореграм і оформляв матеріали статті до друку).

5. Bandura, V. V., & Suprovych, T. M. (2026). Clinical and biological significance of DNA markers in mastitis in cows of the Ukrainian Red Dairy breed.

*Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 9(1), 8–14.  
<http://ujvas.com.ua/>

6. Бандура, В. В., & Супрович, Т. М. (2026). Паратипові чинники маститу корів в умовах фермерського господарства. *Подільський вісник: сільське господарство, техніка, економіка*, (50). С.282-288 <https://doi.org/10.37406/2706-9052-2026-1-39> (Здобувач проводив дослідження у господарстві, здійснював ідентифікацію мікроорганізмів у лабораторії та оформляв матеріали статті до друку).

#### Статті у закордонних виданнях

7. Suprovych, T., Bandura, V., Chorny, I., & Perehniak, Y. (2023). BoLA-DRB3 gene's polymorphism of Ukrainian cattle breeds in relation to mastitis. In *Management of the genetic fund of animals: Problems, solutions, outlooks* (pp. 434–444). Print-Caro. <https://doi.org/10.61562/mgfa2023.58> (Здобувач проводив дослідження у господарстві, реакцію ПЛР-ПДРФ, аналіз фореграм і оформляв матеріали статті до друку).

8. Suprovych, T., Bandura, V., Laiter-Moskaliuk, S., & Tokarchuk, T. (2023). Biodiversity of world and Ukrainian cattle breeds by BoLA-DRB3 gene. In *Biodiversity of agricultural plants and animals, their conservation and perspectives* (pp. 245–250). (Здобувач проводив аналіз фореграм і оформляв матеріали статті до друку).

**Матеріали і тези наукових конференцій та інші наукові видання, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

9. Бандура В. В. (2024). Оцінка генетичного біорізноманіття українських порід великої рогатої худоби за індексом Шенона та поліморфізмом гена BoLA-DRB3. У *Біологія тварин: Тези доповідей XXII Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 75-річчю від дня народження доктора ветеринарних наук, професора, члена-кореспондента НААН Р. Федорчука (19–20 вересня 2024 р., м. Львів, Україна)* (т. 26, № 3, с. 132). Retrieved from: [https://aminbiol.com.ua/images/Journal/2024/3/AB\\_2024\\_26\\_3\\_5\\_conference.pdf](https://aminbiol.com.ua/images/Journal/2024/3/AB_2024_26_3_5_conference.pdf)

10. Бандура В. В., Супрович Т. М., & Супрович М. П. (2024). Порівняння генетичного різноманіття порід великої рогатої худоби за геном BoLA-DRB3. *Зміна клімату та її наслідки для тваринництва і ветеринарної медицини: наукові*

*підходи та інноваційні рішення: Збірник матеріалів Міжнародної науково-практичної конференції (10–11 жовтня 2024 р., Одеса) (с. 17–19). ІКОСГ НААН.*  
<http://188.190.33.55:7980/jspui/handle/123456789/13853>

11. Бандура В. В., Супрович Т. М., & Супрович М. П. (2025). Biodiversity of cattle breeds by the BoLA-DRB3 gene. *Зміна клімату та її наслідки для тваринництва і ветеринарної медицини: наукові підходи та інноваційні рішення: Збірник матеріалів II Міжнародної науково-практичної конференції (23–24 жовтня 2025 р., Одеса) (с. 17–19). ІКОСГ НААН.*

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ .....	2
ANNOTATION .....	9
СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ.....	16
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ	21
ВСТУП .....	23
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	29
1.1. Мастит корів як актуальна проблема молочного скотарства .....	29
1.2. Етіологія та патогенез маститу корів.....	31
1.3. Клініко-морфологічні особливості різних форм маститу .....	38
1.4. Імунологічні механізми захисту молочної залози .....	41
1.5. Ген BoLA-DRB3 та його роль у формуванні резистентності корів до маститу.....	44
1.6. Поліморфізм алелів гена BoLA-DRB3 і його роль у формуванні резистентності до маститу у молочної худоби	52
1.7. Узагальнення огляду літератури та обґрунтування напрямів власних досліджень.....	56
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	61
2.1. Визначення ДНК-маркерів на основі алелів гена BoLA-DRB3 асоційованих з чутливістю до маститу .....	61
2.2. Визначення маститу корів та бактеріологічні дослідження.....	65
2.3. Методика та схема проведення досліджень .....	64
2.4. Визначення морфологічних показників крові та субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів .....	67
2.5. Статистичний аналіз.....	72
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	76
3.1. Виявлення алелів гена BoLA-DRB3 асоційованих з маститом корів	76
3.1.1. Алелі гена BoLA-DRB3 асоційовані з маститом корів української червоної молочної породи.....	78

	20
3.1.2. Алелі гена BoLA-DRB3 асоційовані з маститом корів української чорно-рябої молочної породи .....	83
3.1.3. Обґрунтування вибору алелів гена BoLA-DRB3 при дослідженні ефективності лікування маститу .....	87
3.2. Клініко-патогенетичні особливості маститу корів в дослідних господарствах .....	91
3.2.1. Поширеність та моніторинг різних форм маститу .....	91
3.2.2. Особливості перебігу маститу корів у дослідному господарстві.....	95
3.3. Етіологічна структура субклінічного та клінічного перебігу маститу корів .....	99
3.4. Особливості клінічних проявів та ефективності лікування патологій молочної залози у корів з урахуванням алелів гена BoLA-DRB3 .....	104
3.4.1. Перебіг захворювання молочної залози корів з урахуванням алелів гена BoLA-DRB3.....	104
3.4.2. Вплив комплексного лікування на морфологічні та біохімічні показники крові корів хворих на катаральний мастит .....	108
3.4.3. Вплив комплексного лікування на клітинний і гуморальний імунітет корів хворих на катаральний мастит .....	113
3.4.4. Терапевтична ефективність комплексного лікування катарального маститу корів з урахуванням алелів гена BoLA-DRB3 .	122
4. РОЗДІЛ. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	129
ВИСНОВКИ.....	158
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ .....	161
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ.....	162
ДОДАТКИ .....	189

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ

- BoLA-DRB – (Bovine Lymphocyte Antigen) головний комплекс гістосумісності великої рогатої худоби
- CYP2I – 21 $\alpha$ -гідроксилаза
- DSCC – диференційний соматичний клітинний рахунок
- EBV – прогнозована племінна цінність корів
- GWAS (Genome-Wide Association Studies) – геном-широкі асоціативні дослідження
- $h^2$  – коефіцієнт спадковості ознаки (спадковості)
- HGB – (Hemoglobin) – гемоглобін
- HSP70 – білок теплового шоку
- IL – інтерлейкіни
- MAF – (Minor Allele Frequency) частота менш поширеного алеля в популяції
- NMC – (National Mastitis Council) – національна рада з маститу
- PAMP – (Pathogen-Associated Molecular Pattern) патоген-асоційовані молекулярні структури
- PRL – ген пролактину
- QTL – (Quantitative Trait Locus) локус кількісної ознаки
- $r$  – коефіцієнт повторюваності ознаки
- RR – відносний ризик
- RsaI, HaeIII, BstYI – ендонуклеази рестрикції
- SNP – (Single Nucleotide Polymorphism) однонуклеотидний поліморфізм
- TNF- $\alpha$  – фактор некрозу пухлини-альфа
- WBC – (White Blood Cells) – лейкоцити
- ГКГ – головний комплекс гістосумісності ВРХ
- ЕАС-РУЛ (В-РУЛ) – В-лімфоцити індикаторних клітин
- ЕБ – еритроцити барана
- ІМІ – інтрамаммарна інфекція
- ІРІ – імунорегуляторний індекс

КМ – клінічний мастит

КСК – кількість соматичних клітин в молоці (SCC – Somatic Cell Count)

НПЗП – нестероїдні протизапальні препарати

ПЛР-ПДРФ – поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів

СКМ – субклінічний мастит

Th – Т-лімфоцити-хелпери (теофілінрезистентні)

Ts – Т-лімфоцити-супресори (теофілінчутливі)

ТА-РУЛ – кількість активних розеткоутворюючих Т-лімфоцитів

ТЕ-РУЛ – загальна кількість розеткоутворюючих Т-лімфоцитів

УЧерМ – українська червоно-ряба молочна порода

УЧМ – українська червона молочна порода

УЧРМ – українська чорно-ряба молочна порода

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Мастит корів є однією з найпоширеніших патологій у молочному скотарстві та залишається актуальною проблемою ветеринарної медицини протягом останніх десятиліть. За даними зарубіжних досліджень, частота клінічних і субклінічних форм маститу у молочних стадах коливається від 20 до 60%, а в окремих високопродуктивних господарствах може перевищувати зазначені показники [75, 198].

Економічні втрати, зумовлені маститом, включають зниження молочної продуктивності, погіршення якості молока, збільшення витрат на лікування, втрати від вибраковки тварин і недоотримання прибутку, що в сукупності становить значну частку собівартості молока [110].

В Україні проблема маститу набуває особливої актуальності. За результатами вітчизняних досліджень, поширеність субклінічного маститу в господарствах різних форм власності становить у середньому 35-50 %, що негативно впливає не лише на продуктивність корів, а й на безпечність і технологічні властивості молока. Патологія молочної залози залишається однією з основних причин передчасної вибраковки високопродуктивних корів [5, 18].

Перебіг захворювання часто має стерті або атипові клінічні прояви, особливо за субклінічної та хронічної форм, що ускладнює ранню діагностику та знижує ефективність лікувально-профілактичних заходів. Навіть за відсутності виражених клінічних ознак мастит супроводжується істотними змінами фізико-хімічних і мікробіологічних показників молока [22, 35].

Сучасні уявлення про мастит базуються на концепції його багатофакторної природи. На розвиток запального процесу в молочній залозі впливають інфекційні чинники, умови утримання та годівлі і індивідуальні особливості організму тварин. Порушення технології доїння, незадовільна гігієна та стресові фактори значно підвищують ризик виникнення маститу навіть за наявності стандартних профілактичних програм [189, 198].

Останніми роками зростає науковий інтерес до ролі генетичних чинників у формуванні резистентності корів до маститу. Дослідження показали, що гени головного комплексу гістосумісності великої рогатої худоби (BoLA) відіграють ключову роль у регуляції імунної відповіді. Ген BoLA-DRB3 характеризується високим рівнем алельного поліморфізму та безпосередньо залучений до процесів презентації антигенів Т-лімфоцитам, що визначає ефективність імунної відповіді на бактеріальні патогени [218].

У подальших дослідженнях встановлено асоціації між окремими алельними варіантами гена BoLA-DRB3 та рівнем соматичних клітин у молоці, частотою виникнення маститу та характером його перебігу. Водночас спостерігається значна варіабельність отриманих асоціацій залежно від породи, популяції та умов утримання корів, що зумовлює необхідність регіональних досліджень [191, 201].

В Україні окремі роботи присвячені клінічним та епізоотологічним аспектам маститу, проте комплексні дослідження, що поєднують клініко-патогенетичний аналіз із молекулярно-генетичним підходом, залишаються поодинокими. Недостатньо з'ясованими є механізми взаємодії поліморфізму гена BoLA-DRB3 з формуванням імунної відповіді та перебігу захворювання.

У зв'язку з цим проведення комплексних досліджень, спрямованих на вивчення клініко-патогенетичних особливостей маститу корів з урахуванням поліморфізму гена BoLA-DRB3, є науково обґрунтованим і актуальним. Отримані результати сприятимуть поглибленню уявлень про патогенез маститу та можуть бути використані для удосконалення системи діагностики, прогнозування і профілактики захворювання у молочному скотарстві.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційну роботу виконано в Закладі вищої освіти «Подільський державний університет» на кафедрі гігієни тварин та ветеринарного забезпечення кінологічної служби Національної поліції України протягом 2022–2025 років за кафедральною ініціативною тематикою «Вивчення і розробка методів оцінки впливу комплексу генетичних та антропогенно змінених чинників середовища на функціональний стан організму тварин і птиці», номер державної реєстрації

№0121u110773.

**Мета і задачі досліджень.** Мета роботи полягала у з'ясуванні особливостей клінічного прояву, морфологічних та імунологічних особливостей гомеостазу в організмі хворих на катаральний мастит корів і ефективності лікування з урахуванням поліморфізму гена *BoLA-DRB3*.

Для досягнення мети необхідно було вирішити такі завдання:

- визначити алелі гена *BoLA-DRB3* асоційовані з маститом корів українських червоної і чорно-рябої молочних порід;
- дослідити захворюваність корів на мастит у господарствах Хмельницької області;
- вивчити особливості виникнення запальних процесів молочної залози у корів в умовах фермерського господарства Хмельницької області;
- встановити склад мікробіоти секрету молочної залози корів за субклінічного і клінічного перебігу маститу та визначити чутливість основних збудників захворювання до антибіотиків;
- з'ясувати особливості клінічного прояву патології молочної залози у корів з урахуванням алелів гена *BoLA-DRB3*;
- дослідити динаміку морфологічних та імунологічних показників крові у корів, хворих на катаральний мастит, у процесі комплексного лікування залежно від наявності алелів гена *BoLA-DRB3* у генотипі;
- вивчити терапевтичну, загальну групову та індивідуальну ефективність лікування маститу корів з урахуванням алелів гена *BoLA-DRB3*;
- обґрунтувати можливість використання даних про поліморфізм гена *BoLA-DRB3* для прогнозування ризику розвитку маститу та удосконалення профілактичних заходів.

*Об'єкт досліджень:* клінічний та субклінічний мастит корів, клініко-патогенетичні особливості маститу корів, імунобіологічна реактивність організму корів за умови маститу, поліморфізм алелів гена *BoLA-DRB3*.

*Предмет досліджень:* мікробіоценози за клінічного і субклінічного маститу, морфологічні й імунологічні показники крові, асоціації алелів гена *BoLA-DRB3* з

формами маститу корів, терапевтична ефективність комплексного лікування катарального маститу корів з урахуванням алелів гена BoLA-DRB3.

**Методи досліджень:** бактеріологічні (виділення та ідентифікація збудників маститу, визначення їх чутливості до антибактеріальних препаратів), клінічні (виявлення клінічного і субклінічного перебігу маститу), гематологічні (формені елементи крові, гемоглобін, лейкоцитарна формула), імунологічні (показники клітинного та гуморального імунітету), молекулярно-біологічні (ПЛР-ПДРФ), Статистичний обробіток даних проводили в стандартному пакеті «Microsoft Excel 2013» з використанням власних програм, інтегрованої надбудови GenAlEx 6.503 (<http://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Download.html>) та з використанням програми PAST 4.03. (PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Reference manual. <https://www.nhm.uio.no/downloads/past4manual>).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше визначено ДНК-маркери на основі алелів гена BoLA-DRB3 асоційовані із захворюваністю на мастит корів української червоної молочної породи. Зі стійкістю до захворювання асоціюється алель BoLA-DRB3\*28, зі схильністю – BoLA-DRB3\*26.

Вперше встановлено клініко-патогенетичні особливості перебігу маститу у корів з урахуванням поліморфізму гена BoLA-DRB3, виявлено асоціації між окремими алельними варіантами гена BoLA-DRB3 та схильністю корів до розвитку різних клінічних форм маститу. Експериментально доведено, що при наявності алелів гена BoLA-DRB3.2\*26 і \*24 у корів української чорно-рябої молочної породи виникають клінічний і субклінічний мастит.

Вперше доведено уявлення про патогенез маститу корів з позицій взаємодії генетичних факторів; підходи до оцінки імунного статусу корів при маститі залежно від генотипу за геном BoLA-DRB3. Доведено, що наявність алелів BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 зумовлює особливості перебігу запального процесу та відновлення організму.

Вперше встановлено генотип-залежні зміни адаптивного імунітету у корів, хворих на катаральний мастит. Встановлено, що у носіїв алелів BoLA-

DRB3.2\*24 і \*26 пригнічення клітинної ланки імунітету є більш вираженим, що свідчить про вплив генотипу на перебіг імунної відповіді.

Набули подальшого розвитку: наукові положення щодо використання молекулярно-генетичних маркерів у прогнозуванні захворюваності корів на мастит; концепція індивідуалізованої профілактики маститу з урахуванням генетичних особливостей та умов утримання тварин.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати досліджень впроваджено та можуть бути використані у практиці ветеринарної медицини для підвищення ефективності діагностики, лікування та профілактики маститу у корів.

Запропоновано використання визначення поліморфізму гена BoLA-DRB3 як додаткового критерію прогнозування ризику розвитку маститу, що дає змогу своєчасно виявляти тварин із підвищеною сприйнятливістю до захворювання.

Обґрунтовано доцільність урахування генетичних особливостей організму при виборі лікувальних заходів, що сприяє підвищенню їх ефективності, скороченню тривалості лікування та зменшенню економічних втрат.

Практичне значення отриманих результатів підтверджено актом впровадження у виробництво від 6.02.2026 року (додаток 1).

Результати роботи використовуються в навчальному процесі при підготовці фахівців ОР «Магістр» за напрямом ветеринарна медицина за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» у Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького та Інституті біології тварин НААН, м. Львів (додатки 2 – 3).

**Особистий внесок здобувача.** Здобувач самостійно здійснив аналіз і узагальнення наукової літератури за темою дисертації, опрацював первинні дані, розробив схему і методологію дослідження, виконав усі заплановані клінічні, бактеріологічні та лабораторні дослідження, провів математичну та статистичну обробку отриманих результатів, а також підготував наукові публікації за матеріалами дисертаційної роботи. Під керівництвом наукового керівника було обґрунтовано тему та концепцію дослідження, сформульовано основні положення висновків і практичних рекомендацій. Частина досліджень здобувач

виконував у співавторстві з авторами окремих публікацій, включених до переліку робіт за темою дисертації, яким висловлюється щира подяка.

**Апробація результатів дисертаційних досліджень.** Матеріали роботи було представлено на засіданнях науково-технічної ради закладу вищої освіти «Подільський державний університет» та наукових конференціях: International scientific conference «Biodiversity of agricultural plants and animals, their conservation and perspectives», October 04-06, 2023, Tbilisi, Georgia; Scientific and practical conference with international participation: "Management of the genetic fund of animals - problems, solutions, outlooks", 28-30 september 2023, Chisinau, Moldova; XXII Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 75-річчю від дня народження доктора ветеринарних наук, професора, члена-кореспондента НААН Ростислава ФЕДОРУКА (11.08.1949 – 21.06.2023) 19-20 вересня 2024 року, м. Львів, Україна; Міжнародна науково-практична конференція «Зміна клімату та її наслідки для тваринництва і ветеринарної медицини: наукові підходи та інноваційні рішення», 10-11 жовтня 2024 року, Одеса: ІКОСГ НААН; II Міжнародна науково-практична конференція «Зміна клімату та її наслідки для тваринництва і ветеринарної медицини: наукові підходи та інноваційні рішення», 23-24 жовтня 2025 року, Одеса: ІКОСГ НААН.

**Публікації.** За темою виконаного в дисертації дослідження видано 11 наукових праць, із них 1 стаття у виданнях проіндексованих у базах даних Scopus/WoS: 5 статей у фахових наукових виданнях України (категорія Б), 2 статті у закордонних виданнях, 3 праці – у матеріалах конференцій.

**Структура і обсяг роботи.** Дисертацію викладено на 190 сторінках тексту комп'ютерного набору. Робота містить наступні розділи: анотації (українською та англійською мовами), вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати досліджень, їх аналіз та узагальнення, висновки, пропозиції виробництву, список використаних джерел літератури, додатки. Список використаних літературних джерел нараховує 241 роботу. Дисертація ілюстрована 14 рисунками, містить 28 таблиць та 3 додатки. Додатки містять акти виробничих випробувань у дослідному господарстві та акти впровадження в освітній процес закладів вищої освіти.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Мастит корів як актуальна проблема сучасного молочного скотарства

Мастит у корів і досі залишається однією з найпоширеніших і найважливіших патологій у молочному скотарстві, незважаючи на значний прогрес у розвитку ветеринарної медицини, селекційних програм та технологій утримання тварин. Це захворювання характеризується складною та динамічною природою, а його клінічні й епізоотологічні прояви змінюються під впливом інтенсифікації молочного виробництва, підвищення генетичного потенціалу продуктивності та зростання функціонального навантаження на організм корів. [9, 18, 37, 140, 189].

За даними багаторічних досліджень у країнах Європи, Північної Америки та Азії в молочних стадах клінічні та субклінічні форми маститу реєструються у 20-60% корів. При цьому субклінічний мастит значно переважає за поширеністю та часто залишається не діагностованим, що створює передумови для його тривалого перебігу та поширення в стаді. На кожен клінічно виявлений випадок маститу припадає біля 3-5 випадків з субклінічним перебігом. У високопродуктивних корів інтрамаммарні інфекції (ІМІ) найчастіше розвиваються у критичні періоди лактації – після отелення та на піку молочної продуктивності, що зумовлено імунодепресією та значним метаболічним навантаженням на організм у цей час [22, 75, 110].

В Україні мастит також має високу поширеність і стабільну тенденцію до зростання, особливо в господарствах з інтенсивною технологією виробництва молока. Частота субклінічного маститу в окремих регіонах України досягає до 40%, що свідчить про недостатню ефективність існуючих систем профілактики захворювань молочної залози корів [5, 18, 43]. Дане захворювання вважається основною причиною економічних збитків у молочному скотарстві. Поширення маститу зумовлює як прямі економічні втрати, пов'язані зі зниженням молочної

продуктивності, вимушеним вилученням молока на період терапії та витратами на ветеринарні заходи, так і непрямі – у вигляді погіршення репродуктивних показників, скорочення тривалості господарського використання тварин і передчасного вибуття корів зі стада [59, 191].

Зниження молочної продуктивності корів при маститі може становити 10-30%, а за хронічного перебігу взагалі мати незворотний характер. Щорічно дане захворювання коштує світовій молочній промисловості від \$19,7 до \$32 мільярдів доларів. Тільки в США оцінка втрат складає до \$2 мільярдів доларів. За оцінками дослідників, середні економічні втрати, пов'язані з клінічним маститом, можуть становити від 128 до 444 доларів США на один випадок захворювання. Крім того, у господарствах із високим рівнем поширення маститу загальні втрати можуть досягати 61-97 євро на корову на рік, а в окремих стадах варіювати від 17 до 198 євро залежно від системи управління стадом, рівня КСК у молоці та ефективності профілактичних заходів [118, 188, 224].

За даними оглядової роботи Ruegg (2017) підвищення кількості соматичних клітин у молоці, який вважається головним індикатором СКМ, безпосередньо пов'язане зі зниженням молочної продуктивності. Зокрема, подвоєння КСК на 50 тис.кл./мл) супроводжується зменшенням надоїв молока за лактацію приблизно на 91 кг у первісток і на 181 кг у корів старших лактацій [189]. Незворотне погіршення якості молока, що характерне для таких випадків, безпосередньо зумовлює зниження його закупівельної ціни.

Патологія вим'я супроводжується істотними змінами хімічного складу молока. Зменшується вміст жиру, білка та лактози, підвищується активність ферментів і КСК, що сумарно погіршує його технологічні властивості. Крім того, мастит негативно впливає на безпечність молочної продукції, оскільки асоціюється з підвищеним бактеріальним обсіменінням і можливим потраплянням залишків антимікробних препаратів у молоко [32, 135, 153].

Сучасна ветеринарна медицина розглядає мастит як комплексну системну патологію, що має багатофакторний вплив на організм корів, а не тільки як локальний запальний процес у вим'я. Захворювання супроводжується змінами

загального клінічного стану тварин, порушенням імунної реактивності, зниженням продуктивності та скороченням продуктивного довголіття. Крім того, мастит часто пов'язаний із метаболічними порушеннями та іншими післяродовими захворюваннями, що ускладнює перебіг лактації й негативно позначається на відтворювальних показниках стада [28, 59].

Особливого значення мастит набуває в контексті біобезпеки молочних господарств. НМС наголошує, що контроль маститу є ключовим елементом цієї системи, оскільки захворювання сприяє циркуляції збудників у стаді та підвищує ризик контамінації молока патогенними мікроорганізмами. Без ефективного менеджменту ферми і контролю маститу неможливо забезпечити стабільну якість та безпечність молочної продукції [185].

В Україні значення маститу у системі біобезпеки посилюється вимогами чинного законодавства щодо якості молока. Відповідно до наказу Мінагрополітики України № 118, молоко від корів, хворих на мастит, не повинно допускатися до харчового використання, що підвищує економічні втрати господарств [24].

Мастит корів це комплексна проблема молочного скотарства, що охоплює клінічні прояви, економічні збитки, виробничо-технологічні процеси та аспекти біобезпеки. Ефективне подолання цього захворювання вимагає комплексного системного підходу, який передбачає інтеграцію індивідуально-генетичних і фізіологічних характеристик тварин, специфіки умов їх утримання, рівня ветеринарного забезпечення та впровадження сучасних методів профілактики й моніторингу продуктивності.

## **1.2. Етіологія та патогенез маститу у корів**

Мастит визначається як запалення молочної залози, яке може бути викликане фізичними або хімічними чинниками, але більшість причин є інфекційними і, як правило, викликаються бактеріями, які проникають у вим'я, розмножуються і продукують шкідливі для молочної залози токсини. Етіологічними агентами маститу є переважно бактерії, особливо стафілококи та

стрептококи, а також мікоплазми, грибки, водорості, найпростіші та віруси. Запалення також може розвинутися при фізичній травмі вим'я, контакті з подразнювальними хімічними речовинами, які викликають імунну відповідь, або будь-якому фізіологічному пошкодженні [13, 19, 121, 122, 170, 172, 210, 234].

Як повідомляє Національна рада з маститу, на сьогодні ідентифіковано близько 200 мікроорганізмів, здатних викликати мастит у великої рогатої худоби. Водночас у практиці молочного скотарства регулярно виділяється обмежена кількість видів збудників, які мають найбільше епізоотологічне значення. Склад і структура мікробних асоціацій при маститі характеризуються значною варіабельністю та визначаються умовами ведення господарства, рівнем дотримання гігієнічних стандартів, сезонними чинниками й системою утримання тварин. У зв'язку з цим особливої актуальності набуває систематичний моніторинг етіологічних агентів, який є необхідною науково обґрунтованою передумовою для розробки та впровадження ефективних заходів профілактики і контролю маститу [71, 134, 163].

Традиційно збудники поділяють на контагіозні – ті, що передаються між тваринами під час доїння, та екологічні – ті, що походять із середовища утримання тварин. Серед контагіозних бактерій найчастіше виділяються *Staphylococcus aureus*, грампозитивний кок, що утворює біоплівки, уникає імунної відповіді господаря та може спричиняти стійкі й хронічні форми маститу. *Streptococcus agalactiae*, переважно викликає субклінічні інфекції з високими показниками КСК. Клінічними проявами запального процесу в молочній залозі корів є набряк, болючість і зміна характеру молочного секрету, тоді як підвищення кількості соматичних клітин у молоці розглядають як основний лабораторний маркер запалення [25, 190, 201, 224, 231].

Мастит спричинений екзогенними (навколишніми) патогенами (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus uberis* або *Enterococci spp.*), пов'язаними з умовами утримання тварин (ґрунт, вода, підстилка), зазвичай має гострий перебіг і в більшості випадків швидко елімінується імунною системою господаря. Але при зниженні резистентності організму корів, в поєднанні з поганими

умовами гігієни й високою бактеріальною контамінацією середовища, вони здатні викликати досить важкі клінічні форми маститу [84, 86, 111, 131, 171].

У вітчизняних дослідженнях сапрофітні та патогенні коки родів *Staphylococcus* і *Streptococcus* визначалися у значної частки корів із субклінічним і клінічним маститом, тоді як *E. coli* виділялася рідше, але все ж становила суттєву частину етіологічної структури захворювання. Крім того, такі збудники, як *Yersinia*, *Mycoplasma bovis* та інші, можуть також виявлятися в молоці корів із маститом, але їхня роль у патології вим'я менш вагома [2, 19, 21, 37].

Мастит – це переважно бактеріальна інфекція. Однак запальні процеси в молочній залозі можуть спричиняти також віруси, грибки, дріжджоподібні мікроорганізми та водорості (за умови змішаної або дуже рідкісної етіології). Мікозний мастит корів спричинюють еукаріотичні мікроорганізми, до яких належать, як дріжджоподібні гриби (*Candida* spp., *Saccharomyces* spp.), так і рідкісні плісняві форми (*Aspergillus* spp.). За результатами клінічного обстеження корів та лабораторної діагностики секрету молочної залози встановлено, що одним з етіологічних чинників розвитку маститу є гриб *Candida albicans*, частота якого становить 12,5% випадків захворювань [17].

Дріжджоподібні мікроорганізми є підкласом грибів і ростуть у вигляді одноклітинних структур, здатних швидко розмножуватися бінарним поділом, тому практично у ветеринарії під «грибковим маститом» зазвичай мають на увазі дріжджовий мастит, хоча термін «грибок» ширший і включає й інші рідкісні збудники [52]. Вони рідко виступають первинною причиною захворювання. Однак при наявності порушень санітарно-гігієнічних вимог під час доїння, регулярного механічного подразнення або ушкодження тканин вим'я, а також у разі неконтрольованого чи багаторазового застосування антибактеріальних препаратів, у стаді можливе виникнення маститу, етіологічно пов'язаного з представниками родів *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* та *Trichosporon* [220].

У патогенезі маститу домінують бактерії, які за сприятливих умов проникають у молочну залозу через дійковий канал, який у здорових тварин виконує функцію бар'єру завдяки кератиновим коркам та фізіологічним

механізмам очищення. Патогенні мікроорганізми можуть продукувати певні фактори вірулентності, що сприяють подоланню фізіологічних захисних бар'єрів тканин молочної залози та подальшій колонізації епітелію вим'я, що є ключовим етапом у патогенезі інфекційних форм маститу. Пошкодження шкіри дійок, мікротріщини, рефлюкс молока під час доїння та ослаблення місцевого імунітету, наприклад, у період стресу чи після отелення, сприяють цьому процесу. Потрапивши в протоки молочної залози, бактерії адгезуються до епітеліальних клітин, проникають у протоки та викликають локальну реакцію імунних клітин, що ініціює запальний процес. Останні дослідження також вказують на можливу важливість системних чинників хазяїна, таких як зміни мікробіому рубця та загальний імунний статус, що можуть модулювати реакцію на інфекцію та підвищувати ризик проникнення збудників у тканини молочної залози [4, 145, 150, 171].

Вроджений імунітет є першою лінією захисту організму, забезпечуючи швидке розпізнавання та реагування на патогени. Його функціонування включає три основні стадії: розпізнавання патоген-асоційованих молекулярних структур (PAMP), активацію імунних клітин із подальшим вивільненням медіаторів запалення та ефекторну фазу, під час якої фагоцити й природні клітини-кілери (NK) знищують патогени. Ключову роль у розпізнаванні патогенів відіграють рецептори розпізнавання образів (PRR), зокрема Toll-подібні рецептори (TLR), NOD-подібні рецептори (NLR) та RIG-I-подібні рецептори (RLR).

У великої рогатої худоби ідентифіковано десять функціональних TLR (TLR1 - TLR10), які виявляються у макрофагах, дендритних та епітеліальних клітинах, виявляючи бактеріальні, вірусні та паразитарні компоненти, які еволюціонували для розпізнавання специфічних PAMP. NOD-подібні рецептори здійснюють внутрішньоклітинне розпізнавання патогенів і беруть участь у формуванні протеїнового комплексу (інфламасом), що ініціює каспазу-1, тоді як RLR розпізнають вірусну РНК у цитоплазмі та ініціюють противірусні реакції. Інфламасоми, зокрема NLRP3 та AIM2, відіграють важливу роль у розвитку запальної відповіді, активуючи каспазу-1 і стимулюючи секрецію прозапальних

цитокінів IL-1 $\beta$  та IL-18 [119, 123, 127].

Важливими гуморальними компонентами вродженого імунітету є білки гострої фази, зокрема гаптоглобін, сироватковий амілоїд А, фібриноген, С-реактивний білок і  $\alpha 1$ -кислий глікопротеїн, які синтезуються переважно в печінці під час інфекції та сприяють опсонізації патогенів, активації комплементу і регуляції запальної реакції. Регуляція імунних процесів також здійснюється цитокінами: прозапальні медіатори (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IFN- $\gamma$ ) сприяють елімінації патогенів, тоді як протизапальні цитокіни (IL-10, TGF- $\beta$ ) підтримують імунний гомеостаз. Клітинні компоненти цієї системи представлені нейтрофілами, макрофагами, дендритними клітинами, природними клітинами-кілерами,  $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитами та іншими гранулоцитами, які діють узгоджено для забезпечення швидкого неспецифічного захисту. Водночас епітеліальні клітини, що формують бар'єри дихальних шляхів, шлунково-кишкового та уrogenітального трактів, не лише виконують фізичну захисну функцію, а й беруть участь у вродженому імунітеті, секретуючи антимікробні пептиди та дефензини. Ефективність вродженої імунної відповіді у великої рогатої худоби варіює залежно від генетичних особливостей, віку, рівня годівлі та впливу стресових факторів довкілля. Ці відмінності визначають сприйнятливість тварин до інфекційних захворювань, зокрема маститу, і пов'язані з варіаціями цитокінових відповідей на різні PAMP [140, 145, 181, 223].

Порушення імунної відповіді організму на інфекційні агенти, що уражають молочну залозу, є одним із провідних патогенетичних чинників розвитку маститу. На початкових етапах інфікування позаклітинними бактеріями захисна реакція організму реалізується переважно через механізми вродженого імунітету. Одним із ключових процесів є активація системи комплементу, що спричиняє розвиток запальної реакції та може призводити до лізису грамнегативних бактерій. Фагоцитарні клітини розпізнають бактеріальні структури PAMP за участю TLR, унаслідок чого відбувається їх активація та синтез прозапальних цитокінів, зокрема IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 і IL-12. Ці медіатори забезпечують міграцію лейкоцитів до осередку інфекції, посилюють локальне

запалення та стимулюють активність природних клітин-кілерів. На пізніших етапах елімінація позаклітинних бактерій значною мірою забезпечується гуморальною ланкою імунітету. Антитіла, переважно класу IgG, зв'язують бактерії та їх токсини, перешкоджають адгезії мікроорганізмів до тканин хазяїна і водночас полегшують їх фагоцитоз [61, 132, 208].

Запальні зміни тканин молочної залози можуть проявлятися локалізовано, якщо патологічний процес обмежується однією або кількома частками вим'я без суттєвого порушення загального стану тварини, або системно, що спостерігається при прогресуванні інфекції та надходженні бактеріальних токсинів у кровообіг. При цьому спостерігається інтоксикація, лихоманка, порушення фізіологічних і метаболічних функцій зі зниженням молоковіддачі. Тривалість і тяжкість запального процесу визначаються сукупністю етіологічних і патогенетичних факторів, серед яких ключове значення має вірулентність патогену, зокрема його здатність до адгезії, інвазії та продукування токсичних метаболітів, а також стан імунної системи тварини, включаючи компоненти клітинної і гуморальної відповіді. За відсутності своєчасного та адекватного лікування патологічний процес набуває затяжного характеру і може переходити у хронічну форму [240].

Мастит у молочних корів становить серйозну загрозу для добробуту тварин [237]. Розглянемо декілька аспектів таких загроз.

Фізіологічний стан корів і рівень імунного захисту значною мірою визначаються якістю годівлі та збалансованістю раціону за основними поживними, мінеральними й біологічно активними речовинами. Повноцінне живлення забезпечує оптимальний перебіг обмінних процесів, підтримує функціональну активність імунної системи та збереження гомеостазу в період лактації, що супроводжується підвищеним метаболічним навантаженням.

Дефіцит протеїну, вітамінів і мікроелементів істотно порушує обмінні процеси в організмі корів, що проявляється зниженням синтезу імуноглобулінів, пригніченням фагоцитарної активності клітин та ослабленням антиоксидантного захисту. Унаслідок цього знижується природна резистентність організму та

підвищується його сприйнятливість до інфекційних і запальних процесів. Зокрема встановлено, що вітаміни А, D, Е, а також мікроелементи селен, цинк і мідь відіграють ключову роль у забезпеченні нормального функціонування організму корови в цілому, включаючи регуляцію обміну речовин, роботу гормональної та репродуктивної систем, а також здатність організму адаптуватися до стресу. Дефіцит зазначених нутрієнтів зумовлює розвиток системних порушень у крові корів, активацію запальних реакцій та дисфункцію основних фізіологічних систем організму [180, 239, 240].

Наступний фактор, що впливає на ризик виникнення маститу, пов'язаний із технологією доїння та рівнем гігієни молочної залози. Миття вим'я, дезінфекція доїльного обладнання значно знижує бактеріальне забруднення дійок та ризик передачі інфекції. Недотримання цих процедур асоціюється з високою частотою субклінічних та клінічних форм маститу [16, 38].

Безпосередній вплив на частоту маститу мають умови утримання тварин. Забруднені та вологі підстилки, переповненість приміщень, недостатня вентиляція та поганий мікроклімат створюють сприятливі умови для розмноження патогенних бактерій і контакту їх із вим'ям. Брудні підстилки та висока вологість підвищують бактеріальне навантаження на дійки, що є фактором ризику внутрішньо-судинних інфекцій [31, 166].

Вагомий фактор ризику – мікроклімат у приміщенні ферми, який визначається температурою та вологістю, і від балансу яких залежить тепловий режим. Перепади температури та висока вологість можуть спричинити тепловий стрес і зниження місцевого імунітету. Особливо це небезпечно влітку через інтенсивне розмноження бактерій у повітрі та підстилці. Стресові фактори, зокрема транспортування, зміна раціону й висока щільність худоби, негативно впливають на імунітет і підвищують ризик маститу. Тривалий вплив стресових факторів може викликати порушення метаболічних процесів і пригнічення функціональної активності нейтрофілів та моноцитів, що веде до зниження ефективності імунного захисту тканин, включно з тканинами вим'я [87, 170, 187].

### 1.3. Клініко-морфологічні особливості різних форм маститу

Перебіг захворювання молочної залози корів змінюється від безсимптомного субклінічного до тяжких системних форм, що вимагають диференційованого підходу до діагностики, лікування та профілактики. Сучасна класифікація маститу базується на клінічних проявах, тривалості захворювання та перебігу запального процесу у вим'я [12, 49, 84, 204].

Клінічний мастит, який характеризується видимими зовнішніми ознаками запалення молочної залози, таких як: набряк, локально підвищеною температурою, болючістю при пальпації, змінами секрету (гнійні включення, слизові та водянисті домішки), зниженням надоїв та, за тяжких форм, системними проявами. Залежно від характеру запального процесу клінічний мастит поділяють на серозний, катаральний, фіброзний, гнійний і геморагічний. Тривалість перебігу маститу може варіюватися від кількох днів (гостра форма – до 10 днів) до кількох тижнів (підгостра – до 3 тижнів), а також тривати місяцями (хронічна форма понад 3 тижні й до кількох місяців).

Серозна форма маститу виникає внаслідок механічного ушкодження дійок вим'я або порушення техніки доїння, зокрема в післяотельний період, і клінічно проявляється збільшенням однієї чи двох часток вим'я, локальним підвищенням температури, болючістю при пальпації, гіперемією молочної залози, зниженням молочної продуктивності на 10-30%, а на пізніх стадіях – зміною кольору та консистенції молока з появою казеїнових пластівців і згустків. Катаральна форма маститу, що частіше спостерігається у молодих корів, характеризується ураженням молочних ходів, протоків і альвеол молочної залози та зазвичай розвивається після механічної травматизації дійок із подальшим інфікуванням патогенною мікрофлорою, що супроводжується потовщенням і закупорюванням дійки сирнистим ексудатом, болючістю при пальпації, наявністю флюктуації в ділянці її основи, рідкою консистенцією молока та зміною його забарвлення на синюватий або жовтуватий відтінок. Фіброзна форма маститу має стрімкий перебіг і часто є ускладненням катарального маститу або супутніх запальних

процесів, зокрема ендометриту чи гнійного перикардиту, та характеризується відкладенням фібрину в просвіті альвеол і молочних протоків, іноді з домішками крові в молоці. Гнійний мастит перебігає у гнійно-катаральній, флегмонозній або абсцедуючій формах, тоді як геморагічний мастит відзначається множинними крововиливами в тканинах молочної залози, альвеолах і молочних протоках та наявністю геморагічного ексудату [5, 23, 30].

Субклінічний мастит, який протікає без зовнішніх проявів; виявляється лише лабораторно (підвищеним числом соматичних клітин у молоці, змінами його фізико-хімічних властивостей) та тенденцією до зниження продуктивності, що робить цю форму найпоширенішою у сучасних стадах [19, 22, 38]. За даними Горюк та ін. (2018) на молочних фермах західного регіону показники поширеності субклінічного перебігу в лактаційний період склали  $24,6 \pm 2,5\%$ , а в сухостійний –  $38,5 \pm 3,8\%$  ( $P \leq 0,01$  – відносно до лактаційного періоду). В найбільш неблагополучному центральному регіоні цей показник складав  $42,9\%$  [8, 43].

Хронічний мастит – це тривале запалення вим'я, яке може продовжуватися місяцями з періодами загострення та ремісії. За цей період молочна залоза зазнає структурних змін, які включають фіброз (заміну нормальної тканини сполучною) та атрофію секреторних альвеол, що супроводжується тривалим зниженням молочної продуктивності та утворенням біоплівок [9, 37, 95, 209].

Дані з літературних джерел про поширення різних форм клінічного маститу суттєво відрізняються за регіонами дослідження. Так у Хмельницькій області випадки різних форм клінічного маститу мали наступний розподіл: серозна форма –  $39,8\%$  випадків, катаральна –  $52,7\%$ , гнійно-катаральна –  $1,4\%$ , фібринозна –  $5,2\%$ . Максимальний рівень захворюваності спостерігався навесні –  $18,3\%$ , взимку –  $11,1\%$  та восени –  $16,4\%$  [40]. На сході країни в різних районах Сумської області клінічна форма визначалася в межах  $18,7-36,3\%$ , субклінічна –  $36,5-81,7\%$  [46].

Перебіг маститу у корів значно залежить від їхнього фізіологічного стану, лактаційної стадії, віку та продуктивності. У ранній лактації та в період переходу до лактації (до і після отелення) відбуваються гормональні та метаболічні зміни, які ослаблюють місцевий імунітет вим'я і підвищують ризик виникнення

мастити, особливо субклінічних форм. Сухостійний період також є критичним; під час запуску молочної залози порушується бар'єрна функція дійкового каналу, що сприяє проникненню патогенів навіть у відсутність лактації [5].

Корови першої лактації та високопродуктивні тварини схильні до більш частого розвитку маститу через підвищений метаболічний стрес і високу інтенсивність молоковіддачі, що зменшує ефективність імунної відповіді. Також метаболічні порушення (кетоз, негативний енергетичний баланс) підвищують запальний фон організму й ослаблюють резистентність корів до інфекцій, включно до маститу [26].

Важливим критерієм запалення вим'я є КСК у молоці. Дослідження соматичних клітин показали, що при СКМ відбувається значна зміна експресії генів, пов'язаних з імунною відповіддю, що дозволяє диференціювати цю форму від клінічної, ще до появи явних симптомів. Залежно від кількості соматичних клітин у 1 мл молока умовно визначають рівень інфікованості молочної залози, зокрема: до 250 тис. – корова вважається практично здоровою; 250-400 тис. – можлива обмежена інфікованість вим'я; 400-750 тис. – висока ймовірність інфекції; понад 700 тис. – дуже висока ймовірність інфікування. Показник соматичних клітин у межах 300-800 тис./см<sup>3</sup> у 1 мл молока з однієї частки вим'я свідчить про наявність субклінічного маститу [15].

Показники інтерлейкінів (наприклад, ІЛ-6) у молоці й сироватці також значно корелюють із ступенем запалення та різними формами маститу, що відкриває перспективи для ранньої діагностики [29].

Оглядом дослідження останніх років акцентують увагу на необхідності комплексної оцінки маститу із врахуванням молекулярних, клітинних та клінічних маркерів, що дозволяє точно відрізнити субклінічними, клінічні та хронічні форми його перебігу та обґрунтувати оптимальні профілактику і стратегію боротьби з ІМІ. За умов інтенсивного молочного виробництва необхідно інтегрувати результатів останніх досліджень щодо імунного статусу, метаболічних показників і поведінкових факторів для створенні моделей прогнозу ризику маститу для молочної худоби [34, 193].

#### 1.4. Імунологічні механізми захисту молочної залози

Ефективний захист молочної залози від інфекцій забезпечується взаємодією місцевого та системного імунітету, що включає клітинні й гуморальні механізми. Імунна відповідь забезпечує розпізнавання патогенів і нейтралізацію їх токсинів, обмежуючи розвиток клінічного та хронічного маститу. Ключову роль у цих процесах відіграють нейтрофіли, макрофаги та цитокінові сигнальні шляхи, які регулюють запальну реакцію та елімінацію бактерій. Важливе значення мають також генетичні особливості тварин, зокрема варіації у генах імунної системи, що впливають на рівень резистентності до маститу. Сукупність бар'єрних механізмів молочної залози, імунної відповіді та генетичних факторів формує багаторівневу систему захисту від інфекційних агентів [67, 208].

Як багатофакторне захворювання – мастит виникає внаслідок впливу технологічних та екологічних чинників і проявляється запальною реакцією молочної залози з фізичними, хімічними та бактеріологічними змінами при ослабленні природних захисних механізмів.

Вроджена імунна відповідь є неспецифічною і не формує імунологічної пам'яті, тобто вона не здатна повторно розпізнати той самий патоген при наступному контакті. Якщо вроджені механізми не забезпечують елімінацію інфекційних агентів, активується адаптивна імунна система, яка розвивається протягом 2-3 тижнів, є високоспецифічною та здатна забезпечити тривалий захист. При масивній інфекції або проникненні патогенів у глибокі тканини вим'я локальний імунітет включає епітеліальні бар'єри, слизову секрецію та діяльність нейтрофілів, макрофагів і Т-лімфоцитів, що швидко реагують на вторгнення мікроорганізмів. Системний імунітет забезпечує активацію циркулюючих нейтрофілів, моноцитів і лімфоцитів, секрецію прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) та участь комплекменту у фагоцитозі й лізисі бактерій. Координація місцевих та системних реакцій дозволяє швидко обмежити інфекцію та мінімізувати ушкодження тканин [70, 86, 178, 200].

Молекулярні деталі обробки та презентації антигенів молекулами МНС

класу I та класу II ретельно вивчаються понад три десятиліття. Хоча основні принципи цих процесів ретельно досліджено, за останні роки виявлено багато деталей, які надали нове розуміння їх контролю та специфічності.

Білки ГКГ реалізують низку біохімічних механізмів, що забезпечують зв'язування антигенних пептидів та їх ефективну презентацію клітинам імунної системи. Молекули МНС I великої рогатої худоби презентують ендogenous антигени цитотоксичним Т-клітинам CD8+, тоді як МНС-II презентує позаклітинні пептиди (включаючи патогени) Т-клітинам-хелперам CD4+ [164, 177]. Такий поділ гарантує, що імунна відповідь відповідає кожному патогену. Обидва класи комплексу мають велику мінливість і є високо полігенними, тобто існує декілька варіантів, кодованих різними поліморфними генами. Фактично, генетична мінливість генів BoLA великої рогатої худоби сприяє індивідуальним та породним відмінностям у сприйнятливості до захворювань та імунній відповіді у різних порід великої рогатої худоби. Наприклад, ген BoLA-DRB3, частина МНС II, дуже різноманітний у голштинської худоби і симентальської худоби. Нещодавнє дослідження, проведене на 15 популяціях великої рогатої худоби, виявило селективні зачистки в ключових регіонах МНС, включаючи BoLA, BoLA-NC1, MIC1, CD244 та GJA5, що свідчить про те, що відбір сформував різноманітність та функцію генів МНС у різних видів великої рогатої худоби, потенційно впливаючи на породоспецифічну імунну відповідь [196].

Першою лінією захисту молочної залази є сосковий канал, який формує фізичний бар'єр та містить антимікробні речовини (рис.1.1). Кератин каналу, що складається з жирних кислот і фібрилярних білків, забезпечує неспецифічний захист, модифікуючи клітинні стінки патогенів та підвищуючи їх чутливість до осмотичного тиску. Додаткову роль відіграють лізоцим, лактоферин і лактопероксидаза, які належать до неспецифічних гуморальних факторів.

Вроджені механізми захисту підтримуються ендотеліальними клітинами та оксиліпідами, що регулюють мікроциркуляцію. Серед клітинних елементів провідне значення мають нейтрофіли, макрофаги та дендритні клітини, здатні до фагоцитозу, продукції цитокінів і презентації антигенів.

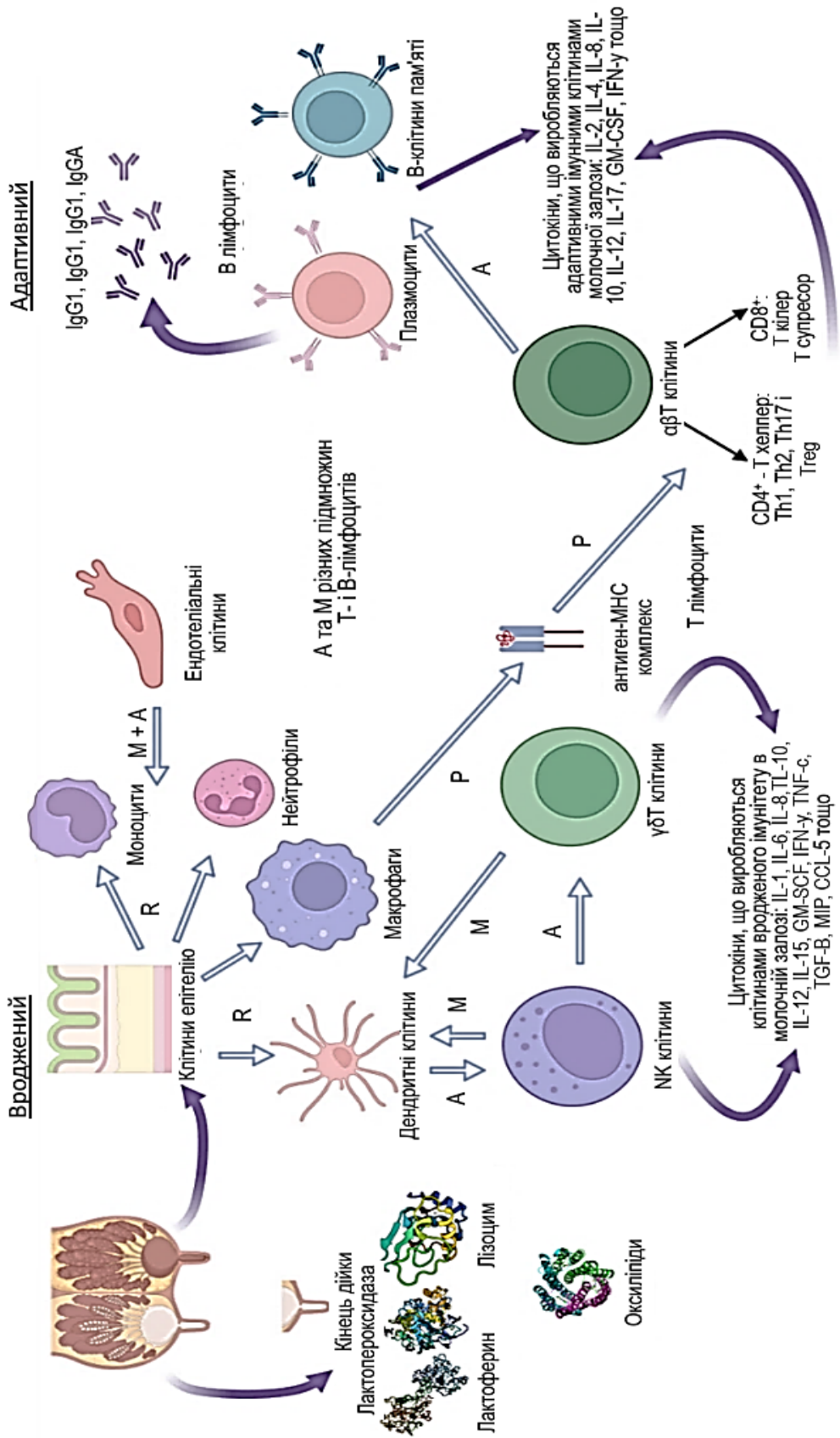


Рис. 1.1. Вроджені та адаптивні захисні механізми молочної залози. Пояснення: А – активація, М – міграція, Р – презентація, R – розпізнавання [209] (український варіант адаптовано автором)

Нейтрофіли розглядаються як головні ефektorні клітини в імунному захисті молочної залози, оскільки вони першими мігрують у вогнище інфекції та здійснюють фагоцитоз, продукують активні форми кисню й цитокини, що

забезпечує швидку елімінацію мікробної інвазії у вим'я [78, 107].

Наступний рівень захисту забезпечується специфічним клітинним та гуморальним імунітетом, який реалізується через вивільнення антитіл та активацію Т- і В-лімфоцитів. Лімфоцити утворюють цитокіни, зокрема інтерлейкіни (IL), фактор некрозу пухлини-альфа (TNF- $\alpha$ ) та ейкозаноїди, а відмінності у швидкості та рівнях їх синтезу зумовлюють різновиди перебігу запального процесу [182, 224].

Іншими компонентами неспецифічного гуморального імунітету є лізоцим, лактоферин і лактопероксидаза. Вони перешкоджають проникненню та поширенню інфекційних агентів у паренхімі молочної залози. Важливу роль у механізмах вродженого імунного захисту виконують ендотеліальні клітини, які забезпечують регуляцію локального кровотоку в джерелі запалення, координуючи процеси міграції та активації лейкоцитів. Вагоме значення мають оксиліпіди, які беруть участь у регуляції функціонального стану мікроциркуляторного русла [72, 105, 145].

Молочна залоза корів має розвинуту систему імунного захисту, що забезпечує комплексну резистентність до інфекційних агентів. Вона включає фізичні та хімічні бар'єри, які обмежують проникнення патогенів у тканини, місцеві гуморальні фактори, що забезпечують їх нейтралізацію, а також сигнальні молекули, які координують активацію й регуляцію імунної відповіді. Узгоджена взаємодія цих механізмів підтримує стійкість тканин молочної залози до інфекцій, знижує ризик розвитку маститу та забезпечує належну якість і безпечність молока.

### **1.5. Ген BoLA-DRB3 та його роль у формуванні резистентності корів до маститу**

Мастит великої рогатої худоби є багатофакторним захворюванням, у розвитку та перебігу якого поряд із мікробіологічними, технологічними й організаційними чинниками важливу роль відіграє генетично зумовлена

складова імунітету. Сприйнятливість молочних корів до маститу має полігенну природу та формується під впливом комплексу генів, що беруть участь у регуляції імунних і запальних процесів у тканинах молочної залози.

Взаємодія зазначених генетичних факторів зумовлює індивідуальні особливості перебігу захворювання, рівень резистентності організму та характер імунної відповіді тварин [45, 98, 102, 144, 183]. Важливу роль у формуванні імунної реактивності відіграють гени ГКГ великої рогатої худоби, які беруть участь у презентації антигенів та регуляції клітинної імунної відповіді. Поліморфізм генів BoLA асоціюється з особливостями резистентності корів до маститу, що зумовлюється мінливістю імунологічної відповіді на інфекційні агенти.

Складний характер успадкування ознак резистентності до маститу обмежує ефективність традиційних селекційних підходів. Тому особливої актуальності набуває застосування геномних технологій, які дають змогу враховувати поліморфізм генів при оцінці племінної цінності тварин [7].

Результати сучасних досліджень свідчать, що застосування геномної селекції забезпечує підвищення точності відбору та прискорення генетичного прогресу. Її ефективність у молочному скотарстві переконливо підтверджується досвідом Сполучених Штатів Америки, де після впровадження цього підходу зафіксовано дворазове зростання темпів генетичного прогресу [103, 109].

Мастит належить до захворювань із низькою або помірно низькою спадковістю. Генетичну складову ознаки оцінюють за показниками коефіцієнта спадковості ( $h^2$ ) та повторюваності ( $r$ ).

Коефіцієнт спадковості у вузькому розумінні – це показник, що відображає частку фенотипової мінливості ознаки в популяції, зумовлену сумарною дією генів. Він характеризує ту частину мінливості ознаки (наприклад, соматичних клітин, молочної продуктивності чи резистентності до маститу), яка може бути передана нащадкам у процесі генетичного добору. Орієнтовно розрізняють такі рівні: 0-0,1 – низька спадковість; 0,1-0,3 – середня; понад 0,3 – висока, що свідчить про ефективність селекції.

Коефіцієнт повторюваності – це параметр стабільності прояву певної ознаки в однієї тварини при багаторазових вимірюваннях у часі (між лактаціями, сезонами, за різних умов годівлі). Він охоплює, як генетичні чинники, так і постійні екзогенні фактори. Високе значення  $r$  вказує на надійність прогнозування подальших показників після першого вимірювання, низьке – на значний вплив випадкових факторів. Отже,  $h^2$  визначає потенціал передачі ознаки нащадкам, а  $r$  – ступінь її індивідуальної стабільності [151].

Коефіцієнт спадковості для маститу у молочних порід оцінюється на рівні 0,02-0,1, що вказує на значний вплив факторів середовища та умов утримання худоби поряд із генетичними чинниками [200]. За іншими даними досліджень коефіцієнт спадковості для клінічного маститу у ранній лактації становив приблизно 0,085, а для показника КСК – близько 0,07, що свідчить про те, що частина мінливості цих ознак обумовлена генетичними відмінностями тварин, тоді як більша частина залежить від факторів зовнішнього середовища (табл.1.1) [114].

Таблиця 1.1

Генетичні показники спадковості маститу і кількості соматичних клітин

Показник	$h^2$ (коефіцієнт спадковості)	$r$ (коефіцієнт повторюваності)	Джерела
Клінічний мастит (рання лактація)	0,085	0,36-0,5	[50, 114, 230]
SCS	0,05–0,15	0,36-0,53	[86, 101, 174]
DSCC	0,02–0,06	0,36-0,5	[86, 101]

У корів італійської симентальської породи було виявлено низьку спадковість за показниками SCS ( $h^2 = 0,06$ ) та DSCC ( $h^2 = 0,08$ ). Але між ними встановлено помірну генетичну кореляцію на рівні 0,612, що дає додаткову інформацію для оцінки запального статусу та, потенційно, для стратегій розведення, спрямованих на покращення здоров'я вим'я [50].

Подібні дані наводять автори для іспанських корів голштинської породи. Генетичні параметри клінічного маститу та загальна кількість випадків

захворювання за лактацію показали рівень спадковості в межах 0,04-0,05, за високої генетичної кореляції між ними на рівні 0,93. Кореляційний аналіз між кількістю соматичних клітин за лактацію та КМ мав значення 0,85, що вказує на обмежену інформативність середньолактаційного показника щодо визначення інфекції маститу [176].

Під час маститу у молочної худоби спостерігається пригнічення імунітету, що супроводжується збільшенням КСК у молоці. Використання кількості КСК та відповідної шкали соматичних клітин як корельованих ознак у непрямому відборі тварин для підвищення стійкості до маститу показало, що традиційна селекція на стійкість до цього захворювання є складною через низьку спадковість (0,1-0,16) клінічного маститу [127].

Але відносно низьке значення  $h^2$  у поєднанні з помірною повторюваністю вказує на КСК, як придатну ознаку для селекційного добору з метою підвищення резистентності корів до маститу та поліпшення якості молока. Для формування стад із високою резистентністю до маститу генетичні фактори, навіть за відсутності явної переваги, повинні враховуватися у селекційних програмах.

Імунна система може виявляти більшість патогенів, що вражають організм і впливають на його фізіологічні параметри. Представлення оброблених пептидів, отриманих з патогенів, лімфоцитам хазяїна є початковим етапом імунної відповіді, опосередкованої молекулами МНС, розташованими на антигенпрезентуючих клітинах [223]. Серед генетичних детермінант провідне місце посідають гени головного комплексу гістосумісності великої рогатої худоби BoLA (Bovine Leukocyte Antigen), зокрема локус DRB3, який характеризується високим алельним поліморфізмом. Встановлено асоціації окремих алелів цього гена з показниками соматичних клітин у молоці та частотою клінічного маститу, що свідчить про його роль у формуванні ефективності імунної відповіді на інтрамаммарні інфекції. Важливе значення мають також гени вродженого імунітету, рецептори розпізнавання патогенів та регулятори запальної реакції, варіації яких впливають на інтенсивність локального імунного захисту.

Головний комплекс гістосумісності МНС II великої рогатої худоби розташований поблизу центромери ВТА23, а область I класу є дистальною (теломерною) відносно генів Па класу. Положення області III класу було невизначеним і, як повідомлялося, знаходилося далі від області Па, ближче до теломер, але збірка геному ARS-UCD2.0 (2017) визначила, що вона розташована між областями Па та I класу (рис.1.2). Структурно система ВоLA поділяється на три функціональні регіони – ВоLA класу I, класу II та класу III, які відрізняються як за генетичною організацією, так і за функціональними характеристиками.

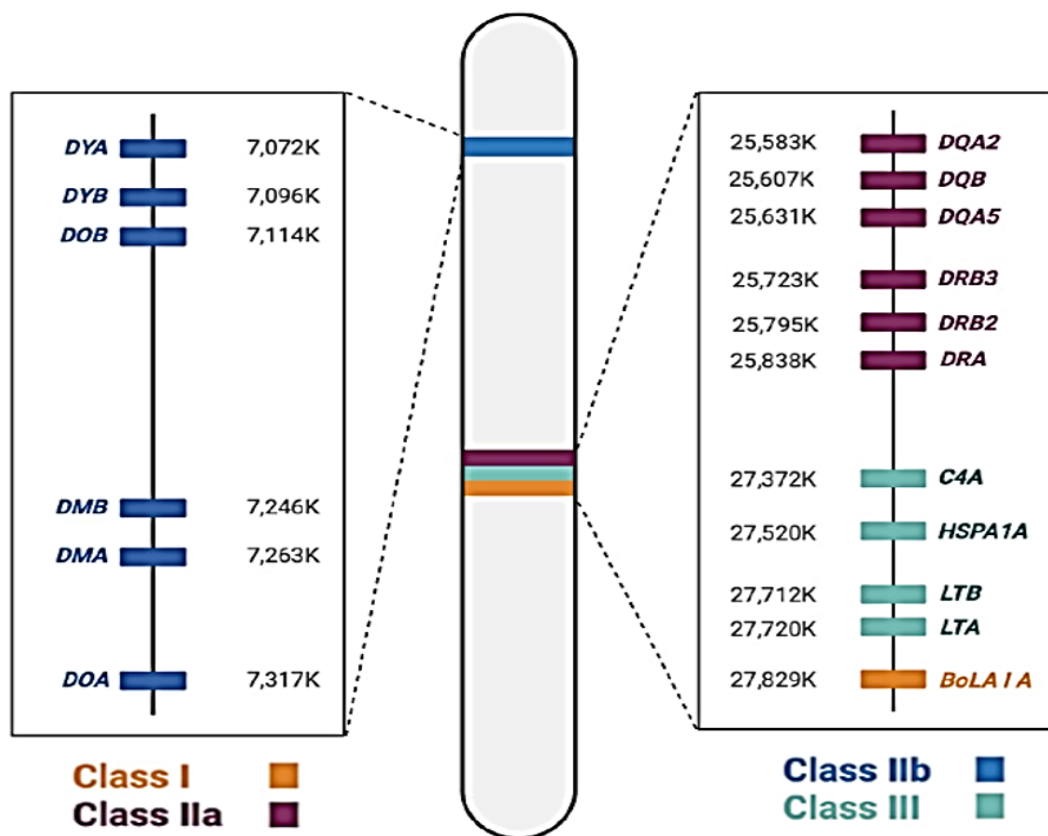


Рис. 1.2. Генетична карта зв'язків головної області комплексу гістосумісності у великої рогатої худоби (Всесвітня організація охорони здоров'я тварин), що демонструє 3 класи ВоLA, на основі Behl et al. [70]

Гени МНС класу I кодують молекули, що експресуються практично на всіх ядромісних клітинах організму і забезпечують презентацію ендогенних пептидів цитотоксичним Т-лімфоцитам CD8<sup>+</sup>. Натомість МНС класу II активуються переважно на антигенпрезентуючих клітинах – макрофагах,

дендритних клітинах та В-лімфоцитах, відповідаючи за презентацію екзогенних антигенів Т-хелперам CD4<sup>+</sup>, що запускає каскад адаптивної імунної відповіді [53, 70, 104, 106, 155, 178, 186].

Регіон *BoLA* у корів містить багато генів важливих для імунітету, які відповідають за обробку антигенів та захист від інфекцій. Він складається з двох підрегіонів: клас *Pa* та клас *Pb* розділених приблизно на 17 сМ (від *DYA* до *DRB3*). Клас *Pb* містить гени, які беруть участь у обробці антигенів (наприклад, *DMA*, *DMB*, *LMP2*, *LMP7* і *TAP*), а також декілька генів з невідомою функцією, а клас *Pa* включає високполіморфні у своїх екзонах гени *DQA*, *DQBI*, *DQB2*, *DRA* та *DRB3*, які експресуються на поверхні клітин і відповідають за взаємодію імунної системи з антигенами.

Усі три відомі гени *DQA* досить сильно різняться між тваринами. Також особливо виділяється ген з найбільшим рівнем поліморфізму – *BoLA-DRB3*. Крім того, кілька генів були віднесені до області III класу *BoLA*, серед них: *HSP70* – білок теплового шоку 70, *CYP2I* – 21p-гідроксилаза, *BF* – фактор В шляху комплементу, *C4* – компонент комплементу, *PRL* – ген пролактину, гени *PRP* кодують протеїни, споріднені пролактину, *TCP1B* – ген t-комплексу, *M* – групи крові [70, 141].

Особливе значення серед генів класу II має локус *BoLA-DRB3*, який кодує β-ланцюг молекули DR. Молекули DR складаються з α- та β-ланцюгів, що формують пептидзв'язувальну борозну, здатну зв'язувати антигенні пептиди, утворені після протеолітичної обробки патогенів у фаголізосомах антигенпрезентуючих клітин.

Більшість поліморфних змін локалізована в екзоні 2. Заміни амінокислот у цій ділянці локусу модифікують просторову структуру борозни, що безпосередньо впливає на здатність молекули МНС зв'язувати певні антигенні пептиди та ініціювати імунну відповідь. Позаклітинна частина пептиду утворює тривимірну структуру пептидзв'язувальної борозни, бічні стінки якої обмежені α-спіралями, а дно β-складчастістю. Саме β-ланцюг, кодований геном *DRB3*, містить більшість поліморфних ділянок, які формують специфічність

зв'язування. Амінокислотна послідовність щілини кодується триплетами екзону 2 гена *BoLA-DRB3* і має високу поліморфність. Ця властивість забезпечує широку варіабельність будови пептидзв'язувальної борозни, як рецептора по відношенню до чужорідних білкових антигенів. Варіації у цих ділянках визначають спектр пептидів, що можуть бути представлені Т-лімфоцитам, і таким чином зумовлюють ефективність імунної відповіді організму на інфекційні агенти [43, 106, 177, 203, 207].

Локус *BoLA* є досить складним і містить близько 154 функціональних генів, які охоплюють близько 4 сМ (рис.1.3)

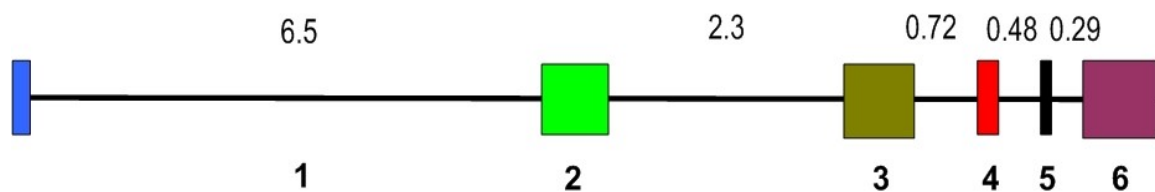


Рис.1.3. Генетична карта локусів регіону *BoLA* класу II на хромосомі BTA23 великої рогатої худоби. Зверху вказані відстані між екзонами в т.п.н. [54]

Структура, організація та оцінка розміру кодуючої області розміром близько 11,4 т.п.н. гена *BoLA-DRB3* досліджувались методами ПЛР, клонування та секвенування.

Субрегіон *BoLA* класу I охоплює область на хромосомі 23 від 770 Кб до 1650 Кб, включаючи класичні гени класу I *BoLA-A* та *BoLA-B* тощо. Цікаво, що субрегіони *BoLA* класу II поділені на окремі області, *IIa* та *IIb*, щонайменше на 15 сМ, що є найпомітнішою особливістю генів МНС великої рогатої худоби та інших жуйних тварин. Регіон *IIa* включає функціональні гени *BoLA* класу II DR та DQ [43, 54, 74, 218].

Початковий екзон (рис.1.4) кодує сигнальний і перші чотири SP-сигнальних пептиди;  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  і  $\beta 2$  – домени 1 і 2 в А і В - генах, відповідно. Екзон 2 кодує близько 90 кодонів  $\beta 1$ . Третій екзон містить 94 кодони  $\beta 2$ , а екзони з четвертого по шостий кодують гідрофобну трансмембранну ділянку (близько 30 кодонів) і цитоплазматичний хвіст довжиною в 10-22 кодонів. Екзон 4 кодує послідовність трансмембранної частини цитоплазматичної області молекули.

Область CY кодує цитоплазматичну частину молекули та амінокислотні залишки першого домену  $\beta_1$ . Інший фрагмент цитоплазматичного хвоста кодується екзонами 5 і 6. Останній екзон завжди містить інформацію про 3'-послідовності, які не транлюються [206].

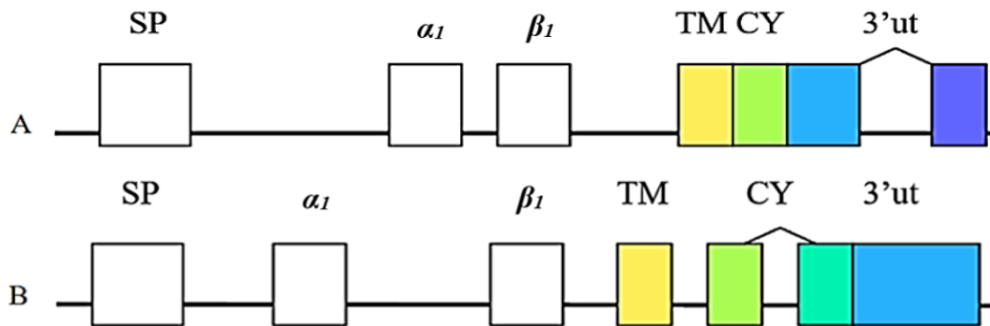


Рис. 1.4. Структура А- і В-генів класу II BoLA-системи: SP-сигнальний пептид;  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$  к  $\beta_2$  - домени 1 и 2 в А і В генах; TM - трансмембранна ділянка; CY - область, що кодує цитоплазматичну частину молекули

Представлення антигенів є критично важливим механізмом формування адаптивної імунної відповіді. Активація Т-хелперних клітин можлива лише при взаємодії з антигенами, представленими молекулами МНС II, що запускає захисні реакції проти патогенів. Всі клітини організму здатні переробляти та презентувати антигени у комплексі з молекулами МНС, сигналізуючи імунній системі про стан клітини – здорової чи інфікованої. Проте лише спеціалізовані антигенпрезентуючі клітини, такі як макрофаги, дендритні та В-клітини, забезпечують ефективну активацію Т-клітин. Вони поглинають патогени шляхом фагоцитозу, переробляють їх у фаголізосомах, обробляють білкові антигени та відбирають найбільш імуногенні епітопи для представлення на молекулах МНС.

Ген BoLA-DRB3 детально вивчений з точки зору його структури та функцій. В останніх дослідженнях максимальна увага приділяється аналізу амінокислотних послідовностей екзона 2 у різних популяціях великої рогатої худоби. Завдяки сучасним методам секвенування отримано точні дані про алельні варіанти, що дозволяє широко їх використовувати в генетичних дослідженнях, зокрема для формування стад резистентного до різних патологій.

Завдяки високому поліморфізму гена BoLA-DRB3 у популяції формуються індивідуальні відмінності здатності організму ефективно розпізнавати антигени патогенних мікроорганізмів. В сучасних дослідженнях імуногенетики великої рогатої худоби локус BoLA-DRB3 розглядається як один із перспективних генів-кандидатів резистентності до маститу. Його генетичний поліморфізм активно використовується у молекулярно-генетичних дослідженнях, спрямованих на виявлення асоціацій між алельними варіантами та показниками здоров'я вим'я, такими як частота клінічних і субклінічних форм маститу, рівень соматичних клітин у молоці, та загальна резистентність стада до інфекційних захворювань. У зв'язку з цим дослідження алельного різноманіття BoLA-DRB3 та його асоціацій із показниками здоров'я молочної залози має важливе значення для розробки сучасних селекційних програм, спрямованих на підвищення стійкості молочної худоби до захворювань [43, 44, 64, 98, 138, 143, 144, 216].

#### **1.6. Поліморфізм алелів гена BoLA-DRB3 і його роль у формуванні резистентності до маститу у молочної худоби**

Тварини навіть за однакового контакту зі збудниками інфекцій можуть істотно відрізнятися за рівнем чутливості до них, що в значній мірі зумовлено, генетичними особливостями організму. Тому важливого значення набуває вивчення природної резистентності сільськогосподарських тварин та генетичних факторів, що її визначають. Сучасний розвиток геноміки ссавців і методів аналізу генетичної варіабельності дав змогу ідентифікувати низку геномних локусів, пов'язаних зі стійкістю або сприйнятливістю до інфекційних захворювань. Особливу увагу в цьому контексті приділяють генам головного комплексу гістосумісності, які відіграють ключову роль у формуванні імунної відповіді [225].

Серед них важливе місце посідає ген BoLA-DRB3, поліморфізм якого пов'язують із резистентністю великої рогатої худоби до ряду інфекційних хвороб та особливостями їх перебігу. Головний комплекс гістосумісності відіграє ключову роль в індукції та регуляції набутої імунної відповіді, що обумовлює

його тісний зв'язок із формуванням стійкості організму до ряду поширених захворювань у молочному скотарстві. Серед них лідером за поширенням і економічними збитками є мастит корів [91, 126, 138, 201, 203].

Участь антигенів головного комплексу гістосумісності у забезпеченні імунної відповіді на чужорідні антигени обумовлює їх численні асоціації з різними захворюваннями. Як повідомлялося раніше, значна роль у цьому належить високо поліморфному екзону 2 гена *BoLA-DRB3*, який кодує  $\beta$ 1-домен антигенів класу II і формує будову пептидзв'язувальної борозни, що зумовлено необхідністю зв'язування широкого спектру чужорідних антигенів. Тому дослідження цього регіону детально вивчаються багатьма вченими. На часі продовжується інтенсивна робота з метою встановлення асоціацій алелів гена *BoLA-DRB3.2* з різними захворюваннями [98].

У науковій літературі наведено численні приклади досліджень, спрямованих на встановлення асоціацій між і схильністю великої рогатої худоби до маститу. Особливе значення мають експерименти на основі методу ПЛР-ПДРФ, проведені на тваринах голштинської породи, які стали класичними у цьому напрямі. Запропоновані методики були використані більшістю наступних дослідників у роботах з аналізу асоціацій між алелями *BoLA-DRB3.2* і розвитком маститу.

Одне із перших і найбільших досліджень в цьому напрямку було виконано в США. Було проведено типування зразків крові та молока від 1100 голштинських корів. В результаті автори вказують на встановлену тісну асоціацією для алеля *BoLA-DRB3\*16* ( $P \leq 0,05$ ) з підвищеним ризиком розвитку захворювання вим'я для корів з гострим проявом ІМІ, яка визначалася рівнем соматичних клітин в молоці. Даний алель було виявлено в генотипі всіх корів з діагнозом гострий мастит, тобто майже у кожному четвертому зразку крові (24,5%). Варіант *DRB3.2\*08* ( $P < 0,04$ ) був тісно пов'язаний з підвищеним SCC у корів першої лактації, а алель *DRB3.2\*23* ( $P < 0,02$ ) – з високим SCC у корів після другої лактації [91].

Sharif та ін. (1998) виконали аналогічне дослідження на канадських фермах. Для виявлення поліморфізму гена *BoLA-DRB3* було залучено 835 корів

голштинської та 66 голів джерсейської порід. В результаті було встановлено тісний зв'язок між алелем BoLA-DRB3.2\*23 ( $P < 0,05$ ) і виникненням важких форм клінічного маститу. В цій же роботі виявлено декілька асоціацій з чутливістю до захворювань (табл.1.2) [203].

Таблиця 1.2

Асоціацій алелів BoLA-DRB3.2 маститом та SCC канадських корів голштинської породи

Алелі	Клінічний мастит	Субклінічний мастит	SCC	Молочниця
*16	-	-	0,05(↑)	0,07(↑)
*22	-	-	-	-
*23	0,027(↓)	0,023(↓)	-	0,08(↑)

Примітка. ↓ - сприйнятливість; ↑ - резистентність

Аналізом зразків крові від 137 племінних голштинських корів університету штату Айова встановлено зв'язок між алелями DRB3.2, маститами, SCC, оцінкою ІМІ з основними або другорядними патогенами та прогнозованою племінною цінністю корів (EBV). Наявність алеля DRB3.2\*16 пов'язана з більш високою племінною цінністю для SCC. Алель DRB3.2\*08 мав сильний і достовірний зв'язок зі збільшенням EBV для клінічних форм маститу, тоді як алелі DRB3.2\*11 і \*23 продемонстрували зниження показника. Позитивний генетичний зв'язок виявлено між алелем DRB3.2\*24 і EBV для основних збудників інтрамамарних інфекцій та DRB3.2\*03 з вірулентними патогенами [126].

Досить ґрунтовна робота була виконана для 523 норвезьких червоних корів. Генотипування локусу DRB3.2 проведено в двох групах, одна з яких стосувалася клінічного маститу. Виявлено, що варіанти BoLA-DRB3.2\*13, \*18, \*22 і \*27 мали значно вищу частоту в групі корів з низьким проявом клінічного маститу, а алелі \*22 і \*26 пов'язані з підвищеною схильністю до клінічних маститів. Алелі \*07, \*11, \*18 і \*24 позитивно впливають на резистентність до запалення вим'я [136].

У дослідженні, проведеному на 328 коровах канадської голштинської породи з дослідного стада University of Guelph, зразки крові та молока

використовували для аналізу асоціацій між експресією алелів гена BoLA-DRB3, показниками імунної відповіді, частотою клінічного маститу та рівнем КСК. Встановлено, що алелі DRB3.2\*03 і \*11 асоціювалися зі зниженими значеннями показника соматичних клітин, тоді як алелі \*22 і 23 мали достовірний зв'язок із їх підвищеним рівнем. При цьому алель DRB3.2\*03 виявив статистично значиму асоціацію з підвищеною резистентністю до маститу та зменшенням кількості соматичних клітин, тоді як алель \*08 характеризувався підвищеним ризиком розвитку захворювання. Водночас у деяких випадках виявлено протилежні зв'язки між алелями DRB3.2 та продуктивними ознаками: зокрема, алелі \*11 і \*23, пов'язані з вищими показниками продуктивності, відповідно корелювали зі зниженим або підвищеним рівнем соматичних клітин. Отримані результати показали доцільність подальших досліджень і використання варіантів BoLA-DRB3.2 \*03, \*22 та \*23 у якості можливих генетичних маркерів для встановлення достовірних зв'язків між маститами та алелями DRB3 локусу [192].

Численні аналогічні дослідження проведено у світі на широкому спектрі порід молочної худоби [149].

Значний розвиток цього напрямку спостерігається в Індії – одному з провідних світових виробників молока, який характеризується значним різноманіттям порід великої рогатої худоби (Sahiwal, Haryana, Gir Kankrej, Ongole, Rathi тощо) та їх генетичним потенціалом. У низці досліджень, проведених на індійських породах великої рогатої худоби (*Bos indicus*), встановлено значний поліморфізм гена BoLA-DRB3, який пов'язаний із резистентністю до маститу та рівнем соматичних клітин у молоці. Зокрема, у корів породи Sahiwal та помісей Karan Fries було виявлено понад 25 алелів цього локусу, частина з яких статистично асоціюється зі схильністю або стійкістю до клінічного маститу. При цьому встановлено, що диференціальна імунна відповідь корів обумовлена переважно генетичним поліморфізмом гена DRB3 [128, 139, 143, 146, 221].

Вагомий внесок у розробці цього напрямку зроблено в країнах Південної Америки. У дослідженні аргентинських голштинських корів (*Bos taurus*,  $n = 123$ ) з регіону Ла Пампа виявлено статистично значущий зв'язок між окремими

алелями BoLA-DRB3.2 і рівнем КСК – алель DRB3.2\*23 асоціювалася з нижчими показниками SCC ( $P < 0,05$ ), тоді як DRB3.2\*27 демонстрував протилежну тенденцію, що вказує на підвищену вразливість до маститу. Варіанти DRB3.2\*20 і \*25 виявили помірну тенденцію до асоціації з високим SCC ( $P < 0,1$ ). Асоціації між алелями локусу BoLA-DRB3 і показниками соматичних клітин або стійкістю до маститу були виявлені в дослідженнях інших молочних популяцій Південної Америки (Creole, Brahman, Braford, Brangus і Nellore) [62, 200].

Серед інших зарубіжних досліджень, присвячених локусу DRB3 та асоціації його алелів із маститом, варто виділити ґрунтовні роботи японських науковців [147, 233, 234, 235].

У серії досліджень вітчизняних порід молочної худоби встановлено, що локус BoLA-DRB3.2 має широкий поліморфізм алелів, деякі з яких мають достовірний зв'язок зі сприйнятливістю або стійкістю до маститу. У популяції УЧРМ виявлено 32 алелі гена BoLA-DRB3.2, серед яких встановлено достовірні асоціації з маститом: алелі \*24 і \*26 – сприйнятливість, та варіанти \*13 і \*22 – стійкістю до захворювання. Для УЧРМ серед 22 типованих алелів ідентифіковані маркери: варіанти \*07 і \*08 пов'язані з чутливістю до маститу, а \*22 і \*24 – з резистентністю. Одним з останніх досліджень, виконаним на зразках крові 97 корів української червоної молочної породи, встановлено генетичні варіанти BoLA-DRB3.2 стійкості (\*24 і \*26) і сприйнятливості (\*28) до маститу [64, 216].

### **1.7. Узагальнення огляду літератури та обґрунтування напрямів власних досліджень**

Мастит корів найбільш поширена патологія у молочному скотарстві, яка спричиняє значні економічні втрати. Збитки від запалення молочної залози зумовлюються зниженням молочної продуктивності, погіршенням якості молока, підвищенням рівня соматичних клітин, вибракуванням хворих корів зі стада, необхідністю застосування комплексу ветеринарних заходів для лікування тощо. Сучасні оцінки показали, що розвиток клінічного маститу може спричинити

скорочення молочної продуктивності на 5-20% протягом лактації. Це еквівалент втрати близько 300-600 кг молока на одну корову залежно від рівня продуктивності стада [71, 189]. За сучасними оцінками, загальні глобальні економічні втрати від основних захворювань молочної худоби становлять близько 65 млрд доларів США на рік, при цьому клінічний та субклінічний мастит належать до найбільш економічно значущих патологій, які сумарно завдають щорічно збитків понад 20 млрд доларів [184]. Крім того, мастит негативно впливає на технологічні властивості молока, знижуючи його придатність для виробництва молочних продуктів.

Поширеність маститу залишається високою у більшості країн світу. Результати останніх метааналізів показали, що субклінічні форми виявляють у 35-45% корів, а клінічний перебіг виникає у 20-25 % тварин протягом лактації [162].

Важливу роль у зниженні поширеності маститу відіграють комплексні програми контролю захворювання. Основою більшості сучасних стратегій є концепція «10 кроків контролю маститу», запропонована фахівцями NMC. На основі цієї концепції у багатьох країнах сформовано національні програми контролю маститу. Особливо ефективними є системи, впроваджені у скандинавських країнах, де поєднуються ветеринарний моніторинг, централізовані бази даних здоров'я тварин і селекційні програми. У результаті середній рівень КСК підтримується на рівні 150-200 тис. клітин/мл, що є одним із найнижчих показників у світі. Подібні програми функціонують у Новій Зеландії та Австралії, де системний контроль здоров'я вим'я дозволив знизити частоту клінічного маститу до 15-20 випадків на 100 корів за лактацію [77, 163, 165, 217, 224].

З огляду на стрімкий розвиток біотехнологій і молекулярної діагностики, підходи до виявлення маститу суттєво еволюціонували. Сучасні технології забезпечують високочутливу та надійну ідентифікацію збудників і біомаркерів запального процесу. Зростання масштабів молочного скотарства зумовлює потребу швидких, точних і альтернативних методах діагностики запалення молочної залози. Особлива увага звертається на інноваційні діагностичні

підходи, які поєднують високу специфічність, чутливість і оперативність отримання результатів. Сучасні методи діагностики маститу характеризуються переходом від традиційних бактеріологічних досліджень до високочутливих молекулярно-генетичних та інструментальних технологій. Широко застосовуються методи *real-time*, які забезпечують швидке та специфічне виявлення збудників. Перспективними напрямками є використання секвенування нового покоління (NGS), MALDI-TOF мас-спектрометрії, біосенсорів та систем на основі штучного інтелекту, що дозволяють підвищити точність і швидкість діагностики ІМІ.

Еволюція ПЛР-методів відбувалася від кінцевої (*endpoint*) детекції продуктів ампліфікації до їх реєстрації в режимі реального часу. На відміну від традиційної ПЛР, яка не забезпечує кількісної оцінки, *real-time* ПЛР дозволяє проводити кількісний аналіз. Подальшим удосконаленням є мультиплексна ПЛР, що дозволяє одночасно детектувати декілька генів в одній реакції, підвищуючи швидкість і економічну ефективність аналізу.

Незважаючи на те, що розробка ПЛР-тестів, здатних повністю замінити або доповнити традиційні бактеріологічні методи діагностики інтрамамарних інфекцій є досить складною із-за значної різноманітності збудників маститу, їх стрімка еволюція зумовлює розширення можливостей застосування молекулярно-генетичних методів у діагностиці цього захворювання [93, 152, 219].

Серед останніх надбань актуальним є використання систем *on-farm culture*, які дають змогу оперативно визначати збудників безпосередньо на фермі. В цьому випадку застосовуються хромогенні поживні середовища, що забезпечує отримання результатів протягом 24 годин і створює передумови для застосування селективної антибіотикотерапії, яка відповідає сучасним підходам до антимікробного контролю [99, 205].

Також виділяються новітні методи діагностики запалення вим'я за допомогою теплових зображень вим'я, отриманих під час фази доїння за допомогою штучної нейронної мережі [194].

Аналіз сучасних літературних джерел свідчить, що діагностика маститу

активно еволюціонує у напрямку використання молекулярно-генетичних, спектрометричних та цифрових технологій. Зокрема крім ПЛР використовують інші сучасні технології досліджень, такі як ELISA, NGS, MALDI-TOF, системи штучного інтелекту тощо [56, 122].

Поряд із технологічними факторами важливу роль у формуванні резистентності корів до маститу відіграють генетичні аспекти. Хоча коефіцієнт спадковості маститу є відносно невисоким і становить 0,05-0,15, генетичні фактори можуть істотно впливати на ефективність імунної відповіді та здатність організму протидіяти інфекційним агентам [37, 124, 200]. Селекційні програми, спрямовані на зниження рівня КСК у молоці дозволили ряду країн підвищити генетичну резистентність молочних стад до маститу.

Ключову роль у формуванні імунної відповіді організму відіграють гени BoLA головного комплексу гістосумісності. Молекули МНС II класу забезпечують представлення антигенів Т-лімфоцитам-хелперам, що запускає клітинні та гуморальні механізми імунного захисту. Поліморфізм генів цього комплексу визначає індивідуальні відмінності у здатності організму розпізнавати антигени патогенних мікроорганізмів, у тому числі збудників маститу.

Особливий інтерес серед генів комплексу BoLA становить локус BoLA-DRB3, який характеризується високим рівнем генетичного поліморфізму. За сучасними даними, описано майже 390 алельних варіантів цього гена, що зумовлює значну варіабельність імунної відповіді у різних тварин [98].

У ряді сучасних досліджень встановлено чіткі асоціації між окремими алелями BoLA-DRB3.2 та показниками здоров'я вим'я у великої рогатої худоби. Деякі алельні варіанти пов'язані зі зниженою сприйнятливістю до маститу та нижчим рівнем КСК у молоці, тоді як інші – з підвищеним ризиком розвитку запального процесу. Так, у корів із алелями, асоційованими зі стійкістю, середній рівень соматичних клітин у молоці може бути на 20-30% нижчим, ніж у тварин із алелями тісно і достовірно пов'язаними зі схильністю до маститу. Це свідчить про безпосередній вплив генетичного поліморфізму алелів BoLA-DRB3.2 на імунну реактивність молочної залози та здатність організму протидіяти

інфекційним агентам, а виявлені асоціації відкривають перспективи використання алельних маркерів у програмах добору та індивідуальних підходах до профілактики та лікування маститу, що дозволяє оптимізувати ветеринарні заходи [146, 237].

Лікування маститу потребує значних матеріальних витрат і включає застосування антибактеріальних препаратів, протизапальних засобів та симптоматичної терапії. За сучасними оцінками, витрати на лікування одного випадку клінічного маститу можуть становити 80-200 доларів США, причому значна частина витрат пов'язана з вимушеним вибракуванням молока під час лікування та періоду очікування після застосування антибіотиків [133].

Все більшого значення набувають підходи, спрямовані на індивідуальну профілактику та лікування маститу. Використання молекулярно-генетичних маркерів, зокрема алельних варіантів гена *BoLA-DRB3.2*, відкриває перспективи для формування персоналізованих стратегій ветеринарного супроводу тварин. Встановлення генетичної схильності корів до маститу дозволяє виділяти групи підвищеного ризику, для яких можуть застосовуватися більш інтенсивні профілактичні заходи, частіший ветеринарний контроль та рання діагностика захворювання [51, 57].

Крім того, генетична інформація може бути використана для оптимізації терапевтичних підходів. Тварини, які мають алелі, асоційовані з підвищеною сприйнятливістю до маститу, можуть потребувати більш раннього застосування антибактеріальної терапії, посиленого контролю за станом вим'я та індивідуальних схем лікування.

Отже, використання генетичних маркерів на базі алелів гена *BoLA-DRB3.2* сприятиме розробці персональних підходів до профілактики та лікування маститу. Поєднання клінічних, патогенетичних і молекулярно-генетичних досліджень дозволяє глибше зрозуміти механізми розвитку цього захворювання та підвищити ефективність ветеринарних заходів.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертаційну роботу виконано у період з 2022 – 2025 р.р. на кафедрі гігієни тварин та ветеринарного забезпечення кінологічної служби Національної поліції України Закладу вищої освіти «Подільський державний університет», в лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН, в лабораторії генетики Інституту розведення і генетики тварин ім. М.В. Зубця НААН та у бактеріологічному відділі Хмельницької регіональної державної лабораторії ветеринарної медицини.

Виробничі дослідження проведено у ТОВ імені Богдана Хмельницького Кам'янець-Подільського району Хмельницької області та племрепродуктора УЧР української червоної молочної породи СТОВ «АФ «Петродолинське» Одеської області. Об'єктом дослідження були корови української чорно-рябої молочної (УЧРМ) та української червоної молочної (УЧМ) породи.

За схемою досліджень передбачались наступні етапи виконання поставлених завдань (рис.2.1).

#### **2.1. Визначення ДНК-маркерів на основі алелів гена BoLA-DRB3 асоційованих з чутливістю до маститу**

Метою першого етапу дослідження було вивчення поліморфізму алельного спектра гена BoLA-DRB3 у корів УЧРМ та УЧМ порід з метою ідентифікації потенційних ДНК-маркерів, асоційованих зі схильністю до маститу. Для цього в дослідних групах хворих корів було відібрано зразки крові від тварин, які на першій лактації, або упродовж трьох наступних неодноразово хворіли клінічним маститом. Паралельно у дослідних групах стійких до маститу корів відібрано проби крові від тварин, у яких упродовж трьох лактацій жодного разу не спостерігалось запалення молочної залози. Кров для дослідження відбирали з хвостової вени у пробірки з антикоагулянтом.



Рис.2.1. Схема дослідження

У результаті проведеного відбору для тестування в СТОВ «АФ «Петродолинське» до основної вибірки було включено 97 корів, із яких у 42 тварин діагностовано мастит. У ТОВ імені Богдана Хмельницького основна вибірка нараховувала 52 голови, з яких у групі хворих було 26 корів.

Ізоляцію геномної ДНК із зразків крові здійснювали з використанням комерційних наборів «Diatom™ DNA Prep 200» (Isogen Laboratory Ltd.) відповідно до протоколів виробника. Вихід ДНК становив 5-10 мкг із 200 мкл цільної крові. Отримані препарати характеризувалися високою молекулярною масою (40-50 тис. п.н.) та задовільною чистотою (співвідношення оптичної

щільності  $OD_{260/280}$  нм в межах 1,6-2,0). Кількісну та якісну оцінку ДНК проводили спектрофотометричним методом і шляхом електрофоретичного аналізу в 1% агарозному гелі. Як контроль використовували 25 – 100 нг ДНК фага  $\lambda$ . Електрофорез здійснювали в TBE-буфері (89 мМ Tris-ОН, 89 мМ  $H_3BO_3$ , 2 мМ EDTA) з додаванням броміду етидію (1 мкг/мл) при напрузі 120 В. Концентрацію ДНК визначали за інтенсивністю флуоресценції смуг у порівнянні з контрольними зразками. Візуалізацію гелів проводили в ультрафіолетовому світлі за допомогою транслюмінатора «UVT» («Biosom») з подальшою фотофіксацією результатів системою «MINITRON».

Алельний поліморфізм гена BoLA-DRB3 (екзон 2) досліджували на основі методу ПЛР-ПДРФ за методикою Van Eijk (van Eijk et al., 1992) [43, 229]. Для ампліфікації екзону 2 гена BoLA-DRB3 використано готові набори «GenPak™ PCR Core» (Isogen Laboratory Ltd.). Реакційна суміш об'ємом 20 мкл містила 60 мМ Tris-HCl (рН 8,8), 2,5 мМ  $MgCl_2$ , 20 мМ KCl, 15 мМ  $(NH_4)_2SO_4$ , 10 мМ меркаптоетанолу, 0,1% Triton X-100, 0,2 мМ dNTP, 10 од. KlenTaq ДНК-полімерази, 10 пМ кожного праймера та матричну ДНК. Для першого раунду ампліфікації використовували праймери HLO-30 (5'-TCCTCTCTCTGCAGCACATTCC-3') та HLO-31 (5'-ATTCGCGCTCACCTCGCCGCT-3'), для другого – HLO-30 та HLO-32 (5'-TCGCCGCTGCACAGTGAAACTCTC-3'). Продукти першого раунду (2 мкл) використовували як матрицю для другого. Умови першого циклу: денатурація при 95°C (5 хв), далі 10 циклів (94°C – 1 хв; 62,5°C – 2 хв; 72°C – 1 хв) та фінальна елонгація при 72°C (7 хв). Умови другого циклу: денатурація при 95°C (5 хв), далі 35 циклів (68°C – 30 с; 72°C – 30 с) та фінальна елонгація при 72°C (7 хв). Кожний раунд включав контроль контамінації та верифікацію ефективності праймування.

Електрофоретичний аналіз продуктів рестрикції проводили в 9-12% поліакриламідному гелі у вертикальній камері 10-12 годин при напрузі 80V, використовуючи фарбування при допомозі бромистого етидію (0,5 мкг/мл). Фрагменти ДНК візуалізували на транслюмінаторі під УФ-світлом ( $\lambda = 280$  нм).

Для аналізу рестрикції фрагмента екзону 2 гена BoLA-DRB3 використовували

ендонуклеази *RsaI*, *HaeIII* та *BstYI* (*XhoII*) (від Promega, New England BioLabs, США). Фрагменти розділяли у 9-12% агарозному гелі («TopVision™ LE GQ», Fermentas). Візуалізація результатів була представлена у вигляді фореграм (рис.3.1). Аналіз довжини рестрикційних фрагментів і порівняння ДНК-патернів у відповідності до розширеної номенклатури розробленої автором дозволяє у форматі «locus.exon\*allele» ідентифікувати до 120 алелів [66], а їх поєднання дає можливість встановити генотип тварини за геном BoLA-DRB3.

## 2.2. Визначення маститу корів та бактеріологічні дослідження

Другий етап досліджень був спрямований на оцінку поширеності субклінічного та клінічного маститу та визначення його клінічних форм у корів ТОВ імені Богдана Хмельницького у 2023–2025 роках. У ході досліджень проводили виділення та ідентифікацію епізоотичних штамів збудників маститу, та визначення їх чутливості до антибактеріальних препаратів.

Субклінічний мастит у корів визначали з використанням методу Kenotest CID LINES N. V., який застосовували безпосередньо до доїння. Для цього із кожної чверті вим'я відбирали по 2 мл молока у відповідні секції пластини для тестування, додавали рівний об'єм реагенту Kenotest, потім пластину обережно обертали круговими рухами протягом 10-15 с. та оцінювали результат візуально за ступенем зміни консистенції молока. Достовірність отриманих результатів підтверджували шляхом проведення бактеріологічного дослідження.

Кількість соматичних клітин у зразках молока визначали за допомогою електронного детектору маститу Mas-D-Тес MD-20 (Wescor).

Клінічний мастит у корів діагностували на підставі періодичного огляду тварин, що включав оцінку загального стану, візуальне обстеження та пальпацію вим'я. Діагностичними ознаками слугували набряк, гіперемія, болючість та локальне підвищення температури уражених чвертей молочної залози, а також патологічні зміни молока (наявність пластівців, згустків, слизу або зміна його консистенції та кольору), виявлені під час доїння.

Для ідентифікації етіологічних агентів клінічного маститу проводили

асептичний відбір секрету вим'я у стерильний посуд. При субклінічній формі досліджували альвеолярні порції молока, отримані на завершальному етапі доїння.

Первинний посів та диференціацію патогенів здійснювали на селективних середовищах: стафілококи виділяли сольовому МПБ, на ЖСА та агарі Бейрд-Паркера (HiMedia), визначали здатність розщепляти мальтозу, каталазу, манніт в анаеробних умовах, здатність до плазмокоагуляції; стрептококи – на 1% МПБ з глюкозою, агарі Едвардса (Biolife) та кров'яному агарі. Для виділення ентеробактерій застосовували середовища Ендо та Левіна, а для *P. aeruginosa* – спеціалізований Pseudomonas Isolation Agar». Ідентифікація підтверджувалася за допомогою визначника за Берджі.

Визначення чутливості бактеріальних ізолятів до антибактеріальних препаратів здійснювали на поживному середовищі Мюллера-Хінтона (HiMedia, Індія) відповідно до класичної диско-дифузійної методики Bauer-Kirby із застосуванням стандартних антибіотик-дисків [6, 68].

### **2.3. Методика та схема проведення досліджень**

Метою третього етапу досліджень було виявлення зв'язку алелів гена VoLA-DRB3 і формою клінічного маститу у корів, змін у морфологічних показниках крові та у субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів при лікуванні гострого катарального маститу корів з урахуванням ДНК-маркерів. За темою дисертаційної роботи проведено дослід (табл.2.1). Для цього хворі на гострий катаральний мастит корови були поділені на дві дослідні групи в залежності від генотипу за геном VoLA-DRB3. До першої дослідної групи ( $n = 7$ ) увійшли тварини, які містили алелі гена VoLA-DRB3 асоційовані з захворюванням молочної залози. Друга дослідна група була сформована з корів ( $n = 5$ ) в генотипі яких були присутні алелі гена VoLA-DRB3, слабо асоційовані з маститом.

Лікування гострого катарального маститу у корів має бути комплексним, своєчасним та спрямованим на усунення етіологічного чинника, зменшення запального процесу, відновлення секреторної функції молочної залози та

попередження ускладнень.

Таблиця 2.1

Схема дослідю

ТОВ імені Богдана Хмельницького Кам'янець-Подільського району Хмельницької області	
Дослідна група 1 ( $n = 7$ ) Наявність у корів алелів гена BoLA-DRB3 (ДНК-маркерів) асоційованих з маститом	Дослідна група 2 ( $n = 5$ ) Корови, у генотипі яких присутні алелі гена BoLA-DRB3, слабо асоційовані з маститом
За 5 хвилин до здоювання Окситоцин по 50 ОД внутрішньом'язово	
Етіотропна терапія	Амоксицилін (Amoxicillinum) 15% LA, 1 мл на 10 кг маси тіла (15 мг діючої речовини), внутрішньом'язово через 48 годин 2-3 введення Синулокс LC (Synulox LC) інтрацистернально в уражені чверті вим'я тричі з інтервалом 24 години вводили по одному шприцу-тубі 3-5 діб
Протизапальна та симптоматична терапія	Айніл (Ainil) по 3 мл на 100 кг ваги внутрішньом'язово 1-3 доби
Кров у корів брали з хвостової вени: – у клінічно здорових корів на 1-у добу експерименту; – у корів з катаральним маститом на 1 (перед початком лікування), 3 і 9 доби експерименту	

Хворим тваринам обмежили концентровані корми та збільшили частку легкозасвоюваних кормів. Корови були переведені на ручне доїння. За 5 хвилин до здоювання вводили Окситоцин по 5-10 ОД внутрішньом'язово для стимуляції повного виведення патологічного секрету та згустків. З етіотропної терапії внутрішньом'язово вводили Амоксицилін 15% LA по 1 мл на 10 кг маси тіла через 48 годин 2-3 введення. Інтрацистернально в уражені чверті вимені тричі з інтервалом 24 години вводили по одному шприцу-тубі Синулокс LC 3-5 діб. Препарат містить амоксицилін, клавуланову кислоту та преднізолон, який знімає

набряк. Препарат вводили після ретельного видоювання та антисептичної обробки дійкового каналу. Для зменшення запальної реакції, болючості та набряку вим'я ми застосували нестероїдний протизапальний засіб Айніл по 3 мл на 100 кг ваги внутрішньом'язово протягом 1-3 доби, який сприяв нормалізації мікроциркуляції та зниженню ексудації.

Для покращення кровообігу та резорбції запального інфільтрату застосовували протизапальну мазь Дібутин, яку наносили легкими масажними рухами після доїння. Масаж вим'я проводили обережно, у напрямку від основи до дійок, уникаючи надмірного механічного подразнення.

Для контролю відновлення показників якості молока застосовували Mas-D-Tec MD-20 (Wescor), призначений для визначення умовної в'язкості незбираного молока та розрахунку вмісту соматичних клітин у ньому.

#### **2.4. Визначення морфологічних показників крові та субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів**

У патогенезі маститу корів провідну роль відіграють імунні механізми, зокрема процеси антигенного розпізнавання та формування специфічної імунної відповіді. Ключовим елементом цих процесів є головний комплекс гістосумісності класу II, до якого належить ген BoLA-DRB3. Він кодує  $\beta$ -ланцюг молекул МНС II, які експресуються на поверхні антигенпрезентувальних клітин та забезпечують зв'язування та презентацію антигенних пептидів Т-лімфоцитам через Т-клітинний рецептор. Функціональна активність та ефективність Т-клітинної імунної відповіді безпосередньо обумовлені структурними характеристиками молекул, закодованих геном BoLA-DRB3. Поліморфізм гена BoLA-DRB3 зумовлює варіабельність антигензв'язувальної ділянки молекул МНС II, що визначає специфічність і силу взаємодії з рецепторами Т-лімфоцитів, рівень їх активації, проліферації та диференціації. В результаті різні алельні варіанти цього гена можуть асоціюватися з відмінностями у кількісному складі Т-лімфоцитів, характері клітинної імунної відповіді та перебігу запального процесу в молочній залозі.

У зв'язку з цим визначення Т-лімфоцитів є патогенетично обґрунтованим і необхідним для оцінки реалізації генетично детермінованих механізмів імунної відповіді, пов'язаних із поліморфізмом гена *BoLA-DRB3*. Дослідження кількісних показників Т-лімфоцитів дозволяє встановити вплив генетичних варіантів цього гена на стан клітинної ланки імунітету у корів з маститом.

Паралельне визначення В-лімфоцитів є доцільним для комплексної оцінки імунного статусу тварин, оскільки активація гуморальної імунної відповіді опосередковується Т-хелперами, функціональна активність яких залежить від ефективності антигенпрезентації через молекули МНС II, закодовані геном *BoLA-DRB3*. Таким чином, співвідношення Т- і В-лімфоцитів відображає ступінь узгодженості клітинної та гуморальної імунної відповіді при маститі.

Для визначення морфологічних показників крові та субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів від хворих на катаральний мастит корів обох дослідних груп відбирали зразки крові: до початку терапії, на 3 і 9 добу від початку лікування.

У стабілізованій гепарином крові на гематологічному аналізаторі MYTHIC 18 Vet визначали загальну кількість еритроцитів (RBC), лейкоцитів (WBC) та тромбоцитів (PLT), концентрацію гемоглобіну (HGB), гематокриту (HCT), середній об'єм еритроцита (MCV), середній вміст гемоглобіну в еритроциті (MCH). Співвідношення окремих форм лейкоцитів (лейкограма крові) підраховували за допомогою візуальної мікроскопії, згідно методик, описаних у довіднику [6].

Дослідження популяційного складу Т-і В-лімфоцитів крові визначали методом розеткоутворення з еритроцитами барана в якості маркерів. Т-лімфоцити характеризуються наявністю на поверхні клітин специфічних мембранних рецепторів, здатних взаємодіяти з еритроцитами барана, що використовується для їх диференціації та кількісної оцінки. За відповідних умов Т-лімфоцити утворюють розетки з еритроцитами барана, в яких лімфоцит займає центральне положення, а еритроцити розташовуються по периферії. Інтенсивність розеткоутворення та кількість еритроцитів, адсорбованих одним лімфоцитом, відображають ступінь функціональної активності Т-клітин і зумовлені щільністю рецепторів на їх поверхні [6].

*Приготування буферного фізіологічного розчину.* У чисту колбу вносять 8,2

г х.ч. NaCl та 2,3 г NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, після чого об'єм доводять дистильованою водою до 1 дм<sup>3</sup> і ретельно перемішують до повного розчинення компонентів. Водневий показник отриманого розчину повинен становити 7,2-7,4.

*Приготування розчину фікол-верографіна.* Градієнт щільності фікол-верографіна готують шляхом розчинення 9,5 г фіколу у 100 см<sup>3</sup> теплої дистильованої води з подальшим додаванням 20 см<sup>3</sup> 76% розчину верографіна.

*Підготовка еритроцитів барана як маркерів.* Для формування індикаторної системи як маркери використовують еритроцити барана, які отримують із дефібрированої крові. Еритроцити відмивають 2-3 рази фізіологічним розчином до отримання світлого надосаду, застосовуючи центрифугування при швидкості 1500 хв<sup>-1</sup> протягом 10 хв. Із осаду еритроцитів готують 0,5% суспензію еритроцитів барана для визначення загальних Т-лімфоцитів. Для цього у пробірку вносять 4,75 мл забуференого фізіологічного розчину та додають 0,25 мл відмитих еритроцитів барана, отримуючи 5% суспензію, яку надалі розводять забуференим фізіологічним розчином у 10 разів.

Мононуклеарну фракцію лейкоцитів виділяють із цільної гепаринізованої крові. Кров розводять забуференим фізіологічним розчином у співвідношенні 1:3, після чого отриману суміш обережно нашаровують уздовж стінки пробірки на 3 мл фікол-верографіна. Центрифугування проводять протягом 30 хв при швидкості 1500 хв<sup>-1</sup>. Сформовану в результаті центрифугування фракцію мононуклеарних клітин відбирають у чисту пробірку та тричі відмивають забуференим фізіологічним розчином фосфатних солей, здійснюючи центрифугування при 1500 хв<sup>-1</sup> упродовж 10 хв, до отримання суспензії лімфоцитів. Кількість клітин визначають у камері Горяєва, після чого суспензію доводять забуференим фізіологічним розчином до концентрації  $2 \times 10^6$  кл. в 1 мл.

*Постановка реакції.* Кількісне визначення загальних Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій здійснюють методом спонтанного розеткоутворення з використанням еритроцитів барана як маркерів. Оцінку результатів проводять у мазках, пофарбованих за методом Романовського–Гімзи та висушених на повітрі.

До Т-розеткоутворюючих лімфоцитів відносять клітини, які адсорбували не менше трьох еритроцитів барана.

*Підготовка системи E-РУЛ для визначення загальних Т-лімфоцитів.* У пробірку вносять 0,1 мл суспензії лімфоцитів та додають 0,1 мл 0,5% суспензії еритроцитів барана, після чого суміш інкубують у термостаті протягом 7 хв при температурі 37°C. Далі суміш центрифугують упродовж 5 хв при швидкості 1000 хв<sup>-1</sup> та витримують у холодильнику при температурі 4°C протягом 1 год. Фіксацію клітин проводять шляхом додавання 0,1 мл 0,3% розчину глютарового альдегіду з експозицією 20 хв, після чого реакцію зупиняють внесенням 0,4 мл дистильованої води. Надалі суміш центрифугують 3 хв при 1000 хв<sup>-1</sup>, надосад видаляють, осад ресуспендують і готують мазки на предметних скельцях. Мікроскопічне дослідження препаратів проводять під імерсійною системою при збільшенні 90×7.

*Визначення кількості активних Т-лімфоцитів (ТА-РУЛ)* здійснювали на основі принципу спонтанної інкорпорації гетерогенних еритроцитів до поверхні лімфоцитів. Активні субпопуляції Т-лімфоцитів характеризуються наявністю високоавідних рецепторів до еритроцитів барана, що забезпечує їх активне зв'язування без додаткової інкубації. Аналогічно до попередньої методики, у пробірки вносили по 0,1 см<sup>3</sup> суспензії лімфоцитів, додавали 0,1 см<sup>3</sup> 0,1% суспензії еритроцитів барана та центрифугували протягом 5 хв при 1000 хв<sup>-1</sup>. Після цього надосад відбирали, осад ресуспендували та готували мазки на предметних скельцях для подальшого мікроскопічного дослідження.

*Визначення Т-хелперів (Th-РУЛ, CD4<sup>+</sup> Т-лімфоцитів)* здійснювали на основі методу, що ґрунтується на відмінностях рецепторного апарату субпопуляцій Т-лімфоцитів. Зокрема, Т-хелперні клітини експресують на своїй поверхні рецептори до імуноглобулінів класу М, тоді як Т-супресорні клітини – до імуноглобулінів класу G. До Т-хелперів відносили лімфоцити, здатні утворювати розетки після інкубації з теофіліном. Для проведення реакції готують 0,09% розчин теофіліну на забуференому фізіологічному розчині. У пробірку вносять 0,1 мл суспензії лімфоцитів, додають 0,1 мл 0,09% розчину теофіліну та інкубують протягом 30 хв при температурі 37°C. Після інкубації клітини дворазово відмивають забуференим фізіологічним розчином з центрифугуванням

упродовж 10 хв, надосад видаляють, а осад відновлювали в суспензії. Далі додають 0,1 мл суспензії еритроцитів барана, інкубують 7 хв при температурі 37°C і центрифугують 5 хв при швидкості 1000 хв<sup>-1</sup>. Пробірки витримують у холодильнику при температурі 4°C протягом 1 год, після чого проводять фіксацію клітин 0,3% розчином глутарового альдегіду шляхом додавання 0,1 мл реагенту з експозицією 10 хв. Реакцію фіксації зупиняють внесенням 0,4 мл дистильованої води, суміш знову центрифугують 5 хв при 1000 хв<sup>-1</sup>, надосад видаляють, осад ресуспендують і готують мазки на предметних скельцях.

Мазки фіксують метанолом протягом 3 хв, висушують на повітрі, фарбують за методом Романовського - Гімзи протягом 7 хв, після чого змивають струменем дистильованої води, висушують та проводять мікроскопічний підрахунок розеткоутворюючих клітин.

У мазках визначають кількість Т-розеткоутворюючих лімфоцитів. Лімфоцити, що приєднали 3-5 еритроцитів, відносять до мало диференційованих; клітини з адсорбцією 6-10 еритроцитів вважають такими, що мають середню щільність рецепторів; лімфоцити, які приєднали 11 і більше еритроцитів, характеризують як високо диференційовані; клітини, що не утворили жодної розетки, класифікують як нульові. Кількість теофілін-чутливих Т-лімфоцитів-супресорів визначають розрахунковим шляхом як різницю між загальною кількістю *E-PUU* та числом теофілін-резистентних Т-хелперних клітин.

*Визначення відносної кількості В-лімфоцитів методом розеткоутворення з використанням сенсibiliзованих еритроцитів миші.* В-лімфоцити на різних етапах диференціації є основними ефекторними клітинами гуморальної ланки імунітету. Метод їх ідентифікації ґрунтується на наявності на поверхні В-лімфоцитів мембранних рецепторів до третього компоненту комплементу (С3) та Fc-фрагмента імуноглобулінів, що забезпечує здатність цих клітин взаємодіяти з індикаторними еритроцитами, які несуть на своїх мембранах комплемент-антиген-антитіло комплекс (*EAC-PUU*).

У якості індикаторних клітин використовують еритроцити миші, попередньо

сенсифілізовані специфічними антитілами та комплементом. Наявність у В-лімфоцитів рецепторів до комплементу забезпечує формування комплементарних розеток, тобто лімфоцитів, які утворюють розетки з еритроцитами, що містять на своїй поверхні комплекс антитіло–комплемент (*EAC-ПУЛ*).

Приготування забуференого фізіологічного розчину, розчину фікол-верографіна, підготовку еритроцитів миші як маркерів, обробку проб крові та виготовлення мазків здійснюють аналогічно методиці визначення Т-лімфоцитів.

*Приготування комплемент-антигенного комплексу.* Для сенсифілізації еритроцитів використовують готову рідку гемолітичну сироватку з титром 1:1200 та сухий комплемент морської свинки.

*Підготовка системи EAC-ПУЛ для визначення В-лімфоцитів.* До 0,1 мл очищеної суспензії лімфоцитів додають 0,1 мл 1% суспензії еритроцитів миші, які містять на своїй поверхні комплекс імуноглобулін-антитіло-комплемент. Суміш інкубують у термостаті протягом 7 хв при температурі 37°C, центрифугують при швидкості 1000 хв<sup>-1</sup> та витримують у холодильнику протягом 1 год. Подальшу фіксацію клітин проводять шляхом додавання 0,3% розчину глютарового альдегіду. Реакцію фіксації зупиняють внесенням 0,4 мл дистильованої води, суміш центрифугують упродовж 5 хв при 1000 хв<sup>-1</sup>, надосад видаляють, а осад переводили в суспензію та готували мазки на предметних скельцях.

## 2.5. Статистичний аналіз

Репрезентативність добірок оцінювали за класичною теорією вибіркового методу. За довірчої імовірності 95% ( $z = 1,96$ ), частоти ознаки  $p = 0,95$  та допустимої граничної похибки  $P \leq 0,05$  [85]:

$$\Delta = z \cdot \sqrt{(p(p - 1)) / n}$$

де  $p$  – частка тварин, які мають певну ознаку;

$z$  – коефіцієнт стандартного нормального розподілу для заданої довірчої імовірності.

Частоти алелів у експериментальній вибірці були визначені шляхом аналізу з

урахуванням кількості гомозиготних та гетерозиготних особин, що дозволяє більш точно оцінити розподіл алелів у популяції.

Для використання алеля як ДНК-маркера необхідно визначити силу асоціації та статистичну значущість у парі «алель – захворювання». Виконання цього завдання вимагало дотримання декількох умов [43].

1. У процесі аналізу поліморфізму гена *BoLA-DRB3* увагу зосереджували на алелях, у яких *MAF* у досліджуваній популяції перевищував значення 0,05. Зазначений поріг відбору алелів є загальноприйнятим у популяційно-генетичних та асоціативних дослідженнях у великої рогатої худоби, зокрема при аналізі високополіморфних генів головного комплексу гістосумісності, оскільки забезпечує достатню репрезентативність алелів у вибірці та підвищує статистичну надійність оцінки їх зв'язку зі схильністю до захворювань, у тому числі маститу.

2. Сила асоціативного зв'язку визначалася на основі відносного ризику (*RR*), який характеризує, у скільки разів ризик розвитку захворювання зростає при наявності певного алеля в генотипі порівняно з його відсутністю. Якщо значення  $RR \geq 0,5$  присутність алеля в генотипі тварини свідчить про тісний зв'язок із захворюванням. При  $RR \leq 0,5$  маємо протилежну асоціацію, яка вказує на тісний зв'язок зі стійкістю до маститу. В таких випадках для виділення асоціації значення відносного ризику обчислювалось, як  $1/RR$  із протилежним знаком.

3. Достовірність результатів підтверджена через критерій Пірсона ( $\chi^2$ ). Для двох альтернативних ознак тварини (хворі ↔ здорові) та алель (присутній ↔ відсутній) і числі ступенів свободи  $dF = 1$  значення критерію Пірсона становили:  $\chi^2 = 3,84$  при  $P < 0,05$ ;  $\chi^2 = 6,63$  при  $P < 0,01$ ;  $\chi^2 = 10,8$  при  $P < 0,001$ . Алелі, які демонстрували незначні відхилення від критичних значень, додатково перевіряли за точним одностороннім критерієм Фішера з одночасним контролем сили асоціації за допомогою коефіцієнта сполученості Пірсона.

Якщо кількість виявлених алелів не перевищувала 5, то розрахунок критерію Пірсона проводився з поправкою Йетса, шляхом збільшення їх кількості на 0,5. Остаточний висновок про достовірність встановленої сили асоціації

встановлювався перевіркою на достатність числа алелів в обмеженій добірці ( $n < 5$ ). Очікувані частоти в кожній комірці чотирьохпільної таблиці не повинні бути менше 5. Інтерпретація значень критерію Пірсона є обґрунтованою лише за достатнього обсягу вибірки (не менше 20 тварин) та за дотримання наступних передумов його використання:

$$(a+b) \times (a+c)/N > 5, (a+b) \times (b+d)/N > 5, (c+d) \times (a+c)/N > 5, (c+d) \times (b+d)/N > 5,$$

де  $a$  - хворі тварини, що мають алель;

$b$  - здорові тварини носії алеля;

$c$  - хворі тварини, в яких немає алеля;

$d$  - здорові тварини, в яких алель відсутній.

Загальну ефективність лікування тварин оцінювали з використанням методології композитних індексів, яка передбачає інтеграцію різномірних показників (клінічних, лабораторних, імунологічних тощо) в узагальнений (інтегральний) індекс, що забезпечує уніфікацію різнотипних характеристик і спрощує інтерпретацію результатів для отримання комплексної оцінки терапевтичної відповіді організму [160, 195].

Інтегральний показник визначали на основі методу багатокритеріальної оцінки шляхом усереднення нормалізованих показників дослідних груп корів за результатами лікування з врахуванням наявності генотипів корів генетичних маркерів, які характеризують основні функціональні ланки імунної відповіді, з використанням середнього арифметичного як загальноприйнятого способу агрегації у ветеринарних експериментальних дослідженнях.

Для показників, зростання яких свідчить про покращення стану організму, нормалізацію здійснювали за формулою:

$$E_i = X_i/X_{norm}$$

де:  $E_i$  – нормалізоване значення показника;

$X_i$  – фактичне значення показника у тварини;

$X_{norm}$  – середнє фізіологічне значення показника.

Для показників, підвищення яких відображає патологічний процес, використовували обернену нормалізацію  $E_i = X_{norm}/X_i$ .

Отримані значення обмежували в інтервалі від 0 до 1, де 1 відповідає фізіологічній нормі або оптимальному стану, а значення, близькі до 0, свідчать про виражені відхилення. Такий підхід забезпечує коректне порівняння різнорідних показників та їх інтеграцію в єдиний композитний індекс ефективності лікування.

Статистичний обробіток даних проводили в стандартному пакеті «Microsoft Excel 2013» з використанням власних програм та інтегрованої надбудови GenAIEx 6.503 (<http://biology-assets.anu.edu.au/GenAIEx/Download.html>), інтегрованої в основне меню Excel. Для інших розрахунків використано програмні можливості пакету PAST 4.03. (PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Reference manual. <https://www.nhm.uio.no/downloads/past4manual>).

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1. Виявлення алелів гена *BoLA-DRB3* асоційованих з маститом корів

Інтеграція молекулярно-генетичних маркерів у систему профілактики й лікування маститів корів є перспективним напрямом персоналізованої ветеринарної медицини. Серед їх багаточисельних варіантів найбільшої уваги заслуговують варіанти по'язані з імунною системою корів, а саме виявлення ДНК-маркерів на основі алельних варіантів гена *BoLA-DRB3* (екзон 2). Висока алельна різноманітність цього гена зумовлює індивідуальні відмінності імунної відповіді корів, що безпосередньо впливає на перебіг та ефективність лікування маститів.

Аналіз зчеплення, асоціацій із господарсько корисними ознаками та захворюваннями, а також функціональний аналіз генів дозволяють ідентифікувати поліморфізми, що можуть використовуватися як ефективні маркери бажаних ознак, зокрема у дослідженнях генетично значущих локусів, таких як *BoLA-DRB3*. Застосування різних систем ДНК-маркерів забезпечує дослідження локусів кількісних ознак, моніторинг генетичних аномалій та оцінку породного генетичного різноманіття великої рогатої худоби. Важливим геномним ресурсом у цьому контексті є база даних *Animal QTLdb*, яка акумулює понад 190 000 QTL та асоціацій для більш ніж 690 ознак сільськогосподарських тварин [119].

Інтеграція молекулярно-генетичних маркерів у систему профілактики й лікування маститів корів є перспективним напрямом персоналізованої ветеринарної медицини. Серед їх багаточисельних варіантів найбільшої уваги заслуговують варіанти по'язані з імунною системою корів, а саме виявленню алельних варіантів гена *BoLA-DRB3* (екзон 2) тісно зчеплених з ІМІ. Висока алельна різноманітність цього гена зумовлює індивідуальні відмінності імунної відповіді корів, що безпосередньо впливає на перебіг та ефективність лікування маститів.

Як вже зазначалося алельний поліморфізм локусу *BoLA-DRB3* вивчали на

базі методу ПЛР-ПДРФ (van Eijk et al., 1992) [43, 229].

В Україні найбільший об'єм молекулярно-генетичних досліджень виконано із використанням варіантів SNPs на основі ПЛР-ПДРФ. У результаті проведених молекулярно-генетичних досліджень одержано результати, пов'язані із хворобами сільськогосподарських тварин. Зокрема, встановлено ряд алелів гена *BoLA-DRB3.2*, тісно пов'язаних з маститом і некробактеріозом. Також проведено дослідження асоціативних зв'язків між його алелями та КСК у молоці.

Особливе місце подібним генетичним маркерам належить у виявленні особливостей генетичної структури молочних, комбінованих і м'ясних порід великої рогатої худоби. Проведено генотипування тварин за поліморфними локусами каппа-казеїну ( $\kappa$ -Cn), бета-лактоглобуліну ( $\beta$ LG), гормону росту (GH), лептину (LEP), гіпофізарного фактора транскрипції (PIT-1) та міостатину (MSTN) для основних українських порід ВРХ.

Розроблено узагальнену методику генетичного тестування великої рогатої худоби молочного напрямку за генами бета-казеїну (*CSN2*) ВРХ та капа-казеїну (*CSN3*). Виявлено генетичні маркери тварин, асоційованих з гіпоалергенними властивостями молока. Проведено аналіз продуктивних якостей корів чорно-рябої та червоно-рябої молочних порід української селекції з різними генотипами за локусом *IFNGR2* (мутація 1008A>G). Зокрема, визначено параметри продуктивності за кожним з наявних генотипів – AA, AG та GG [10, 11, 43].

Інформація про поліморфізм *DRB3*-локусу ГКГ великої рогатої худоби відкриває нові можливості для оптимізації підходів до профілактики та лікування маститу. Застосування даних щодо генетичної структури популяції та індивідуальних імуногенетичних особливостей тварин дозволяє перейти від традиційних стандартних схем лікування до більш диференційованих та індивідуалізованих терапевтичних стратегій. Такий підхід передбачає врахування генетично зумовленої варіабельності імунної відповіді, що, у свою чергу, дає змогу підвищити ефективність лікувально-профілактичних заходів.

Урахування генетичних маркерів, асоційованих зі стійкістю або підвищеною сприйнятливістю до маститу, сприяє підвищенню результативності лікування,

зменшенню ризику повторного розвитку запального процесу в тканинах молочної залози та зниженню частоти рецидивів захворювання.

Інтеграція молекулярно-генетичної інформації у ветеринарну практику створює передумови для впровадження принципів персоналізованої ветеринарної медицини у молочному скотарстві, що дозволяє підвищити ефективність лікувальних заходів, скоротити тривалість терапії, мінімізувати використання антибактеріальних препаратів, зменшити ризик формування антимікробної резистентності та знизити економічні втрати, пов'язані з лікуванням маститу і зниженням продуктивності тварин [98, 158].

### **3.1.1. Алелі гена BoLA-DRB3 асоційовані з маститом корів української червоної молочної породи**

Дослідження виконано на базі молочного підприємства СТОВ «АФ «Петродолинське» Одеської області. Типування проведено на 97 зразках крові корів української червоної молочної породи [65].

Для виявлення алелів гена BoLA-DRB3.2, асоційованих із чутливістю до маститу сформовано дві групи. У першу групу відібрано 42 корови з різними формами маститу, у другу – 55 здорових тварин [64]. Розмір вибірки забезпечував 95% імовірність виявлення алелів з частотою  $P_a \leq 0,05$  та відповідав вимогам репрезентативності при допустимій похибці у 5%.

Алельний поліморфізм екзону 2 гена BoLA-DRB3 визначали методом ПЛР-ПДРФ. У результаті лабораторних досліджень отримано електрофореграми, фрагмент однієї з яких представлено на рис. 3.1. Кожна смуга фореграми утримує інформацію про розчеплення ендонуклеазами *RsaI*, *XhoII* (*BstYI*) і *HaeIII* фрагменту екзона BoLA-DRB3 довжиною 284 п.н. (281 п.н. при наявності делецій) на рестрикційні фрагменти. За розміром смуг визначалися патерни рестрикції і, відповідно до стандартної номенклатури два алелі, які сумарно визначали генотип тварини [43, 66].

У результаті молекулярно-генетичного аналізу зразків крові отримано дані про генотипи 97 корів УЧМ (табл. 3.1), на основі яких здійснено подальші

розрахунки та аналіз отриманих результатів. Зокрема визначено алельний поліморфізм породи, чутливість корів до маститів і сформовано генетичний профіль української червоної молочної породи за геном *BoLA-DRB3*.

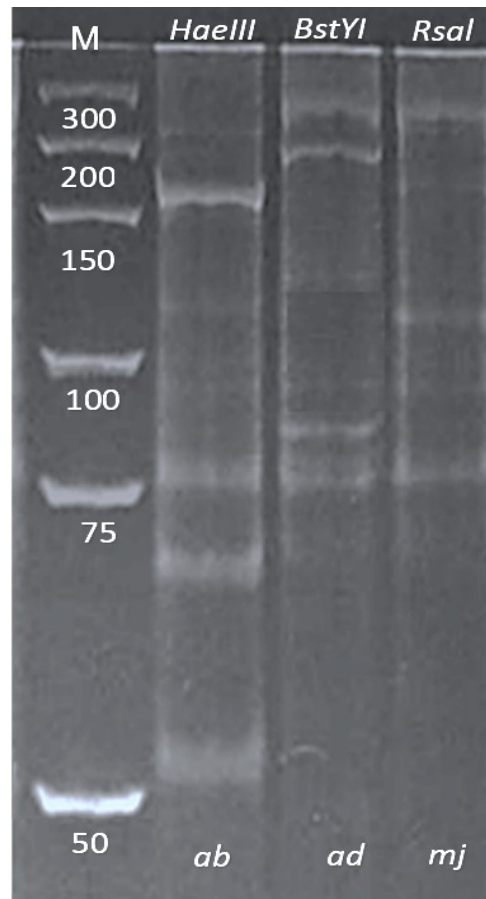


Рис.3.1. Фрагмент електрофореграми продуктів ампліфікації гена *BoLA-DRB3*, отриманих зі зразка крові корови української червоної молочної породи з використанням ендонуклеаз *RsaI*, *HaeIII*, *BstYI*. Знизу вказано варіанти ДНК-патернів. М – маркер молекулярних мас (Promega, New England BioLabs, США).

За результатами типування виявлено 34 алеля *BoLA-DRB3.2* (середня частота 2,94%). У групі здорових тварин були присутні всі 34 варіанти, а в групі хворих лише 31 алель (рис.3.1).

Під час аналізу поліморфізму гена *BoLA-DRB3* до подальшого розгляду включали алельні варіанти з частотою мінорного алеля (MAF), яка перевищувала значення  $P_a = 0,05$ . Застосування порогового значення допускає виключення з аналізу рідкісних алелів з малою поширеністю у популяції, але які можуть впливати на зниження статистичної потужності дослідження та спотворення

достовірних оцінок асоціацій. Зосередження на більш поширених алельних варіантах забезпечує їх достатню репрезентативність у дослідній вибірці та підвищує надійність виявлення можливих зв'язків між генетичними маркерами і досліджуваними ознаками [79, 115].

Таблиця 3.1

Розподіл генотипів хворих на мастит і здорових корів УЧМ за  
геном BOLA-DRB3

Хворі корови (n = 55)				Здорові корови (n = 42)			
3	32	21	39	3	28	24	27
3	36	21	50	6	65	25	39
6	99	21	54	8	14	25	48
8	11	22	26	8	24	25	50
10	20	22	51	13	28	26	37
10	48	<b>24</b>	<b>24</b>	13	32	27	99
11	118	24	28	14	28	<b>28</b>	<b>28</b>
13	48	<b>26</b>	<b>26</b>	16	24	<b>28</b>	<b>28</b>
14	21	<b>26</b>	<b>26</b>	16	37	28	52
16	21	26	48	16	39	51	93
16	24	27	28	16	51	-	-
16	26	28	99	17	22	-	-
16	48	32	54	17	25	-	-
17	25	43	37	21	36	-	-
19	44	48	99	24	25	-	-
19	97	-	-	24	118	-	-

Інформативні алелі з частотою понад у 5% та їх сумарна частка мала наступний розподіл: вся вибірка 6 варіантів (39,7%), група здорових корів 5 варіантів (40,9%), група хворих корів 3 варіанти (27,4%). Найбільш поширеним для УЧМ виявився алель BoLA-DRB3.2\*28 – 16 випадків або 9,3%. Його виявлено у 16 тварин, що склало 16,5% від усіх протестованих корів з врахуванням в розрахунку гомозиготних генотипів.

Серед здорових тварин найбільш інформативним теж виявився алель BoLA-DRB3.2\*28 (16,1%). Його знайдено в генотипах 12 корів, що склало 12,4% від протестованих тварин. В цій групі виявлено два гомозиготних генотипи. У групі хворих на мастит корів найчастіше виявлявся алель BoLA-DRB3.2\*26 (11,9%), який було виявлено у 8 тварин (8,25%). Не було ідентифіковано алелі BoLA-

DRB3.2\*52, \*65 і \*93. Серед хворих тварин виявлено три гомозиготи.

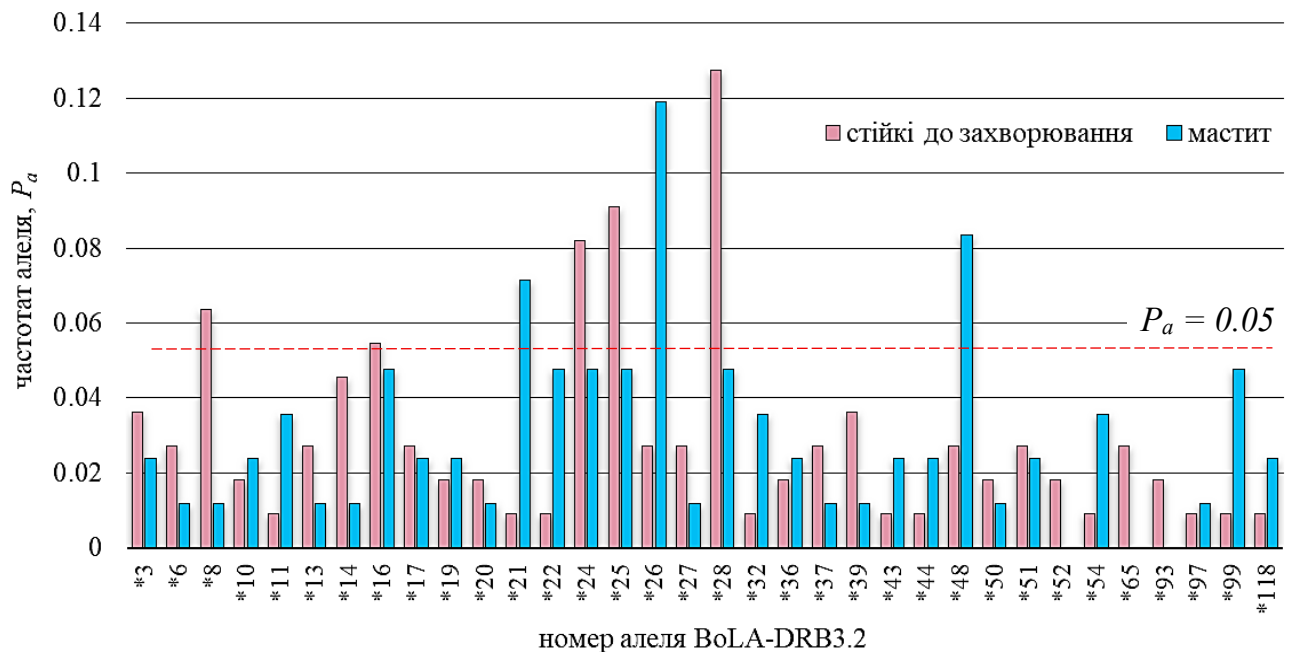


Рис.3.1. Алельний поліморфізм BoLA-DRB3 хворих на мастит і здорових корів УЧМ (алелі \*52, \*65 і \*93 не виявлено у групі хворих корів)

Виявлений пул алелів гена BoLA-DRB3.2 у поєднанні з наявністю клінічної ознаки стійкості або схильності до маститу дозволив перейти до наступного етапу дослідження – оцінки варіантів генетичної чутливості тварин до цього захворювання. Такий підхід дає змогу не лише ідентифікувати потенційно резистентні та сприйнятливі генотипи, а й забезпечує основу для подальшого статистичного та асоціативного аналізу між алельними варіантами та фенотиповими проявами маститу.

Основним показником сили асоціації в парі «алель – захворювання» вважається відносний ризик, який визначає ймовірність розвитку захворювання в тварин-носіїв алеля в порівнянні з тваринами, що його не мають. Чим більше значення абсолютної величини відносного ризику  $RR$ , тим більш тісну асоціацію слід очікувати. Критерій Пірсона  $\chi^2$  дозволяє оцінити точність отриманого результату генетичного дослідження. Чим більше значення критерію, тим меншою буде похибка в силі асоціації. Для врахування обмежень біологічного матеріалу проводять оцінку достатності розміру дослідної вибірки. Результати біометричних розрахунків згруповано табл.3.2.

Таблиця 3.2

Поліморфізм алелів гена BOLA-DRB3.2 та їх зв'язок з маститами корів УЧМ ( $n = 97$ )

Номер алеля	Частота алеля, $P_a$	Відносний ризик, $RR$	Критерій Пірсона		Похибка, $S_p$	Перевірка розміру вибірки			
			$\chi^2$	поправка Йетса		$(a+b)(a+c)$	$(a+b)(b+d)$	$(c+d)(a+c)$	$(c+d)(b+d)$
						$N$	$N$	$N$	$N$
*03	0,031	0,64	0,259	0,263	0,012	2,6	3,4	39,4	51,6
*06	0,021	<b>-2,37</b>	0,569	0,577	0,01	1,73	2,27	40,3	52,7
*08	0,041	<b>-5,98</b>	3,37	3,38	0,014	3,46	4,54	38,5	50,5
*10	0,021	1,33	0,076	0,073	0,01	1,73	2,27	40,3	52,7
*11	0,021	<b>4,15</b>	1,71	1,69	0,01	1,73	2,27	40,3	52,7
*13	0,021	<b>-2,37</b>	0,569	0,577	0,01	1,73	2,27	40,3	52,7
*14	0,031	<b>-4,1</b>	1,85	1,86	0,012	2,6	3,4	39,4	51,6
*16	<b>0,052</b>	0,86	0,049	0,051	0,016	4,33	5,67	37,7	49,3
*17	0,026	0,87	0,023	0,025	0,011	2,16	2,84	39,8	52,2
*19	0,021	1,33	0,076	0,073	0,01	1,73	2,27	40,3	52,3
*20	0,015	0,77	0,125	0,13	0,009	1,3	1,7	40,7	53,3
*21	0,036	<b>9,0</b>	<b>5,53</b>	<b>5,51</b>	0,013	3,03	3,97	38,9	51,0
*22	0,026	<b>5,68</b>	2,89	2,88	0,011	2,16	2,84	39,8	52,2
*24	<b>0,062</b>	<b>-2,89</b>	2,5	2,51	0,017	<b>5,63</b>	<b>7,37</b>	<b>36,4</b>	<b>47,6</b>
*25	<b>0,072</b>	0,51	1,45	1,45	0,019	<b>6,06</b>	<b>7,94</b>	<b>35,94</b>	<b>47,1</b>
*26	<b>0,067</b>	<b>8,28</b>	<b>8,94</b>	<b>8,92</b>	0,018	<b>5,2</b>	<b>6,8</b>	<b>36,8</b>	<b>48,2</b>
*27	0,021	<b>-3,22</b>	1,17	1,18	0,01	2,16	2,84	39,8	52,2
*28	<b>0,093</b>	<b>-3,24</b>	<b>3,99</b>	<b>4,01</b>	0,021	<b>7,79</b>	<b>10,21</b>	<b>34,2</b>	<b>44,8</b>
*32	0,021	<b>4,15</b>	1,71	1,69	0,01	1,73	2,27	40,3	52,7
*36	0,021	1,33	0,076	0,073	0,01	1,73	2,27	40,3	52,7
*37	0,021	0,77	0,125	0,13	0,01	1,3	1,7	40,7	53,3
*39	0,026	<b>-3,22</b>	1,17	1,18	0,011	2,16	2,84	39,8	52,2
*43	0,015	<b>2,7</b>	0,689	0,678	0,009	1,3	1,7	40,7	53,3
*44	0,021	<b>4,15</b>	1,71	1,69	0,01	1,73	2,27	40,3	52,7
*48	<b>0,052</b>	<b>3,47</b>	3,24	3,23	0,016	4,33	5,67	37,7	49,3
*50	0,015	0,65	0,125	0,13	0,009	1,30	1,7	40,7	53,3
*51	0,026	0,87	0,023	0,025	0,011	2,16	2,84	39,8	52,2
*52	0,01	-	1,56	1,58	0,007	0,87	1,13	41,1	53,9
*54	0,021	<b>4,15</b>	1,71	1,69	0,01	1,73	2,27	40,3	52,7
*65	0,015	-	2,36	2,38	0,009	1,3	1,7	40,7	53,3
*93	0,01	<b>-3,97</b>	1,56	1,58	0,007	0,87	1,13	41,1	53,9
*97	0,01	1,31	0,037	0,035	0,007	0,87	1,13	41,1	53,9
*99	0,026	<b>4,25</b>	2,89	2,88	0,011	2,16	2,84	39,8	52,2
*118	0,015	<b>2,18</b>	0,626	0,616	0,009	1,36	1,73	44,0	56,0

Примітка. Жирним шрифтом виділено показники, які перевищують критичні значення

За потужністю показника  $RR$  із врахуванням обмежень на достовірність отриманих результатів виявлено два алелі гена  $BoLA-DRB3.2$ , які потенційно можуть бути використані як генетичні маркери для УЧМ у зв'язку з маститом. Зі стійкістю до захворювання асоціюється варіант гена  $BoLA-DRB3.2*28$  ( $P < 0,05$ ), зі схильністю –  $BoLA-DRB3.2*26$  ( $P < 0,001$ ).

Серед інших варіантів на увагу необхідно звернути увагу на алель  $BoLA-DRB3.2*24$  ( $P_a = 0,062$ ;  $RR = -2,89$ ), який мінімально, але в допустимих межах для біологічних досліджень, витримав перевірку на достовірність. Обмежений обсяг вибірки та можливі методичні обмеження допускають певне зниження точності оцінок за умови збереження валідності висновків і надійності отриманих даних. Значення  $\chi^2 = 2,5$  при рівні значущості  $P < 0,117$  не підтверджує наявності достовірної асоціації. Перевірка сили зв'язку за одностороннім точним критерієм Фішера (0,11) і перевірка за коефіцієнтом сполученості Пірсона (0,19) свідчать про середню силу зв'язку між зазначеним алелем та станом здоров'я тварин, що узгоджується з підходами до інтерпретації ефектів невеликої величини але вимагає додаткових досліджень [157].

Аналіз генотипів, в яких присутній алель  $BoLA-DRB3.2*26$  показав його присутність у 11 корів. Серед них хворих на мастит було 8 тварин. Варіанти  $BoLA-DRB3.2*26/*22$ ,  $*26/*26$  і  $*26/*48$  виявлялися по двічі, а  $*26/*16$  і  $*26/*43$  – по одному разу. У двох здорових корів був генотип  $BoLA-DRB3.2*26/*37$ .

### **3.1.2. Алелі гена $BoLA-DRB3$ асоційовані з маститом корів української чорно-рябої молочної породи**

Дослідження виконано на базі ТОВ ім. Богдана Хмельницького Кам'янець-Подільського району Хмельницької області. Аналіз поліморфізму здійснювали на основі 52 зразків крові взятих у корів УЧМ. З метою забезпечення релевантності отриманих результатів сформовано дві рівночисельні групи хворих і клінічно здорових тварин по 26 зразків у кожній. Величина дослідної групи була достатньою для аналізу алелів із  $P_a \geq 5\%$ , без

врахування повного виявлення рідкісних алелів. Результати визначення генотипів надано в табл.3.3.

Таблиця 3.3  
Розподіл генотипів хворих на мастит і здорових корів УЧРМ за  
геном BoLA-DRB3

Хворі корови (n = 26)		Здорові корови (n = 26)	
3	36	3	19
8	11	3	28
11	24	8	11
11	26	8	14
11	43	8	48
14	28	11	32
16	24	14	16
16	48	14	25
17	19	14	28
17	24	16	24
21	22	16	28
21	25	17	19
<b>22</b>	<b>22</b>	21	26
22	24	21	28
22	26	22	97
<b>24</b>	<b>24</b>	24	97
25	26	25	28
<b>26</b>	<b>26</b>	25	36
26	28	26	28
26	43	<b>28</b>	<b>28</b>
26	51	28	52
32	54	43	97
43	52	51	54
48	97		

Серед корів, уражених маститом, було ідентифіковано 24 генотипи, з яких три представлені гомозиготними комбінаціями. Натомість у групі резистентних тварин встановлено 23 генотипові варіанти, при цьому лише в одній корові виявлено гомозиготний генотип BoLA-DRB3.2\*28/\*28.

В результаті типування у загальній групі з 52 корів виявлено 21 алель з середньою частотою 4,76% (рис.3.2). У групах хворих і здорових тварин були присутніми всі виявлені генетичні варіанти. Інформативні MAF алелі з частотою

понад у 5% та їх сумарна частка були розподілені наступним чином: вся вибірка 6 варіантів (50%), у групах здорових і хворих корів по 7 варіантів, що відповідно склало 44,2% і 51,9% від кількості виявлених варіантів в цих групах.

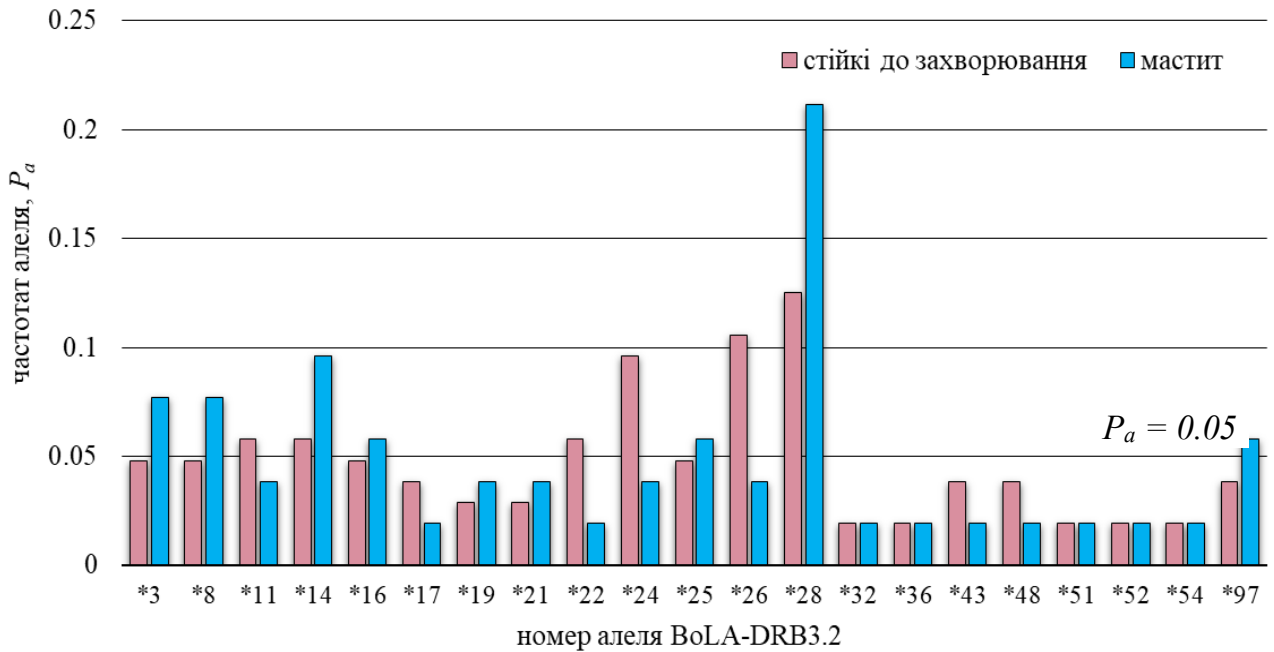


Рис.3.2. Алельний поліморфізм BoLA-DRB3 хворих на мастит і здорових корів УЧРМ

Найчастіше в дослідному стаді зустрічався алель BoLA-DRB3.2\*28, який було виявлено у 13 випадках. Його присутність (враховуючи 2 гомозиготних варіанти) зафіксована в генотипах 11 корів (21,5%).

Цей же генетичний варіант був найпоширенішим серед резистентних тварин. Його визначено 11 разів (10,6%), а з урахуванням однієї гомозиготи він входив до складу генотипів 10 тварин (19,2%). В групі хворих корів найчастіше 9 разів виявлявся алель BoLA-DRB3.2\*26 (8,65%), який ідентифікувався по одному разу у кожній резистентної тварин (17,3%).

На основі інформації про захворюваність або стійкість до маститу кожної дослідженої корови та встановленого алельного різноманіття проведено аналіз з метою виявлення потенційних генетичних маркерів, пов'язаних із формуванням резистентності або сприйнятливості до даного захворювання (табл.3.4).

Таблиця 3.4

Поліморфізм алелів гена BOLA-DRB3.2 та їх зв'язок з маститом корів УЧРМ ( $n = 52$ )

Номер алеля	Частота алеля, $P_a$	Відносний ризик, $RR$	Критерій Пірсона		Похибка, $S_p$	Перевірка розміру вибірки			
			$\chi^2$	поправка Йетса		$(a+b)(a+c)$	$(a+b)(b+d)$	$(c+d)(a+c)$	$(c+d)(b+d)$
						$N$	$N$	$N$	$N$
<b>*03</b>	0,048	<b>-4,55</b>	1,99	2,02	0,021	2,5	2,5	23,5	23,5
<b>*08</b>	0,048	<b>-4,55</b>	1,99	2,02	0,021	2,5	2,5	23,5	23,5
<b>*11</b>	<b>0,058</b>	<b>2,18</b>	0,754	0,739	0,023	3,0	3,0	23,0	23,0
<b>*14</b>	<b>0,058</b>	<b>-5,95</b>	<b>3,01</b>	3,04	0,023	3,0	3,0	23,0	23,0
<b>*16</b>	0,048	0,64	0,221	0,23	0,021	2,5	2,5	23,5	23,5
<b>*17</b>	0,038	<b>3,26</b>	1,08	1,06	0,021	2,5	2,5	23,5	23,5
<b>*19</b>	0,029	<b>-2,08</b>	0,354	0,367	0,016	1,5	1,5	24,5	24,5
<b>*21</b>	0,029	<b>-2,08</b>	0,354	0,367	0,016	1,5	1,5	24,5	24,5
<b>*22</b>	<b>0,058</b>	<b>5,95</b>	<b>3,01</b>	2,99	0,023	3,0	3,0	23,0	23,0
<b>*24</b>	<b>0,096</b>	<b>5,33</b>	<b>4,46</b>	4,43	0,029	<b>5,0</b>	<b>5,0</b>	<b>21,0</b>	<b>21,0</b>
<b>*25</b>	0,048	0,64	0,221	0,23	0,021	2,5	2,5	23,5	23,5
<b>*26</b>	<b>0,106</b>	<b>6,35</b>	<b>5,65</b>	5,62	0,03	<b>5,5</b>	<b>5,5</b>	<b>20,5</b>	<b>20,5</b>
<b>*28</b>	<b>0,125</b>	<b>-8,8</b>	<b>8,31</b>	8,34	0,032	<b>6,5</b>	<b>6,5</b>	<b>19,5</b>	<b>19,5</b>
<b>*32</b>	0,019	1,0	0,0	0,0	0,013	1,0	1,0	25,0	25,0
<b>*36</b>	0,019	1,0	0,0	0,0	0,013	1,0	1,0	25,0	25,0
<b>*43</b>	0,038	<b>3,26</b>	1,08	1,06	0,019	2,0	2,0	24,0	24,0
<b>*48</b>	0,038	<b>3,26</b>	1,08	1,06	0,019	2,0	2,0	24,0	24,0
<b>*51</b>	0,019	1,0	0,0	0,0	0,013	1,0	1,0	25,0	25,0
<b>*52</b>	0,019	1,0	0,0	0,0	0,013	1,0	1,0	25,0	25,0
<b>*54</b>	0,019	1,0	0,0	0,0	0,013	1,0	1,0	25,0	25,0

Примітка. Жирним шрифтом виділено показники, які перевищують критичні значення

У групах здорових і хворих корів за величиною відносного ризику для аналізу використано по 7 алелів. Даний показник визначають, щоб перевірити, чи існує мультиплікативна взаємодія між фактором і подією. Якщо оцінка відносного ризику статистично не відрізняється від 1, то гіпотеза про наявність ефекту взаємодії відкидається. Звідси випливає, що біологічна сутність  $RR$  полягає в можливості розвитку захворювання у тварин, які мають відповідний

алель відносно тих, що його не мають.

Порівняння альтернатив з протилежними ознаками при невеликих вибірках може давати велику кількість позитивних рішень щодо сприйнятливості чи стійкості до маститу, тому що присутня значна кількість алелів, які виявляються в дослідженні 1-2 рази. Тому накладання обмежень за критерієм Пірсона та перевіркою адекватності розміру вибірки, призводить до вилучення більшості виявлених варіантів, і неможливість їх використання в якості маркерів.

Перевірка достовірності отриманих значень засвідчила наявність алельних варіантів гена BoLA-DRB3.2, які можуть бути використані у подальших дослідженнях генетичної оцінки УЧРМ у зв'язку з маститом. Зі схильність до маститу асоціюється два алеля: BoLA-DRB3.2\*24 ( $P < 0,05$ ) і BoLA-DRB3.2\*26 ( $P < 0,05$ ). На стійкість корів дослідженої популяції, як потенційний генетичний маркер може претендувати алель BoLA-DRB3.2\*28 ( $P < 0,01$ ).

Проведені дослідження показали, що в генотипах корів, хворих на мастит, виявляються алельні варіанти, асоційовані зі сприйнятливістю до цього захворювання. Наступним аналізом встановлено закономірності їх розподілу.

Генетичний варіант з алелем BoLA-DRB3.2\*24 був присутнім у 7 корів. Усі генотипи реєструвалися по одному разу, за винятком генотипу BoLA-DRB3.2\*22/\*24\*, який виявлено у двох тварин. Крім того, встановлено наявність однієї гомозиготи. Генотипи, що містили алель BoLA-DRB3.2\*26, ідентифіковано у 9 корів, причому в усіх випадках він перебував у гетерозиготному стані. Серед них тричі виявлено генотип BoLA-DRB3.2\*22/\*26, тоді як інші генотипові комбінації реєструвалися по одному разу. Алель BoLA-DRB3.2\*28, який визначений нами як потенційний маркер стійкості до маститів, мали 10 корів, а найбільш поширеним виявився генотип BoLA-DRB3.2\*03/\*28 (три випадки). Лише одна корова мала гомозиготний варіант.

### **3.1.3. Обґрунтування вибору алелів гена BoLA-DRB3 при дослідженні ефективності лікування маститу**

Одним із завдань дисертаційної роботи було з'ясування особливостей перебігу та результатів лікування корів, хворих на різні форми маститу, залежно

від наявності в їхньому генотипі алелів гена *BoLA-DRB3.2*. У зв'язку з цим виникла необхідність визначення алелів, на які доцільно орієнтуватися при проведенні даного експерименту.

В першу чергу, ми опиралися на результати власних досліджень. Було встановлено, що із схильність до маститу у корів УЧМ проявляють два алеля: *BoLA-DRB3.2\*24* ( $P_a = 0,096$ ;  $RR = 5,33$ ;  $\chi^2 = 4,46$ ;  $P < 0,05$ ) і *BoLA-DRB3.2\*26* ( $P_a = 0,106$ ;  $RR = 6,35$ ;  $\chi^2 = 5,65$ ;  $P < 0,05$ ). Встановлена поширеність зазначених генетичних варіантів у дослідній вибірці в межах 10 % у поєднанні з високими значеннями відносного ризику, які у 2,5-3 рази перевищують мінімальні референтні показники, свідчить про наявність статистично та біологічно значущих асоціацій з маститом.

При дослідженні корів УЧМ було виявлено лише один алель гена *BoLA-DRB3.2\*26* ( $P_a = 0,067$ ;  $RR = 8,28$ ;  $\chi^2 = 8,94$ ;  $P < 0,001$ ). Незважаючи на помірну поширеність у дослідному стаді, для даного генетичного варіанта встановлено високий рівень асоціації із захворюванням на мастит, що характеризується перевищенням показника  $RR$  більш ніж у 4 рази та максимальною статистичною достовірністю отриманих результатів.

Таким чином, основним претендентом на роль маркера для з'ясування особливостей перебігу та результатів лікування корів, хворих на різні форми маститу, залежно від наявності в їхньому генотипі генетичних варіантів гена *BoLA-DRB3.2* необхідно опиратися на \*26 алель. За умови введення певних обмежень допускається використання *BoLA-DRB3.2\*24*.

Для підтвердження цього вибору розглянемо попередні дослідження в даному напрямку. В одному з перших вітчизняних досліджень для виявлення алелів гена *BoLA-DRB3.2*, які мають тісний зв'язок з маститом у корів української чорно-рябої молочної породи, встановлено два варіанти, що можуть слугувати відповідними генетичними маркерами. Це алелі *BoLA-DRB3.2\*24* ( $P_a = 0,117$ ;  $RR = 2,17$ ;  $\chi^2 = 4,33$ ;  $P < 0,05$ ) і \*26 ( $P_a = 0,054$ ;  $RR = 4,62$ ;  $\chi^2 = 7,13$ ;  $P < 0,01$ ) [216].

Окрім того є декілька зарубіжних робіт, де приводяться дані про генетичну асоціацію варіанту *DRB3.2\*26* з різними формами маститу. Генотипування

лейкоцитарного антигену великої рогатої худоби BoLA-DRB3.2 у корів норвезької червоної породи показало, що алелі \*22 та \*26 пов'язані зі збільшенням ризику клінічного маститу [136]. Такі ж генетичні маркери демонструють асоціацію з клінічним маститом у тварин породи *Bos indicus* та їх гібридних помісів [143]. На важливість асоціації алеля BoLA-DRB3.2, зокрема на його зв'язок із клінічним маститом та соматичними клітинами молока наголошується в дослідженні канадських голштинів, хоча генетичний варіант DRB3.2\*26 не був ключовим у цій роботі [192].

На стійкість корів УЧРМ в дослідному стаді, як індикатор може бути використано алель BoLA-DRB3.2\*28 ( $P_a = 0,125$ ;  $RR = -8,8$ ;  $\chi^2 = 8,31$ ;  $P < 0,01$ ). Безпосередні підтвердження, що BoLA-DRB3.2\*28 прямо асоціюється зі стійкістю або схильністю до маститу, у широких дослідженнях на чорно-рябих чи інших молочних породах відсутні.

Однак, багато авторів підкреслюють зв'язок між алелями гена BoLA-DRB3.2 і кількістю соматичних клітин в молоці корів, а також запальними станами молочної залози. Висока генетична кореляція (0,72) встановлена між клінічним маститом і рівнем КСК протягом лактації вказує на генетично сприятливий взаємозв'язок між цими ознаками [190]. Дослідження можливих варіантів алелів DRB3-локусу пов'язаних з маститом УЧРМ, проведених з використанням КСК показали, що генетичний варіант BoLA-DRB3.2\*28 ( $P_a = 0,076$ ;  $RR = -4,14$ ;  $\chi^2 = 6,17$ ;  $P < 0,05$ ) витримує перевірку на зв'язок з низьким рівнем соматичних клітин [215].

Для оцінки впливу генотипу корів на результати лікування різних форм маститу доцільно враховувати алельні варіанти гена BoLA-DRB3.2, які характеризується високим рівнем поліморфізму та відіграють важливу роль у формуванні імунної відповіді організму. З огляду на це, у дослідженні запропоновано зосередити увагу на алелях \*24, \*26 та \*28, які, за даними аналізу, мають генетичну значущість і можуть бути пов'язані з особливостями перебігу захворювання та ефективністю терапевтичних заходів.

Враховання цих алельних варіантів дозволяє провести більш обґрунтовану

оцінку взаємозв'язку між генетичними особливостями тварин і результатами лікування маститу різних клінічних форм і перебігу. Передбачається, що наявність виявлених генетичних варіантів алелів гена *BoLA-DRB3.2* в генотипах корів може впливати на характер імунної відповіді, швидкість елімінації збудника та відновлення тканин вим'я, що, своєю чергою, позитивно вплине на ефективність лікування.

Отже, використання інформації про алельні варіанти \*24, \*26 та \*28 дає змогу не лише уточнити роль генетичних факторів у формуванні індивідуальної чутливості або стійкості до маститу, але й підвищити обґрунтованість оцінки результатів лікування.

#### Висновки.

1. Вперше у корів української червоної молочної породи досліджено поліморфізм гена *BoLA-DRB3* (екзон 2). Ідентифіковано 34 алелі, серед яких домінував *BoLA-DRB3.228\** ( $P_a = 0,093$ ). Встановлено, що алель *BoLA-DRB3.2\*26* ( $P_a = 0,067$ ;  $RR = 8,28$ ;  $P < 0,001$ ) асоційований зі схильністю до маститу, тоді як *BoLA-DRB3.2\*28* ( $RR = -3,24$ ;  $P < 0,05$ ) – зі стійкістю до захворювання.

2. У дослідному стаді української чорно-рябої молочної породи встановлено алелі сприйнятливості (*BoLA-DRB3.2\*24* і \*26;  $P < 0,05$ ) та стійкості до маститу (*BoLA-DRB3.2\*28*;  $P < 0,01$ ).

Результати дослідження опубліковано в статтях:

1. **Bandura, V. V., & Suprovych, T. M.** (2025). Ordering of alleles “without specific nomenclature” of *BoLA-DRB3* exon 2 gene obtained by PCR-RFLP. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького*, 27(103), 88–96.

<https://nvlvet.com.ua/index.php/agriculture>

2. Suprovych, T. M., Salyha, Yu. T., Suprovych, M. P., Fedorovych, Ye. I., Fedorovych, V. V., Laiter-Moskaliuk, S. V., Tokarchuk, T. S., & **Bandura, V. V.** (2024). Genetic diversity of the Ukrainian black-and-white dairy breed population by the *BoLA-DRB3* gene under the effect of Holsteinization. *Cytology and Genetics*, 58, 560–

571. <https://doi.org/10.3103/S0095452724060100>

3. Suprovych, T. M., Suprovych, M. P., **Bandura, V. V.**, & Chornyi, I. O. (2023). Генетичні дослідження великої рогатої худоби на основі ДНК-маркерів. *Podilian Bulletin: Agriculture, Engineering, Economics*, (38), 192–202. DOI: <https://doi.org/10.37406/2706-9052-2023-1.29>

4. **Bandura, V. V.**, & Suprovych, T. M. (2025). Генетичний профіль української червоної молочної породи за геном BoLA-DRB3. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних лікарських засобів та кормових добавок та Інституту біології тварин*, 26(2), 23–32. <https://doi.org/10.36359/scivp.2025-26-2.03>

### **3.2. Клініко-патогенетичні особливості маститу корів в дослідних господарствах**

#### **3.2.1. Поширеність та моніторинг різних форм маститу**

З метою наукового обґрунтування доцільності проведення дослідження та визначення необхідності реалізації поставлених завдань виконано аналіз поширення маститу в дослідному господарстві та Хмельницькій області.

За різними оцінками маститом в Україні хворіє майже кожна третя молочна корова. Дослідження, проведені на молочних фермах різних форм власності, показали, що захворюваність корів на мастит досить висока – 28,3%, з клінічною формою перебігу 13,2%, а субклінічною – 86,8% [211]. Від 20 до 50% кількості вибракуваних тварин складають хворі на мастит корови [60].

Результати мікробіологічних моніторингових досліджень проб молока з різних регіонів України проведених в лабораторії захворювань бактеріальної етіології науково-дослідного бактеріологічного відділу ДНДІЛДВСЕ показали позитивну динаміку до щодо зростання поширеності маститів корів, про що свідчило зростання КСК від 12,1% у 2018 р. до 41,5% у 2021 р. Найвищі показники КСК спостерігали у корів із тваринницьких господарств Кіровоградської (3,8% від досліджених), Рівненської (1,4%), Полтавської (1,3%), і Харківської (0,5%), відповідно. Мікробіологічні показники із тваринницьких

господарств Хмельницької області, наведені в табл.3.5. Загалом значення цих показників характеризувалися відносно невисоким рівнем, однак вони підтверджували наявність проблеми маститу на молочних фермах [81].

Виявлені показники корелюють з даними поширення основних збудників маститу корів в господарствах виробників молока західного регіону України. Так у період лактації із секрету хворих чверток вим'я корів найчастіше виділяються бактерії роду *Streptococcus* (47,7%) та *Staphylococcus* (45,5%), що свідчить про їх головну етіологічну роль у виникненні субклінічного маститу. Також спостерігали наявність субклінічного маститу змішаної етіології (стрептококи, стафілококи, колиформи) відповідно в 6,8 і 8,3% випадків [117].

Таблиця 3.5

Мікробіологічні показники досліджень на виявлення маститів та мікробіологічної стабільності зразків молока корів Хмельницької області за період 2018 – 2022 рр.

Регіон	Кількість проб на КСК	Бактеріальна забрудненість молока (БЗМ)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.
Хмельницька область	1798	-	26	34	5	-	2	-
Україна, всього	85578	90760	13004	14850	13178	414	1136	334

Для уточнення стану захворюваності в дослідному господарстві розглянемо динаміку поширення прихованих форм маститу в Хмельницькій області у 2024 і 2025 роках. Результати показані в табл.3.6 отримано за звітами Головного управління Держпродспоживслужби в Хмельницькій області, а розрахунки частки обстежених корів і частота маститів розраховані автором.

Отримані результати щодо поширення маститу певною мірою відрізняються від даних Держпродспоживслужби попередніх років. В аналогічному аналізі трьох реформованих районів області за 2021-2023 роки середнє значення виявлення субклінічних маститів склало 28,9%, відповідно по роках: 2021 –

31,7% 2022 – 29,1% і 2023 – 28,0% [39]. В іншій роботі показано, що у корів Хмельницької області на субклінічний перебіг хворіло 29,9%, а клінічний – 20,8% протестованих корів [36].

Таблиця 3.6

Дослідження прихованих форм маститу корів в господарствах  
Хмельницької області за 2024 – 2025 роки

Назва дільничної лікарні (ДЛ)	Обліковано корів		Досліджено корів на СКМ		Виявлено хворих корів		Частка обстежених корів, %		Частота маститів, %	
	2024	2025	2024	2025	2024	2025	2024	2025	2024	2025
Дільничні лікарні	2024	2025	2024	2025	2024	2025	2024	2025	2024	2025
Білогірська ДЛ	4095	4584	3444	3755	-	-	84,1	81,9	-	-
Віньковецька ДЛ	844	782	568	538	80	85	67,3	68,8	14,1	15,8
Волочиська ДЛ	2438	2315	1954	1950	368	338	80,1	84,2	18,8	17,3
Городоцька ДЛ	893	908	756	830	65	72	84,7	91,4	8,6	8,7
Деражнянська ДЛ	745	816	669	734	195	245	89,8	90,0	29,1	33,4
Дунаєвецька ДЛ	944	998	704	738	159	121	74,6	73,9	22,6	16,4
Ізяславська ДЛ	1125	1144	974	1050	160	178	86,6	91,8	16,4	17,0
Кам'янець-Подільська ДЛ	288	314	222	255	47	-	77,1	81,2	21,2	-
Красилівська ДЛ	2033	1951	1636	1604	329	346	80,5	82,2	20,1	21,6
Летичівська ДЛ	506	521	455	439	81	42	89,9	84,3	17,8	9,6
Новоушицька ДЛ	7	6	7	6	-	-	100	100	-	-
Полонська ДЛ	766	766	622	612	145	170	81,2	79,9	23,3	27,8
Славутська ДЛ	1660	1743	1376	1406	435	485	82,9	80,7	31,6	34,5
Старокостянтинівська ДЛ	1518	1703	1354	1547	249	244	89,2	90,8	18,4	15,8
Старосинявська ДЛ	570	584	468	490	57	80	82,1	83,9	12,2	16,3
Теопільська ДЛ	3541	3339	2549	2927	174	100	72,0	87,7	6,8	3,4
Хмельницька ДЛ	2934	3350	2080	2986	79	42	70,9	89,1	3,8	1,4
Чемеровецька ДЛ	1800	2097	1610	1675	28	-	89,4	79,9	1,7	-
Шепетівська ДЛ	1606	1667	830	1330	28	40	51,7	79,8	3,4	3,0
Ярмолинецька ДЛ	126	142	88	97	-	-	69,8	68,3	-	-
<b>Всього:</b>	<b>28439</b>	<b>29730</b>	<b>22366</b>	<b>24969</b>	<b>2679</b>	<b>2588</b>	<b>78,6</b>	<b>84,0</b>	<b>15,9</b>	<b>16,1</b>

*Примітка.* В рядку «Всього» частота маститів визначена лише за даними ДЛ, які надали показники кількості випадків маститу

Зменшення частоти маститів можна пояснити двома факторами. По-перше, в таблиці відсутні дані про кількість виявлених маститів від Білогірської ДЛ з провідного району по виробництву молока в області, в якому розташовані найбільші його виробники, зокрема ТОВ НВА «Перлина Поділля» і філія «Рідний край» ПрАТ «Зернопродукт МХП, що склало 14,4 і 15,4% по рокам звіту.

Наявність значної частки нульових значень деформує середні показники та вказує на структурні диспропорції розвитку окремих територій. По-друге, значно поліпшився виробничий менеджмент молочних ферм області, хоча у ряді районів, де реєструвався найбільший рівень захворюваності (понад 30%), відмічається зростання частки корів з патологією молочної залози. За даними сайту Agravery попри складні умови, українські ферми продовжують демонструвати вражаючу стійкість, технологічність і прагнення до ефективності. Станом на 1 січня 2025 року середній надій на корову за рік в промисловому секторі становив 8167 кг на одну голову, що на 20% більше, ніж у 2021 році (<https://agravery.com/uk/posts/show/nazvano-20-najproduktivnisih-molocnih-ferm-ukraini-v-2025-roci>).

Статистична обробка даних за 2021-2025 рр. щодо частоти виявлених форм прихованого маститу, виконана у програмному пакеті PAST для 20 дільничних лікарень, показала високу міжтериторіальну диференціацію. Це підтверджується значними значеннями стандартного відхилення та коефіцієнта варіації, який у всі роки перевищував 70%. Динаміка середніх значень була нестійкою: мінімальне значення спостерігалось у 2025 році (12,1), а максимальне – у попередньому (13,5), що свідчить про змінний характер розвитку досліджуваного показника в регіоні.

У межах зазначених тенденцій за середнім рівнем частки виявлених маститів у 2021-2025 рр. Дунаєвецька ДЛ знаходиться на 6 місці серед 20 лікарень Хмельницької області, що дозволяє характеризувати групу господарств, розташованих на території колишнього Дунаєвецького району з рівнем розвитку вище середнього та відносно стабільною динамікою.

### 3.2.2. Особливості перебігу маститу корів у дослідному господарстві

Як зазначалося раніше, основні дослідження проведено на базі ТОВ імені Богдана Хмельницького. Для аналізу використано дані про стан захворюваності маститом за період з 2023 по 2025 роки. Результати динаміки показників виявлення даної патології у корів дослідного господарства показано в табл.3.7.

Аналіз таблиці показав сталу тенденцію до зменшення чисельності дійного стада на 5,7%. Частка обстежених корів була високою, у середньому 92,8%, що свідчить про системний характер діагностичних заходів і дозволяє вважати отримані дані репрезентативними.

Таблиця 3.7

Захворюваність корів на мастит в ТОВ імені Богдана Хмельницького  
в 2023-2025 роках

Роки	Дійне стадо (голів) / обстежено корів, %		Хворі на мастит		Форми маститів			
					субклінічний		клінічний	
	голів	%	голів	%	голів	%	голів	%
2023	157	91,1	59	37,6	42	26,8	17	10,8
2024	151	94,7	54	35,8	38	25,2	16	10,6
2025	148	92,6	52	35,1	36	24,3	16	10,8
<b>Середнє за 3 роки</b>	<b>152</b>	<b>92,8</b>	<b>55</b>	<b>36,2</b>	<b>38,7</b>	<b>25,4</b>	<b>16,3</b>	<b>10,7</b>

Кількість корів, хворих на мастит, мала виражену закономірність до зниження на 11,9% у абсолютному вираженні та на 2,5%, у відносному. Середній рівень захворюваності за три роки становив 36,2%, що незважаючи на позитивну динаміку, характеризує мастит як поширену патологію в стаді.

У структурі захворюваності домінувала субклінічна форма, частка якого поступово зменшувалася. Зниження кількості випадків субклінічного маститу за три роки склало 14,3%, що вказує на позитивну, але повільну тенденцію до покращення стану здоров'я вим'я у дослідному господарстві. Клінічний мастит

характеризувався майже незмінним рівнем з середнім показником 10,7%. Це свідчить про відсутність вираженої тенденції до зниження клінічних форм та можливу трансформацію частини субклінічних випадків у клінічні.

Розподіл субклінічної та клінічної форм маститу істотно не змінювався залежно від сезонного чинника (рис.3.3). Пікові значення патології спостерігалися у I кварталі, тоді як найнижчі – у III, з перевищенням у 2,5-3 рази.

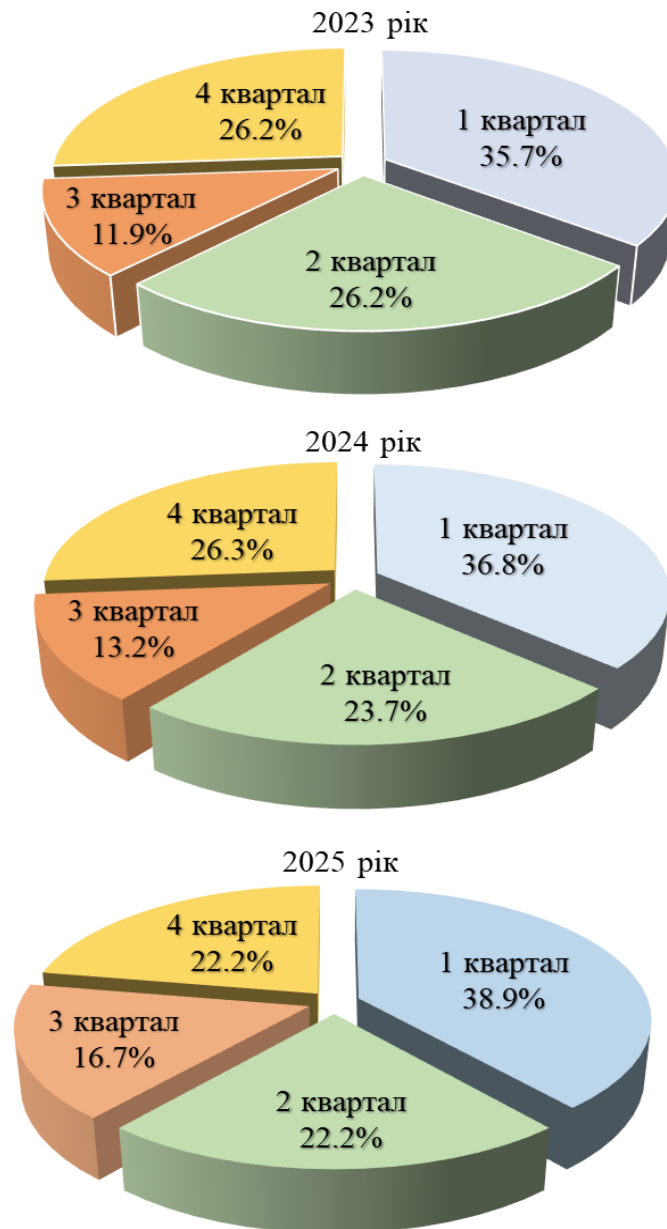


Рис.3.3. Поквартальна динаміка маститів з різними формами перебігу за останні три роки

В нашому дослідженні, як і в більшості інших даних з наукових джерел встановлено, що найбільш сприятливими для розвитку захворювання були

холодні періоди року. Зокрема, на піврічний період з 15 жовтня до 15 квітня припадало до 70 % усіх зареєстрованих випадків патології вим'я. Це свідчить про те, що неоптимальні умови мікроклімату в приміщенні ферми, зокрема низькі температури, висока вологість та погана якість повітря, значно підвищують захворюваність молочних корів, збільшуючи частоту маститу.

Холодне, вологе зимове середовище викликає стрес, який пригнічує імунну функцію та створює умови ризику зростання захворюваності (до 63,8%) взимку. Висока вологість (вище норми на 6,6-9,6%) та низька температура навколишнього середовища (нижче 5°C) збільшують частоту виникнення маститу, сприяючи росту бактерій у підстилці та збільшенню кількості соматичних клітин [58].

Як було показано в табл. 3.7, у 2025 році виявили 36 випадків субклінічного та 16 випадків клінічного перебігу маститу. Розподіл обох форм захворювання показано на рис.3.4. При дослідженні встановлено максимальну частоту маститів у тварин третьої та четвертої лактації, з рівнем інфікування понад 30%, тоді як у

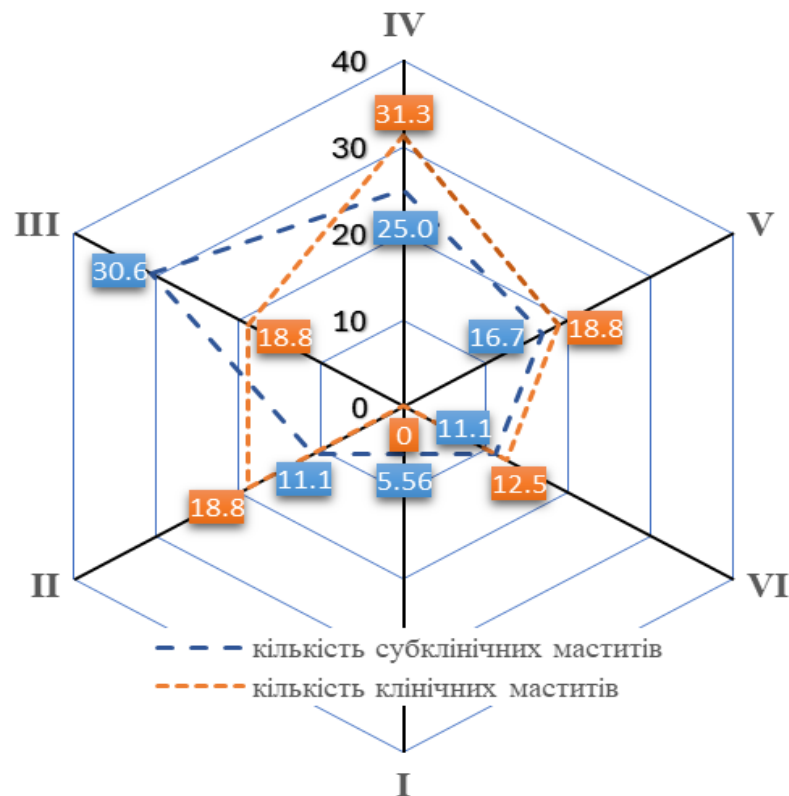


Рис.3.4. Розподіл форм маститу залежно від лактації корів у 2025 р.

інші періоди продуктивного використання корів у стаді спостерігалися нижчі значення. До третьої лактації корови часто досягають піку виробництва молока. Фізіологічне напруження від значної молоковіддачі в поєднанні з потенційним накопичувальним рубцюванням вимені від попередніх циклів лактації знижує імунітет до інфекцій [175].

При дослідженні клінічного маститу у корів господарства спостерігалися наступні форми його перебігу (табл.3.8).

У розрізі останніх трьох років у господарстві сумарно було виявлено 49 випадків захворювання, відповідно, у 2023 – 17, а в 2024 та 2025 роках – по 16 випадків, що свідчить про відносно стабільний рівень поширення клінічної патології у стаді протягом досліджуваного періоду.

Таблиця 3.8

Форми клінічного маститу корів в ТОВ ім. Богдана Хмельницького

Форма маститу	2023 р.		2024 р.		2025 р.		Всього	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Серозна	4	23,5	3	18,8	2	12,5	9	18,4
Катаральна	9	52,9	10	62,5	11	68,7	30	61,2
Гнійно-катаральна	4	23,5	3	18,8	3	18,8	10	20,4
Всього	17	100	16	100	16	100	49	100

Серед форм захворюваності переважала катаральна форма маститу, на яку припадало 30 випадки, що становить 61,2% від загальної кількості. У динаміці відзначається тенденція до зростання питомої ваги цієї форми: з 52,9% у 2023 році, до 62,5% у 2024 році та 68,7% у 2025 році. Гнійно-катаральна форма маститу була другою за частотою виявлення – 10 випадків (20,4%). На перший рік дослідження її частка становила 23,5%, з подальшою стабілізацією на рівні 18,8% у 2024 і 2025 роках.

Серозну форму маститу було діагностовано у 9 корів (18,4%), з тенденцією до зменшення частоти з 23,5% у 2023 році до 18,8% та 12,5% в останні два роки спостережень.

Отримані дані показали, що профілактичні та лікувальні заходи в агроформуванні переважно впливають на ранні та приховані форми маститу, тоді як клінічні прояви захворювання залишаються на сталому рівні, що обґрунтовує необхідність подальшого вдосконалення системи лікування та профілактики патології молочної залози в дослідному господарстві.

Отже, моніторинг стану захворюваності молочної залози упродовж експериментального періоду дозволив виявити домінування катаральної форми клінічного маститу з тенденцією до зростання, що може свідчити про перехід початкових форм запалення у більш складні або про вплив виробничих факторів на перебіг патологічного процесу. Зниження частоти серозної форми, імовірно, зумовлене як особливостями діагностичного підходу, так і характером перебігу захворювання. Отримані результати свідчать про доцільність удосконалення профілактичних заходів і системи ранньої діагностики маститу в стаді.

Висновок.

Рівень захворюваності корів на мастит у ТОВ імені Богдана Хмельницького в 2023-2025 рр. мав середній показник 36,2% із переважанням субклінічної форми (25,4%) над клінічною (10,7%). В динаміці дослідження виявлено зниження загальної захворюваності на 11,9%, тоді як поширення клінічного маститу стабілізувалось. У структурі клінічних форм домінувала катаральна форма 61,2%.

### **3.3. Етіологічна структура субклінічного та клінічного перебігу маститу корів**

У межах проведених досліджень було здійснено бактеріологічний аналіз 20 зразків молока, відібраних від корів із субклінічним маститом, за результатами якого ідентифіковано 43 епізоотичних штами мікроорганізмів (табл. 3.9). Аналіз мікробного пейзажу показав, що виділена мікрофлора характеризувалася значною різноманітністю та полімікробним характером. У структурі мікробіоценозу домінуюче положення займали коагулазонегативні стафілококи, частка яких становила 37,2%, *Escherichia coli* – 20,9 % та *Staphylococcus aureus* –

16,7%. Встановлено, що у переважній більшості випадків ізольовані мікроорганізми функціонували у складі мікробних асоціацій, що свідчить про їх потенційний синергічний вплив на розвиток та перебіг ІМІ в молочній залозі. Монокультури реєструвалися досить рідко, що підтверджує складний етіологічний характер маститу.

Дослідження видового складу мікрофлори залежно від клінічної форми захворювання показало наявність певних відмінностей у домінуванні патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів. Зокрема, за катаральної форми маститу провідну роль в етіології захворювання відігравали *Staphylococcus aureus* (21,9%) та *Escherichia coli* (19,5%), що зумовлювало розвиток вираженої запальної реакції та порушення секреторної функції молочної залози [32, 175].

Таблиця 3.9

Обсмінення секрету вим'я патогенними мікроорганізмами при різних формах маститу у корів

Мікроорганізми	Форма маститу					
	субклінічна (n = 20)		катаральна (n = 12)		гнійно-катаральна (n = 8)	
	кількість ізолятів	%	кількість ізолятів	%	кількість ізолятів	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	16,7	9	21,9	4	14,8
<i>Коагулазонегативні стафілококи (CoNS)</i>	16	37,2	8	19,5	3	11,1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	-	1	2,4	5	18,5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	4,7	4	9,8	4	14,8
<i>Streptococcus uberis</i>	3	6,9	3	7,3	2	7,4
<i>Escherichia coli</i>	9	20,9	8	19,5	4	14,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	3	7,3	2	7,4
Інші	6	14,0	5	12,1	3	11,1

У випадках гнійно-катаральної форми маститу мікробний спектр характеризувався переважанням *Streptococcus agalactiae* (18,5%), що вказує на його високу патогенність та здатність індукувати деструктивні зміни тканин молочної залози. Крім того, перебіг захворювання ускладнювали *Streptococcus*

*pyogenes* (14,8%) та *Escherichia coli* (14,8%), які сприяли поглибленню запального процесу та розвитку некротичних уражень. *Staphylococcus aureus* було ідентифіковано у половині з 8 досліджених проб, що підтверджує його суттєву роль у розвитку та прогресі тяжких форм маститу, зокрема у формуванні більш виражених запальних процесів і ускладненні перебігу захворювання. Особливої уваги заслуговує часте виділення *Pseudomonas aeruginosa* (7,4%) за гнійної форми захворювання по зрівнянню з іншими формами маститу, оскільки в останні роки даний мікроорганізм набув властивостей істинного патогена та характеризується підвищеною резистентністю до антимікробних препаратів.

Узагальнюючи отримані результати, слід зазначити, що у корів, хворих на мастит, *Staphylococcus aureus* ізолювали у 18% досліджених проб, тоді як коагулазонегативні стафілококи реєструвалися у 24,3% випадків (рис. 3.5).

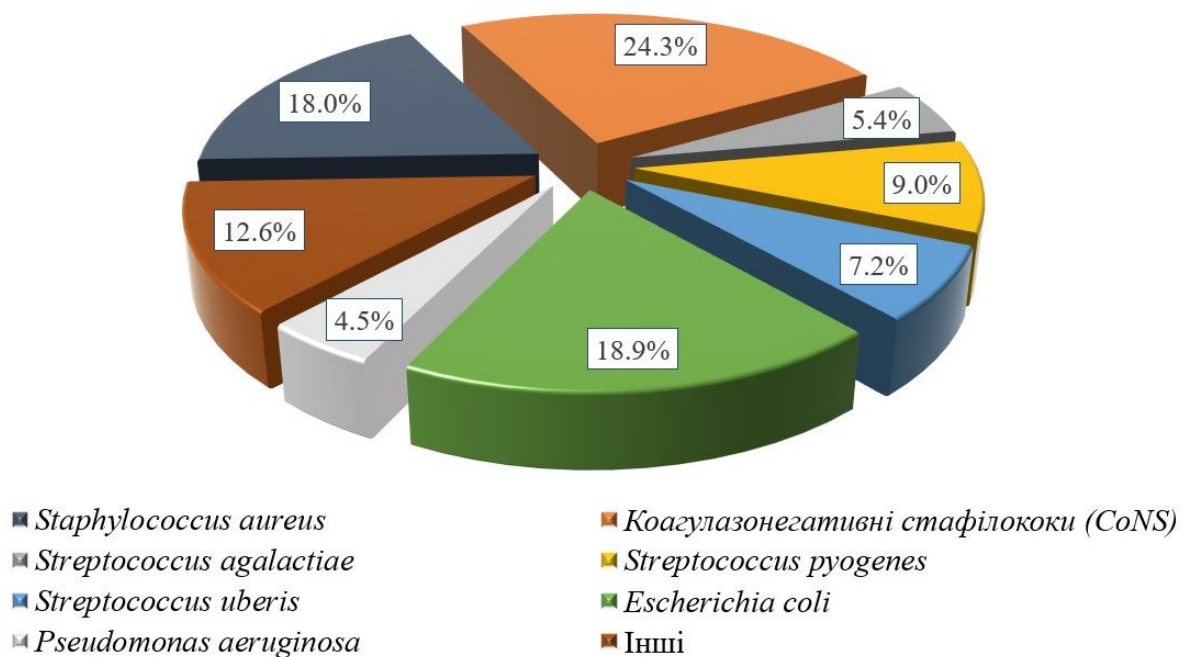


Рис.3.5. Мікробний профіль секрету вим'я корів, хворих на мастит

Мікроорганізми роду *Streptococcus* переважно виділялися за клінічно вираженого перебігу захворювання, що підтверджує їх важливу роль у патогенезі маститу. Водночас *Escherichia coli* була присутня у значній кількості за всіх форм маститу, що свідчить про її універсальну участь у розвитку запального процесу

молочної залози незалежно від клінічної форми захворювання. Отримані дані підтверджують багатофакторний та полімікробний характер етіології маститу корів та доводять необхідність інтегрованого та системного підходу до діагностики і лікування даної патології.

Нами перевірено чутливість виділених ізолятів *Staphylococcus aureus* ( $n = 20$ ) до антибіотиків різних фармакологічних груп методом дифузії в агар (Kirby-Bauer). Цей підхід дозволив визначити препарати з високою терапевтичною ефективністю та оцінити поширення резистентних штамів у господарстві (рис.3.6).

















Препарат	Чутливість	
<i>Amoxicillin</i>		90%
<i>Cefoxitin</i>		85%
<i>Enrofloxacin</i>		85%
<i>Ciprofloxacin</i>		80%
<i>Novobiocin</i>		75%
<i>Cephalothin</i>		70%
<i>Nitrofurantoin</i>		70%
<i>Kanamycin</i>		65%
<i>Erythromycin</i>		60%
<i>Oxytetracycline</i>		55%
<i>Carbenicillin</i>		45%
<i>Streptomycin</i>		45%
<i>Vancomycin</i>		45%
<i>Ceftiofur</i>		35%
<i>Amoxicillin</i>		30%
<i>Tetracycline</i>		25%

Рис. 3.6. Чутливість виділених ізолятів *Staphylococcus aureus* до антибіотиків ( $n = 20$ )

Найбільшу чутливість виділені культури золотистого стафілококу показали до Амоксициліну (90%), Цефокситину, Енрофлоксацину (85%) та Ципрофлоксацину (80%). До антибактеріальних препаратів таких, як Цефалотін, Еритроміцин, Канаміцин, Нітрофурантоїн, Новобіоцин епізоотичні штами *Staphylococcus aureus* були чутливі в межах 60-75%. До інших використаних нами антибіотиків (Амікацин, Карбеніцилін, Окситетрациклін, Стрептоміцин, Тетрациклін, Ванкоміцин) отримані культури збудника проявили помірну резистентність.

#### Висновки.

1. Бактеріологічне дослідження молока засвідчило полімікробний характер етіології інтрамамарних інфекцій та її залежність від структури мікробного складу і клінічного перебігу захворювання. При субклінічній формі захворювання домінували коагулазонегативні стафілококи (37,2%), *Escherichia coli* (20,9%) та *Staphylococcus aureus* (16,7%), за катаральної форми провідними збудниками були *Staphylococcus aureus* (21,9%) і *Escherichia coli* (19,5%), а за гнійно-катаральної форми зросла етіологічна значущість *Streptococcus agalactiae* (18,5%) та асоційованих стрептококів (до 18,5%).

2. Аналізом антибіотикочутливості встановлено високу ефективність амоксициліну (90%), цефтіофуру цефокситину та фторхінолонів (80-85%) до *Staphylococcus aureus* при одночасному формуванні помірної резистентності золотистого стафілокока до 30% застосованих антибактеріальних препаратів.

Результати дослідження опубліковано в статті:

1. Бандура, В. В., & Супрович, Т. М. (2026). Паратипові чинники маститу корів в умовах фермерського господарства. *Подільський вісник: сільське господарство, техніка, економіка*, (50). С.282-288 DOI <https://doi.org/10.37406/2706-9052-2026-1-39>

### **3.4. Особливості клінічних проявів та ефективності лікування патологій молочної залози у корів з урахуванням алелів гена BoLA-DRB3**

#### **3.4.1. Перебіг захворювання молочної залози корів з урахуванням алелів гена BoLA-DRB3**

Одним із завдань дисертаційної роботи було з'ясування особливостей перебігу за різних форм маститу та результатів лікування хворих корів в залежності від наявності в їхньому генотипі алелів гена BoLA-DRB3.2. У зв'язку з цим нами було визначено алелі, на які доцільно орієнтуватися при проведенні експерименту: для сприйнятливих до маститу корів алель BoLA-DRB3.2\*26 (основний варіант) і \*24 (додатковий варіант), а для стійких – алель \*28 (див. розділ 3.1.3).

За результатами дослідження алельного поліморфізму гена BoLA-DRB3 встановлено індивідуальні генотипи 52 протестованих корів, на основі яких сформовано 4 групи для проведення дослідів. Серед 26 тварин, схильних до захворювання, ідентифіковано 18 корів, з яких в залежності від тяжкості патологічного процесу сформували три групи: з гострою катаральною (табл.3.10) та гнійно - катаральною (табл.3.11) формами маститу, а також із субклінічним перебігом захворювання (табл.3.12).

Поділ клінічних форм маститу на гостру катаральну та гнійно-катаральну дозволив диференційовано оцінити особливості перебігу патологічного процесу з урахуванням маркерних алелів гена BoLA-DRB3 пов'язаних з чутливістю до захворювання.

Перша група корів із гострою катаральною формою маститу включала тварин з характерними ознаками: уражена частка вим'я була збільшена, гаряча, болюча. В товщі частки промацувалося 1 – 2 щільних вузли. Молоко було водянисте, містило пластівці та згустки казеїну. У 12 відібраних корів 4 тварини мали в генотипі алель BoLA-DRB3.2\*26 і три – алель \*24.

У другу групу відібрано корів з гострою гнійно-катаральною формою маститу, у яких реєстрували виражені клінічні ознаки запалення, зокрема: загальне пригнічення тварини, зниження апетиту, підвищення температури тіла до 41<sup>0</sup>С, різке зниження молокоутворення. Уражена частка вим'я збільшена в

об'ємі, почервоніла, напружена, гаряча, болюча. Лімфатичні вузли збільшені. З ураженої частки молоко не виділялося, або секрет був жовтий з червонуватим відтінком, з згустками казеїну. У двох тварин був присутнім маркерний алель VoLA-DRB3.2\*26 в гетерозиготному стані. Одна із корів (вушна бирка № 2104) взагалі мала гомозиготний варіант DRB3.2\*24/\*24.

При дослідженні генотипу у 10 корів з субклінічною формою маститу було встановлено, що у більшості тварин також проявилися алелі VoLA-DRB3.2\*26 і \*24, в інших 4 корів були присутні «нейтральні» алелі, які в наших дослідженнях не проявили достовірного зв'язку ні з сприйнятливістю, ні зі стійкістю до маститу, та у генотипі однієї корови проявилися одночасно алелі VoLA-DRB3.2\*26 і \*28 з протилежними асоціаціями.

Таблиця 3.10

Алелі гена VoLA-DRB3 у корів з катаральною формою маститу ( $n = 12$ )

Кличка	Номер		К-сть лактацій	Добовий надій, кг	Генотип	
	вушної бирки	зразка крові			Алель	Алель
Нюра	6057	1	4	25	26	51
Орлена	6072	4	4	и26	11	24
Хвилька	1312	5	3	27	22	26
Вірна	1746	9	4	26	26	43
Дана	3881	13	3	28	22	24
Модель	6040	14	3	25	22	24
Кава	5664	20	3	27	11	26
Утіха	6129	21	2	28	03	36
Квітка	5556	23	3	25	14	28
Зоря	5110	25	4	24	16	48
Ада	2133	11	3	20	48	97
Берегиня	1840	16	4	20	17	25

*Примітка.* Нумерація зразків крові в межах добірки хворих корів

Для порівняльної оцінки за принципом випадкового (стохастичного) відбору було сформовано контрольну вибірку здорових корів (табл. 3.13), у яких рівень кількості соматичних клітин у молоці не перевищував 150 тис. кл./мл.

Таблиця 3.11

Алелі гена BoLA-DRB3 у корів з гнійно-катаральною формою маститу ( $n = 3$ )

Кличка	Номер		К-сть лактацій	Добовий надій, кг	Генотип	
	вушної бирки	зразка крові			Алель	Алель
Аріна	2104	6	2	25	24	24
Грація	1733	10	3	27	26	48
Зозулька	0808	19	4	26	22	26

*Примітка.* Нумерація зразків крові в межах вибірки хворих корів

При визначенні алельного поліморфізму було встановлено, що 60% тварин цієї групи мали \*28 алель, який в наших дослідженнях асоціюється із резистентністю до захворювання. Для однієї корови за цим алелем встановлено гомозиготний генотип. Крім того, корова з вушною биркою № 1745 у своєму генотипі має алелі, які проявляють асоціативний зв'язок як з резистентністю, так і з сприйнятливістю до патології молочної залози. Клінічними дослідженнями на протязі двох лактацій у неї не було виявлено ознак захворювання вим'я, що не виключає вірогідності прояву маститу при подальшому використанні її в дійному стаді.

Таблиця 3.12

Алелі гена BoLA-DRB3 у корів з субклінічним перебігом маститу ( $n = 10$ )

Кличка	Номер		К-сть лактацій	Добовий надій, кг	Генотип	
	вушної бирки	зразка крові			Алель	Алель
Богема	5716	2	2	28	32	54
Хортиця	6113	8	4	26	11	43
Тоска	6137	17	4	27	17	19
Краля	5677	7	5	23	25	26
Соня	0777	15	6	19	22	26
Мушка	5967	18	3	28	08	11
Велика	2319	12	6	23	16	24
Хмара	3344	3	5	23	24	17
Зірка	3713	24	5	24	24	21
Крива	5512	26	3	21	26	28

*Примітка.* Нумерація зразків крові в межах вибірки хворих корів

Результати дослідження поліморфізму гена BoLA-DRB3 засвідчили, що у клінічно здорових корів у структурі генотипів домінує алель \*28, асоційований із підвищеною резистентністю до маститу. Водночас у міру розвитку та ускладнення інфекційно-запального процесу в молочній залозі спостерігається тенденція до зменшення частки резистентних тварин і зростання кількості корів із субклінічними та клінічно вираженими формами захворювання.

Таблиця 3.13

Алелі гена BoLA-DRB3 у здорових корів ( $n = 10$ )

Кличка	Номер		К-сть лактацій	Добовий надій, кг	Генотип	
	вушної бирки	зразка крові			Алель	Алель
Чарівна	5002	18	3	29	03	19
Рубка	1714	10	5	27	03	28
Понка	1715	3	5	26	03	28
Чайка	2308	13	5	23	03	28
Пісня	2187	5	2	27	17	19
Анюта	1745	21	2	27	24	28
Іронія	1766	6	3	28	25	28
Біла	5993	26	2	27	28	28
Туманка	6138	9	4	28	28	52
Різка	5401	11	4	28	43	97

*Примітка.* Нумерація зразків крові в межах групи резистентних корів

Найбільш виражені зміни характерні для тварин пізніх лактацій, у яких зниження природної резистентності супроводжується підвищенням частоти запальних процесів у молочній залозі та більш частим переходом субклінічних форм маститу в клінічні, що, ймовірно, зумовлено віковими особливостями імунної відповіді та тривалим впливом несприятливих умов утримання й експлуатації; у сукупності це свідчить про значну роль імуногенетичних чинників у формуванні індивідуальної сприйнятливості до захворювання та обґрунтовує доцільність використання алельного поліморфізму BoLA-DRB3 як молекулярно-генетичного маркера оцінки резистентності тварин до маститу.

Висновок.

У корів хворих на субклінічний і клінічний перебіг маститу в генотипі виявляються алелі *BoLA-DRB3\*26* і *\*24*, тоді як у здорових корів виявляються алелі *BoLA-DRB3\*28*.

Результати дослідження опубліковано в статті:

1. **Bandura, V. V., & Suprovych, T. M. (2026).** Clinical and biological significance of DNA markers in mastitis in cows of the Ukrainian Red Dairy breed. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 9(1), 8–14. <http://ujvas.com.ua/>

### **3.4.2. Вплив комплексного лікування на морфологічні та біохімічні показники крові корів хворих на катаральний мастит**

Мета наступного етапу дослідження полягала у визначенні морфологічних та імунологічних показників крові для оцінки реакції імунної системи корів на комплексне лікування гострого катарального маститу в залежності від присутності у генотипі тварин алелів гена *BoLA-DRB3*, асоційованих із розвитком патологічного процесу. Було досліджено гематологічні показники в двох дослідних групах корів з урахуванням наявності/відсутності в їх генотипах генетичних маркерів чутливості до захворювання на основі алелів *BoLA-DRB3.2\*24*, *\*26* і *\*28* (табл.3.14).

До першої дослідної групи Д1 ( $n = 7$ ) увійшли тварини, які містили алелі гена *DRB3.2\*24*, *\*26* асоційовані з захворюванням молочної залози. Друга дослідна група була сформована з корів Д2 ( $n = 5$ ), в генотипі яких були присутні алелі гена *BoLA-DRB3*, слабо асоційовані з маститом.

Аналіз ґрунтувався на спостереженні протягом 9 днів за динамікою перебігу захворювання, оцінці впливу маркерних алелів на морфологічні показники крові та порівнянні отриманих результатів із показниками корів контрольної групи.

Таблиця 3.14

Гематологічні параметри та вміст загального протеїну у крові корів за  
гострою катаральною формою маститу,  $\bar{x} \pm SE$

Показники	Групи тварин		Період дослідження		
			до лікування	3-тя доба лікування	9-а доба лікування
Гемоглобін, г/л	контроль		114 ± 0,89		
	Д	Д1	97,0±4,07	103,9±4,07	114,3±4,3*
		Д2	101,2 ± 2,69	111 ± 1,06**	118,4 ± 4,4***
Еритроцити, 10 <sup>12</sup> /л	контроль		6,72 ± 0,18		
	Д	Д1	6,23±0,27	6,13±0,24	6,23±0,27
		Д2	6,06 ± 0,28	6,2 ± 0,31	6,26 ± 0,38
Лейкоцити, 10 <sup>9</sup> /л	контроль		7,15 ± 0,86		
	Д	Д1	13,2±0,79	12,2±0,75	11,0±0,71*
		Д2	12,9 ± 0,43	12,8 ± 0,38	12,2 ± 0,44*
Загальний протеїн, г/л	контроль		71,3 ± 2,56		
	Д	Д1	63,6±1,41	67,7±1,49	70,9±2,08
		Д2	64,6 ± 3,18	65,8 ± 3,69	69,2 ± 4,05

*Примітка.* \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ ; Д1 – дослідна група корів, в генотипі яких присутні алелі BoLA-DRB3.2\*24 і \*26,  $n = 7$ ; Д2 – дослідна група корів з алелями BoLA-DRB3.2 слабо асоційованими з маститом,  $n = 5$ ; контроль – здорові тварини,  $n = 5$ .

На 3-тю добу лікування достовірних змін гематологічних показників у крові хворих корів обох груп не спостерігалось. Зате на 9-ту добу відмічене достовірне підвищення рівня гемоглобіну на 17,8% ( $P < 0,05$ ) та зниження кількості лейкоцитів на 20% ( $P < 0,05$ ), що свідчить про згасання патологічного процесу. На початку дослідження у більшості тварин спостерігався підвищений рівень кількості лейкоцитів в межах від 11,0 до  $13,2 \times 10^9$ /л. У корів, які є носіями алеля BoLA-DRB3.2\*26, відзначалася тенденція до більш вираженого лейкоцитозу порівняно з тваринами, у генотипі яких був алель \*24. Але наприклад, у корови Дана (3881) з цим алелем було зафіксовано більш інтенсивний перебіг запального процесу та найвищий показник лейкоцитів у стаді ( $17,5 \times 10^9$ /л) на початку терапії. При наступному лікуванні для цієї корови

мали найкращу динаміку на 9-ту добу: вміст лейкоцитів скоротився до  $12,4 \times 10^9/\text{л}$ , або на 41,1%.

У всіх тварин на 3-тю добу лікування спостерігалось зниження рівня лейкоцитів до  $12,2 \times 10^9/\text{л}$ , однак у носіїв алеля \*26 цей показник залишався відносно підвищеним, що свідчить про збереження активності запального процесу. На 9-ту добу у більшості корів відмічене подальше зниження кількості лейкоцитів до рівня  $11,0 \times 10^9/\text{л}$  з поступовим згасанням запальної реакції. У тварин із алелем VoLA-DRB3.2\*24 нормалізація показника відбувалася з більш інтенсивною динамікою, що логічно пояснити менш сильною асоціацією між патологією вим'я з цим генетичним маркером за показником відносного ризику.

Про відсутність суттєвих порушень еритропоезу у корів свідчить відносно стабільна кількість еритроцитів, яка незалежно від генотипу тварин впродовж усього періоду знаходилася в межах фізіологічної норми ( $6,13-6,23 \times 10^{12}/\text{л}$ ).

Рівень гемоглобіну до початку лікування у корів першої дослідної групи був досить низьким (97 г/л). У процесі лікування відмічене поступове підвищення показника: на 3-тю добу – до 103,9 г/л, а на 9-ту добу – до 114,3 г/л. Аналогічні показники отримані для тварин групи Д2.

Характерною особливістю запального процесу є концентрація загального протеїну, яка на початку дослідження у окремих корів була заниженою (56-64 г/л). У подальшому часовому розрізі лікування відзначено її поступове підвищення: на 3-тю добу – до 65-67 г/л, а на 9-ту – до 69-71 г/л. У тварин з алелем \*24 реєстрували більш вагоме зростання показника.

У середньому у корів першої дослідної групи встановлено статистично достовірне зниження кількості лейкоцитів на 16-17 %, а також підвищення рівня гемоглобіну на 17-18 % та загального протеїну на 11-12 % на 9-ту добу лікування порівняно з початковими значеннями ( $P < 0,05$ ). Зміни в кількості еритроцитів були статистично незначущими. Нижчі показники ефективності лікування у корів, носіїв алеля VoLA-DRB3.2\*26, на наш погляд, обумовлені повільними процесами нормалізації лейкоцитів та відновлення гематологічних показників і більш тяжким перебігом запального процесу у цих тварин.

Важливим є результат порівняння гематологічних та біохімічних показників

крові у корів першої та другої дослідних груп, який дозволив виявити відмінності у вираженості запального процесу та швидкості відновлення досліджуваних параметрів у процесі лікування. У корів другої групи Д2 початковий рівень лейкоцитів становив  $12,9 \times 10^9/\text{л}$ , що є нижчим порівняно з групою Д1, що свідчить про менш запальну реакцію у молочній залозі корів цієї групи. У процесі лікування у тварин другої дослідної групи кількість лейкоцитів зменшилася на 5,7%, тоді як у корів першої дослідної групи – на 17% ( $P < 0,05$ ). Кількість еритроцитів в обох групах залишалася відносно стабільною. У корів групи Д1 відзначено підвищення показника на 20,3-30,3%, тоді як у тварин групи Д2 істотних змін не встановлено. Рівень гемоглобіну у корів другої групи характеризувався поступовим зростанням на 9,7% ( $P < 0,01$ ) на 3-тю добу та на 17% ( $P < 0,001$ ) на 9-ту добу лікування. У тварин першої групи підвищення показника було подібним за напрямком, однак з більшою динамікою на фоні початкових значень, що відображає глибші первинні порушення та активніше відновлення в процесі лікування. Концентрація загального протеїну корів Д2 в кінці лікування достовірно зросла на 7,1% ( $P < 0,05$ ), аналогічно як і в групі Д1, де підвищення було динамічнішим (до 12% при  $P < 0,05$ ).

Проведені дослідження показали, що наявність у генотипі хворих на клінічну форму маститу корів алелів гена *BoLA-DRB3.2\*26* і *BoLA-DRB3.2\*24* є істотними факторами впливу на інтенсивність запального процесу, характер змін гематологічних показників та ефективність лікування. Отримані результати підтверджують доцільність врахування генетичних маркерів при прогнозуванні перебігу маститу та розробці індивідуальних підходів до терапії та профілактики захворювання молочної залози великої рогатої худоби.

Дослідження лейкоцитарної формули корів із гострим катаральним маститом показало, що на перебіг хвороби та відновлення після лікування теж істотно впливає наявність або відсутність генетичних маркерів *BoLA-DRB3.2* (табл.3.15). У корів, у генотипі яких присутні алелі *BoLA-DRB3.2\*24* і *\*26*, на початковому етапі захворювання спостерігалася виражена лімфопенія, зниження кількості базофілів, підвищення паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів. Спостерігається очевидна констатація факту пригнічення специфічної імунної відповіді та активний

запальний процес, що узгоджується з підвищеною схильністю цих тварин до важкого перебігу маститу. Зниження еозинофілів і моноцитів у динаміці лікування демонструє поступову нормалізацію чинників природнього імунітету, проте на 9 добу повного відновлення лейкоцитарного профілю у відповідності до значень контролю не відбулося.

Таблиця 3.15

Лейкоцитарний профіль крові корів за гострою катаральною формою маститу, (%),  $M \pm SE$

Показники	Дослідні групи тварин		Період дослідження		
			до лікування	3-тя доба лікування	9-а доба лікування
Лімфоцити	контроль		$62,4 \pm 0,68$		
	Д	Д1	$37,7 \pm 0,43$	$40,5 \pm 0,49^*$	$45,5 \pm 0,12^{***}$
		Д2	$57,4 \pm 0,67$	$60,2 \pm 0,86^*$	$62,6 \pm 1,02^*$
Базофіли	контроль		$2,0 \pm 0,32$		
	Д	Д1	$1,2 \pm 0,05$	$2,3 \pm 0,07^{***}$	$4,1 \pm 0,07^{**}$
		Д2	$1,6 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,32$	$1,8 \pm 0,37$
Еозинофіли	контроль		$4,4 \pm 0,24$		
	Д	Д1	$3,3 \pm 0,04$	$3,1 \pm 0,03$	$2,0 \pm 0,04^{**}$
		Д2	$4,0 \pm 0,32$	$4,0 \pm 0,32$	$3,8 \pm 0,37$
Паличкоядерні нейтрофіли	контроль		$4,2 \pm 0,49$		
	Д	Д1	$7,4 \pm 0,06$	$6,7 \pm 0,06$	$5,9 \pm 0,05^{**}$
		Д2	$5,0 \pm 0,66$	$4,4 \pm 0,41$	$3,6 \pm 0,4^*$
Сегментоядерні і нейтрофіли, %	контроль		$21,8 \pm 0,81$		
	Д	Д1	$43,9 \pm 0,19$	$41,6 \pm 0,56$	$38,7 \pm 0,15^{**}$
		Д2	$25,2 \pm 2,19$	$24,4 \pm 1,14$	$23,0 \pm 1,1$
Моноцити, %	контроль		$5,2 \pm 0,49$		
	Д	Д1	$7,5 \pm 0,1$	$6,0 \pm 0,13$	$5,6 \pm 0,08^*$
		Д2	$6,8 \pm 0,75$	$5,0 \pm 0,32^*$	$5,2 \pm 0,49$

Примітка.  $^*P < 0,05$ ;  $^{**}P < 0,01$ ;  $^{***}P < 0,001$ ; Д1 – дослідна група корів, в генотипі яких присутні алелі BoLA-DRB3.2\*24 і \*26,  $n = 7$ ; Д2 – дослідна група корів з алелями BoLA-DRB3.2 слабо асоційованими з маститом,  $n = 5$ ; контроль – здорові тварини,  $n = 5$ .

У корів, які не мали маркерів BoLA-DRB3, початкові порушення лейкоцитарної формули були менш вираженими, а відновлення міелоїдного та лімфоцитарного ряду лейкоцитів відбувалося швидше. Показники лімфоцитів,

нейтрофілів та моноцитів на 3 і 9 добу лікування майже збігалися з контролем для здорових корів, що вказує на ефективну імунологічну резистентність та менший запальний вплив маститу на імунітет цих тварин. На 9 добу спостереження показники лейкоцитарної формули не мали статистично достовірних відмінностей порівняно зі здоровими коровами ( $P > 0,05$ ), що свідчить про нормалізацію лейкоцитарного профілю крові та відновлення імунології.

Таким чином, лейкограма є чутливим та інформативним маркером неспецифічної резистентності корів, а врахування генетичного статусу BoLA-DRB3 дозволяє прогнозувати перебіг маститу, оцінити динаміку відновлення імунного гомеостазу та ефективність лікування. Ці результати мають практичне значення для генетичного відбору, моніторингу імунного стану стада та оптимізації програм профілактики і терапії маститу.

#### Висновок.

1. Встановлено генетичну зумовленість динаміки гематологічного та біохімічного профілю корів за наявності алелів BoLA-DRB3.2\*24 та \*26. На 9-ту добу терапії у цих тварин відбувається оптимізація метаболічних процесів та відновлення гомеостазу, що підтверджується вірогідним зростанням рівня гемоглобіну на 18% ( $P < 0,05$ ), загального білка – на 11,5% ( $P < 0,05$ ) при одночасному нівелюванні лейкоцитарної реакції зі зниженням на 20 % ( $P < 0,05$ ).

2. Виявлено детермінованість імунної відповіді в групі тварин з алелями BoLA-DRB3.2\*24 та \*26, що зумовлює гострішу реакцію ефektorних клітин крові на запалення. Зафіксована динаміка характеризувалася підвищенням рівня нейтрофілів (у 1,76 рази) та моноцитів (у 1,44 рази) з наступним їх вірогідним зниженням на 25,4 % та 33,9 % наприкінці періоду лікування.

#### **3.4.3. Вплив комплексного лікування на клітинний і гуморальний імунітет корів хворих на катаральний мастит**

Важливого значення при дослідженні показників імунітету тварин надається визначенню кількості Т- і В-лімфоцитів як провідних імунокомпетентних клітин крові, які характеризують рівень захисних сил організму і стан специфічного

імунітету. Адаптивний імунітет притаманний лише вищим тваринам – хордовим, і досягає найскладнішої організації у теплокровних тварин (птахів і ссавців) [10].

Комплексне лікування гострого катарального маститу супроводжувалося змінами імунного статусу корів, що відображалось у складі та співвідношенні популяцій лімфоцитів і характеризує особливості перебігу запального процесу в молочній залозі. Аналіз отриманих даних свідчить про функціональні зміни імунної системи та їх роль у патогенезі маститу. Динаміка показників лімфоцитарних популяцій відображає інтенсивність і спрямованість імунної відповіді на запалення та узгоджується із сучасними уявленнями про імунопатогенез захворювання [210]. У процесі лікування ці зміни підтверджують інформативність імунологічних показників як критеріїв ефективності терапії та відновлення імунного гомеостазу.

Важливе значення мають генетично обумовлені чинники, серед яких важливу роль у презентації антигенів і формуванні адаптивної імунної відповіді відіграє поліморфізм гена BoLA-DRB3.2. Варіабельність цього локусу зумовлює відмінності у силі та специфічності імунної відповіді, визначає резистентність або сприйнятливність до інфекційних захворювань, зокрема маститу, і може слугувати підґрунтям для виявлення молекулярно-генетичних маркерів, що дозволяє трактувати алелі гена BoLA-DRB3.2 як важливий елемент індивідуальної імунної реактивності та прогнозування ефективності терапії [98, 138, 212, 214].

У межах дослідження оцінювали основні субпопуляції лімфоцитів: загальні (TE-РУЛ), активні (TA-РУЛ) Т-лімфоцити, В-лімфоцити (EAC-РУЛ). Також в аналіз включено імунорегуляторні Т-клітини – Т-хелпери (теофілінрезистентні) і Т-супресори (теофілінчутливі) та їх функціонально активні фракції. Зазначені субпопуляції є ключовими компонентами клітинної ланки набутого імунітету та забезпечують реалізацію ефекторних і регуляторних механізмів імунної відповіді. Результати дослідження наведених показників представлено в таблицях 3.16-3.19.

Відносний відсоток загальних розеткоутворюючих лімфоцитів у тварин дослідних груп у порівнянні з контролем (майже 70%) на початку лікування

характеризувалася максимально високою достовірною різницею в обох дослідних групах ( $P < 0,001$ ): група Д1 – 55,4%, група Д2 – 58,0%, що свідчить про зниження клітинної імунної відповіді на фоні розвитку патологічного процесу. Більш виражене зниження було у тварин із генотипами, за присутності алелів \*24 і \*26. На 3-тю добу лікування у всіх дослідних тварин спостерігалася динаміка поступової нормалізації показника. У корів Д1 з генетичними маркерами схильності до маститу значення ТЕ-РУЛ зросло на 6,6% (до 59,1%), залишаючись достовірно нижчим за контроль ( $P < 0,01$ ). У групі Д2 позитивна динаміка склала 5,1% з підвищення показника до 61% ( $P < 0,01$ ), що свідчить про позитивну реакцію імунної системи на ранніх етапах терапії. На 9-у добу лікування відзначено подальше, але повільне наближення показників до контрольних значень. У тварин першої дослідної групи рівень ТЕ-РУЛ піднявся до значення 63% і перевищив цей показник у корів Д2 (62%), що свідчить про інтенсивнішу нормалізацію імунної відповіді у корів з алелями \*24 і \*26. Але загальний рівень розеткоутворюючих Т-лімфоцитів був меншим від контрольного значення на 11-12%.

Таблиця 3.16

Відносна кількість загальних лімфоцитів ТЕ-РУЛ (%),  $M \pm SE$ 

Показники	Контроль	Дослідні групи					
		до лікування		3-тя доба лікування		9-та доба лікування	
		Д1	Д2	Д1	Д2	Д1	Д2
0	30,8±0,97	44,6±1,6***	42,0±1,14***	40,7±0,5**	39,0±0,8**	37,0±1,0**	37,6±0,93**
3-5	55,6±0,68	43,9±1,2***	44,6±0,75***	47,0±0,6**	47,6±0,81**	51,0±0,7*	48,8±0,58*
6-10	11,6±0,51	9,9±0,8	11,6±0,81	10,4±0,5	11,2±0,86	9,9±0,4*	11,4±0,68
M	2,2±0,37	1,7±0,4	1,8±0,49	1,9±0,1	2,2±0,37	2,1±0,5	2,2±0,37
%	69,4±0,93	55,4±1,6***	58,0±1,14***	59,1±0,4**	61,0±0,8**	63,0±1,0*	62,4±0,93**

Примітка. \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ ; Д1 – дослідна група корів, в генотипі яких присутні алелі BoLA-DRB3.2\*24 і \*26,  $n = 7$ ; Д2 – дослідна група корів з алелями BoLA-DRB3.2 слабо асоційованими з маститом,  $n = 5$ ; контроль – здорові тварини,  $n = 5$ .

Враховуючи, що 0-РУЛ не мають рецепторної активності, основну увагу приділяли аналізу функціонально значущих популяцій – лімфоцитам низької, середньої та високої щільності та їх сумарному показнику (%). Порівняння чисельності розеткоутворюючих Т-лімфоцитів на 3-тю і 9-ту добу лікування та їх різниця у дослідних групах Д1 і Д2 не показала суттєвих і статистично значимих змін, які б вказували на активну позитивну динаміку терапії високоавідних імунокомпетентних клітин.

В табл. 3.17 показані результати виявлення відсоток активних Т-лімфоцитів ТА-РУЛ. У корів обох дослідних груп спостерігалось достовірне зниження кількості загальної фракції ТА-РУЛ (35,0% і 37,0%). При порівнянні субпопуляцій у тварин контрольної групи було більше половини клітин 0-РУЛ. Також, значну перевагу мали малодиференційовані клітини (37,2%) зі щільністю поверхневих рецепторів ТА-РУЛ (3-5). До початку лікування у тварин обох дослідних груп встановлено достовірну частку лімфоцитів із низькою щільністю рецепторів відносно контролю (Д1-26,4%; Д2-25,4%;  $P < 0,001$ ). Водночас у групі Д2 відмічена підвищена чисельність клітин із середньою щільністю (9,2%;  $P < 0,05$ ), що може вказувати на компенсаторну перебудову імунної відповіді. Частка лімфоцитів з високою щільністю рецепторів  $M (>10$  РУЛ) у тварин дослідних груп є незначною і не чинить істотного впливу на узагальнені результати аналізу популяції розеткоутворюючих Т-лімфоцитів.

На 3-тю добу лікування спостерігалася позитивна динаміка щодо відновлення функціонально активних популяцій в обох групах. Частка лімфоцитів із низькою щільністю зросла на 4,9% у тварин першої дослідної групи і на 10,2% у другій дослідній групі та становила 27,7% і 28,0% відповідно ( $P < 0,01$ ). До 9-ї доби лікування позитивна динаміка набувала більш вираженого характеру. У групі Д2 відзначено зростання частки лімфоцитів із низькою щільністю до 29,4% ( $P < 0,01$ ) та стабілізацію форм ТА-РУЛ (6-10) (9,6%;  $P < 0,05$ ). Показовим було підвищення частки розеткоутворюючих клітин і їх сумарного показника до 40,8% ( $P < 0,01$ ), що свідчить про більш активне відновлення функціонально повноцінних Т-лімфоцитів у цій групі. У групі Д1

аналогічні зміни були менш вираженими (38,4%;  $P < 0,001$ ), що вказує на повільнішу нормалізацію імунної відповіді у тварин із генетично зумовленою схильністю до маститу. Необхідно відмітити, що процес зменшення кількості загальних ТЕ-РУЛ і активних ТА-РУЛ лімфоцитів відбувається за рахунок зменшення субпопуляції «нульових» варіантів.

Таблиця 3.17

Відносна кількість активних лімфоцитів ТА-РУЛ (%),  $M \pm SE$ 

Показники	Контроль	Дослідні групи					
		до лікування		3-тя доба лікування		9-та доба лікування	
		Д1	Д2	Д1	Д2	Д1	Д2
0	53,6±0,9	64,6±1,11***	63,0±0,77***	63,4±0,97***	61,2±0,86**	61,6±0,87**	59,2±1,11*
3-5	37,2±0,6	26,4±0,92***	25,4±1,29***	27,7±1,19**	28,0±0,63**	29,4±0,75**	29,8±1,02**
6-10	7,6±0,8	7,3±0,68	9,2±0,66*	6,7±0,18	9,4±0,51*	7,9±0,63	9,6±0,75*
M	1,6±0,24	1,7±0,52	2,4±0,81	2,0±0,49	1,4±0,24	1,1±0,26	1,4±0,24
%	46,4±0,8	35,0±1,02***	37,0±0,77***	36,4±0,95***	38,2±1,16***	38,4±0,87***	40,8±1,11**

*Примітка.* \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ ; Д1 – дослідна група корів, в генотипі яких присутні алелі BoLA-DRB3.2\*24 і \*26,  $n = 7$ ; Д2 – дослідна група корів з алелями BoLA-DRB3.2 слабо асоційованими з маститом,  $n = 5$ ; контроль – здорові тварини,  $n = 5$ .

Зменшення частки 0-РУЛ відображає активацію та диференціацію Т-лімфоцитів, яка супроводжується набуттям ними здатності до розеткоутворення та переходом у функціонально активні субпопуляції. У зв'язку з цим встановлені зміни свідчать, що застосоване лікування чинить позитивний, односпрямований і статистично достовірний вплив на клітинну ланку імунітету корів, хворих на катаральний мастит, який реалізується через підвищення вмісту розеткоутворюючих активних Т-лімфоцитів за рахунок зменшення їх нульової популяції.

Теофілінрезистентні Т-хелперні клітини мають рецептори (CD4+) до імуноглобулінів класу M і беруть участь в активації та кооперації імунної відповіді, тоді як чутливі Т-супресорні клітини експресують рецептори (CD8+) до імуноглобулінів класу G та виконують регуляторну функцію, обмежуючи

інтенсивність імунної реакції. Результати виявлення Т-хелперів і Т-супресорів у крові корів дослідних груп показано в табл.3.18.

Таблиця 3.18

Відносна кількість хелперів (Th) та супресорів (Ts) у крові корів, (%),  $M \pm SE$

Показники	Контроль	Дослідні групи						
		до лікування		3-тя доба лікування		9-та доба лікування		
		Д1	Д2	Д1	Д2	Д1	Д2	
Th	0	53,4±0,75	62,8±0,7***	62,0±0,8***	63,1±1,1***	61,3±0,9***	60,0±0,8***	59,4±0,8***
	3–5	37,8±0,8	27,0±0,7***	28,4±0,7***	29,4±1,1**	28,1±0,7***	31,3±1,1**	31,4±1,0**
	6–10	8,8±0,66	10,2±0,7	9,6±0,51	7,43±0,51	9,3±0,57	8,71±0,73	9,2±0,66
	%	46,4±0,93	37,2±0,7***	37,8±0,7***	36,2±1,0***	37,1±0,8***	40,0±0,82**	40,2±0,7**
Ts		23,0±1,14	20,8±1,1	23,2±1,16	22,9±0,86	23,1±1,1	23,0±0,82	31,0±0,7***
IPI		2,02±0,12	1,79±0,09	1,63±0,11**	1,58±0,08**	1,61±0,09**	1,74±0,07	1,3±0,04**

*Примітка.* \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ ; Д1 – дослідна група корів, в генотипі яких присутні алелі BoLA-DRB3.2\*24 і \*26,  $n = 7$ ; Д2 – дослідна група корів з алелями BoLA-DRB3.2 слабо асоційованими з маститом,  $n = 5$ ; контроль – здорові тварини,  $n = 5$ .

У контрольній групі співвідношення субпопуляцій Т-лімфоцитів відповідало фізіологічній нормі та характеризувалося переважанням Т-хелперів (46,4%) над Т-супресорами (23%), при значенні імунорегуляторного індексу IPI = 2,02, що знаходилось в межах референтних значень (1,5-2,2). Такий стан клітинної ланки імунітету вважається збалансованим.

У дослідних групах до початку лікування встановлено достовірні відхилення показників Т-клітинної ланки імунітету з відмінностями між ними. У тварин з генетичними маркерами схильності до маститу відсоток Т-хелперів становив 37,2% ( $P < 0,001$ ), тоді як у групі зі слабоасоційованими алелями BoLA-DRB3.2 – 37,8% ( $P < 0,001$ ). Рівень Т-супресорів становив в Д1 близько 20,8%, а в Д2 – 23,2%.

На 9-ту добу лікування спостерігалися суттєві зміни у співвідношенні та розподілі субпопуляцій Т-хелперів. У корів групи Д1 відносно 3-ї доби лікування частка Th зросла на 10,5% ( $P < 0,01$ ) і склала 40%, у корів другої групи на 8,3%

(40,2%) ( $P < 0,01$ ) відповідно. Але підвищення кількості Th не сягнуло контролю.

Динамічний ріст виявлено для частки T-супресорів у групі корів зі слабоасоційованими алеями, кількість яких зросла на 7,8% і сягнула значення 31% на 9-ту добу лікування.

Протягом усього періоду терапії показник імунорегуляторного індексу у тварин обох дослідних груп залишався стабільним і коливався у межах 1,7–1,3. Зафіксовані незначні коливання індексу не виходили за межі встановлених нормативних значень для даної вибірки.

B-лімфоцити відіграють провідну роль у формуванні гуморальної імунної відповіді, забезпечуючи синтез специфічних імуноглобулінів, а також беруть участь у регуляції функціональної активності T-лімфоцитів, опосередковано впливаючи на перебіг клітинного імунітету. У результатах дослідження встановлено, що відносна кількість B-лімфоцитів у крові корів за катарального маститу зазнавала виражених змін залежно від терміну лікування та генетичної належності тварин (табл. 3.19).

Таблиця 3.19

Частка B-лімфоцитів у крові корів, (%),  $M \pm SE$ 

Показники	Контроль	Дослідні групи					
		до лікування		3-тя доба лікування		9-та доба лікування	
		Д1	Д2	Д1	Д2	Д1	Д2
0	50,0±0,6	59,1±1,0***	53,4±0,9**	57,9±1,3***	52,6±1,0*	56,4±1,2***	51,2±1,1
3–5	38,0±1,4	31,7±1,2**	35,2±1,3	32,9±1,3**	36,8±1,5	34,3±1,1*	39,4±1,2
6–10	11,0±1,0	8,0±0,41*	9,4±0,58	8,1±0,62*	9,4±0,51	8,4±0,32*	8,4±0,23*
M	1,0±0,32	1,14±0,26	1,6±0,24*	1,14±0,14	1,2±0,37	0,86±0,14	1,0±0,18
%	50,0±0,6	40,9±1,1***	46,2±1,2*	42,1±1,3***	47,4±1,1	43,6±1,2**	48,8±1,1

*Примітка.* \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ ; Д1 – дослідна група корів, в генотипі яких присутні алелі BoLA-DRB3.2\*24 і \*26,  $n = 7$ ; Д2 – дослідна група корів з алеями BoLA-DRB3.2 слабоасоційованими з маститом,  $n = 5$ ; контроль – здорові тварини,  $n = 5$ .

У корів контрольної групи показники ЕАС-ПУЛ характеризувалися

відносною стабільністю та відповідали фізіологічним значенням. Половина з них припадала на «нульові» В-лімфоцити, що відображає збалансований стан гуморальної ланки імунітету у клінічно здорових тварин. Інші фракції В-клітин також залишалися в межах фізіологічної варіабельності без істотних імунних змін.

У хворих корів з алелями BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 в генотипах, асоційованих зі сприйнятливостю до маститу, до початку лікування загальна кількість В-лімфоцитів була 40,9%, що на 9,1% менше за контрольні значення. Встановлено значну частку недиференційованих В-лімфоцитів (59,1% при  $P < 0,001$ ), що на 9,1% перевищило контрольні значення. У корів другої дослідної групи на початку лікування загальна кількість ЕАС-РУЛ склала 46,2% з переважанням недиференційованих В-лімфоцитів. Це свідчить про більш глибокі порушення В-клітинної ланки у тварин із алелями BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 порівняно з групою корів без маркерів підвищеної сприйнятливості до маститу.

В результаті застосованої терапії у тварин групи Д1 на 9-ту добу лікування відбулося поступово підвищення відносної кількості В-лімфоцитів (43,6%), зменшення недиференційованих В-лімфоцитів (56,4%) та збільшення низькоавідних ЕАС-РУЛ (34,3%), що свідчить про активацію гуморальної ланки адаптивного імунітету. Аналогічні зміни відбулися у корів другої дослідної групи: загальна кількість відносної кількості В-лімфоцитів склала 48,8%, недиференційованих В-лімфоцитів – 51,2% та низькоавідних ЕАС-РУЛ – 39,4%.

Результати дослідження показали, що генетичні фактори при гострому катаральному маститі впливають на характер і динаміку змін В-лімфоцитарної ланки імунітету. У тварин групи з генетичними маркерами \*24 і \*26 схильності до ІМІ зміни були більш вираженими на ранніх етапах захворювання та характеризувалися подальшою тенденцією до нормалізації показників. Натомість у групі Д2 відзначалася менш інтенсивна, але більш варіабельна динаміка, особливо на пізніх етапах лікування, що вказує на відмінності у механізмах імунної відповіді залежно від генетичних особливостей тварин.

## Висновки.

1. Встановлено, що корови в генотипі яких є алелі *BoLA-DRB3\*24* і *\*26* характеризуються інтенсивнішою динамікою імунореабілітації: попри нижчий вихідний рівень ТЕ-РУЛ, до 9-ї доби терапії їх вміст вірогідно зріс на 7,6% (до  $63,0 \pm 1,0\%$ ,  $P < 0,05$  відносно вихідного стану), перевищивши показник групи Д2 ( $62,4 \pm 0,93\%$ ). Така тенденція на тлі суттєвого скорочення частки функціонально інертних 0-розеткоутворюючих клітин свідчить про вищий адаптаційний потенціал та активнішу мобілізацію ефекторної ланки імунітету у корів із зазначеними генетичними маркерами.

2. Порівняльний аналіз функціонального стану Т-ланки імунітету засвідчив, що тварини групи Д2 демонструють вищу швидкість відновлення активної фракції лімфоцитів (ТА-РУЛ), досягаючи на 9-ту добу показника  $40,8 \pm 1,11\%$  ( $P < 0,01$ ), що вірогідно перевищує результат групи Д1 ( $38,4 \pm 0,87\%$ ). У той час як група Д1 проявила кращу динаміку нормалізації загальної кількості Т-клітин, корови групи Д2 характеризувалися активнішою мобілізацією високоавідних ТА-РУЛ, що вказує на більш інтенсивне відновлення ефекторного потенціалу імунної системи у тварин цієї групи.

3. Встановлено, що у тварин групи Д1 (носії алелів *\*24* і *\*26*) на 9-ту добу терапії спостерігалася виражена нормалізація імунорегуляторного балансу з відновленням ІРІ до  $1,74 \pm 0,07$ , що практично відповідало рівню контролю. Натомість у корів групи Д2 зафіксовано різке зростання частки Т-супресорів до  $31,0 \pm 0,7\%$  ( $P < 0,01$ ), що призвело до вірогідного зниження ІРІ до  $1,3 \pm 0,04$  ( $P < 0,01$ ).

4. Встановлено, що у тварин групи Д1 спостерігалася стійка тенденція до відновлення популяції В-лімфоцитів, хоча цей процес відбувався повільніше порівняно з групою Д2. Попри початково глибшу імуносупресію ( $40,9 \pm 1,1\%$ ,  $P < 0,01$ ), на 9-ту добу терапії у корів-носіїв алелів вміст В-клітин вірогідно зріс до  $43,6 \pm 1,2\%$  ( $P < 0,01$ ). Проте у тварин групи Д2 реституція показника була інтенсивнішою, досягнувши наприкінці досліджень рівня контролю ( $48,8 \pm 1,1$

%), що вказує на більш активне відновлення гуморальної ланки захисту у корів без алелів \*24 і \*26»

#### **3.4.4. Терапевтична ефективність комплексного лікування катарального маститу корів з урахуванням алелів гена BoLA-DRB3**

Катаральний мастит у корів є поширеним запальним ураженням молочної залози, що супроводжується розвитком локальної запальної реакції, порушенням мікроциркуляції, підвищенням проникності судин і активацією умовно-патогенної мікрофлори, що зумовлює зниження продуктивності та погіршення якості молока. Тому лікування запалення молочної залози необхідно спрямовувати на ключові ланки патогенезу. Комбінована терапія сприяє підвищенню результативності лікування, скороченню тривалості захворювання та зниженню частоти рецидивів, особливо за умови врахування фармакологічних характеристик препаратів та індивідуальних особливостей тварин [33, 63, 90, 167].

Оцінка терапевтичної ефективності результатів лікування катаральної форми маститу корів проведена для тварин двох дослідних груп Д1 і Д2, в яких виконувалося попередні дослідження показників вродженого і набутого імунітету (див. табл. 3.10). Результати лікування показано в табл.3.20.

У дослідженні застосовували комплексну схему лікування клінічного маститу, яка включала етіотропну, локальну та протизапальну терапію. Зокрема, як антибактеріальний препарат використовували Амоксицилін 15% LA у дозі 1 мл/10 кг маси тіла внутрішньом'язово з інтервалом 48 годин (2-3 введення). Локально застосовували Синулокс LC інтрацистернально уражених часток вимені (по 1 шприцу-тубі 3-5 діб з інтервалом 24 години). Як протизапальний засіб використовували Айніл у дозі 3 мл/100 кг маси тіла протягом 1-3 діб.

Клінічний стан тварин оцінювали щоденно протягом усього періоду лікування.

Результати дослідження свідчать, що застосоване комплексне лікування катарального маститу було високоефективним і забезпечило 100% одужання корів незалежно від генотипу. Проте відмінності у тривалості клінічного одужання між групами з маркерами і без них вказують на генетичну

детермінованість перебігу маститу: у корів із алельними варіантами генетичних маркерів схильності до маститу BoLA-DRB3.2\*24 і \*26, відмічається більш тривалий період одужання (4-5 діб), що, швидше за все зумовлено особливостями імунної відповіді та підвищеною схильністю до розвитку запального процесу; тварини з алелями, слабо асоційованими з маститом, відновлюються енергійніше (3-4 доби), що може бути пов'язано з кращою природною резистентністю та ефективнішою реакцією на терапію.

Таблиця 3.20

Терапевтичний ефект комплексного лікування катарального маститу корів з урахуванням алелів гена BoLA-DRB3

Групи тварин	Кількість, гол.		Результати лікування
	всього	одужало (%)	
Д1 Перша дослідна група	7	7 (100)	В середньому через 4 – 5 діб зникали ознаки гострого запалення, покращувався загальний гомеостаз, підвищувалася молочна продуктивність
Д2 Друга дослідна група	5	5 (100)	Упродовж 3 - 4 діб спостерігали нормалізацію загального клінічного стану тварин, поступове зменшення уражених часток вимені та зникнення ущільнення, набрякlostі й болючості, підвищувалася молочна продуктивність

Використання стандартної схеми лікування маститу є ефективним у більшості випадків, однак її результативність залежить від генетичних особливостей тварин. Для порівняльної оцінки ефективності використаної терапії з врахуванням генетичних маркерів гена BoLA-DRB3.2 розраховано ефективність результатів лікування для дослідних груп Д1 і Д2 (табл.3.21).

*Загальна ефективність терапії.*

Загальну ефективність комплексу терапевтичних заходів оцінювали за інтегральним показником (див. розділ 2.5), який відображає комплексну

динаміку клінічного стану та параметрів набутого і гуморального імунітету, що дозволяє уніфікувати різнотипні характеристики та отримати узагальнену оцінку відповіді організму на терапію. Вибір показників для формування інтегрального індексу обґрунтований необхідністю комплексної оцінки, як клінічного стану тварин, так і ключових ланок патогенезу. У нашому дослідженні показники відбирали на основі оцінки клінічної ефективності терапії за динамікою симптомів маститу, відновленням функції молочної залози та лабораторними показниками крові у корів груп Д1 і Д2:

–  $E_1$  – клінічна ефективність терапії оцінена за динамікою зменшення клінічних ознак маститу та відновленням функції молочної залози;

–  $E_2, E_3$  – системні зміни організму: гематологічні реакції (рівень лейкоцитів як маркер запалення) та біохімічний статус (гемоглобін і загальний протеїн як індикатори метаболічної стабільності);

–  $E_4-E_6$  – імунологічний статус тварин, зокрема стан клітинної та гуморальної ланок імунітету, що дозволяє оцінити ефективність імунної відповіді.

З наведених даних достовірно встановлено, що корови групи Д2 мають кращу ефективність лікування за більшістю досліджуваних параметрів (крім показника WBC), особливо за показниками гуморальної імунної відповіді та інтегральної ефективності терапії. Проведені дослідження свідчать, що ефективність терапії маститу у корів визначається не лише особливостями перебігу запального процесу, а й генетичною детермінованістю імунної відповіді, зумовленою алельним поліморфізмом гена BoLA-DRB3.2.

*Індивідуальна оцінка ефективності терапії за різного генотипу корів.*

У ході дослідження проведено аналіз індивідуальної динаміки імуногематологічних показників у корів із катаральним маститом з наявними в їх генотипі маркерами сприйнятливості до маститу BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 та без них, що дозволило оцінити індивідуальні особливості перебігу відновних процесів у тварин із різним рівнем імунної реактивності. Для поглибленого аналізу було вибрано по дві корови з дослідних груп Д1 та Д2. Відбір здійснювали за принципом крайніх варіантів перебігу – з максимально вираженою та мінімальною динамікою змін показників природного та набутого

імунітету (табл.3.22).

Таблиця 3.21

Ефективність лікування маститу корів залежно від наявності генетичних маркерів на основі алелів BoLA-DRB3.2, % (M ± m)

Група тварин	Клінічне покращення, (E <sub>1</sub> ) %	Нормалізація, %					Загальна ефективність, %
		WBC, (E <sub>2</sub> )	HGB і протеїн, (E <sub>3</sub> )	TE-PUЛ, ТА-PUЛ, (E <sub>4</sub> )	Th, Ts, (E <sub>5</sub> )	B-лімфоцити, (E <sub>6</sub> )	
Д1 з алелями асоційованими зі схильністю до маститу (n=7)	74,0±2,8	62,5±3,4	78,2±2,7	80,4±2,5	72,1±2,9	73,8±2,7	73,5±2,6
Д2 з алелями слабо асоційованими з маститом (n=5)	86,0±2,4**	68,4±3,1	88,6±2,2**	89,9±2,0**	81,2±2,6*	92,4±1,8***	84,4±2,3*

Примітка: \*P < 0,05; \*\* P < 0,01; \*\*\* P < 0,001 порівняно з групою Д1

Такий відбір дав можливість об'єктивно оцінити особливості імунної відповіді та ефективність відновних процесів окремих корів у відповідності до сучасних уявлень про варіабельність імунної відповіді при маститі [170, 181].

Ефективність індивідуальної терапії оцінювали за тією ж методикою, яку було використано для загальної оцінки лікування в групах Д1 і Д2. Результати оцінювання показано в табл. 3.23.

Аналіз індивідуальних показників ефективності лікування маститу у корів виявив чітко виражену варіабельність між окремими тваринами як за клінічними, так і за імунологічними параметрами, що узгоджується із сучасними уявленнями про індивідуально-генетично зумовлену імунну відповідь у великої рогатої худоби. Характер і швидкість клінічного одужання, а також динаміка відновлення показників природного і адаптивного імунітету суттєво відрізняються навіть за однакових умов утримання та застосування ідентичних схем терапії.

Таблиця 3.22

Характеристика динаміки гематологічних та імунологічних показників корів із катаральним маститом відібраних для індивідуального аналізу

Показник	Дослідні групи і номер бирки корови			
	Д1		Д2	
	№6040 <sup>+</sup>	№1312 <sup>-</sup>	№5556 <sup>+</sup>	№2133 <sup>-</sup>
Кличка	Модель	Хвилька	Квітка	Ада
Кількість лактацій	3	3	3	3
Добовий надій, кг	25	27	25	20
Генотип DRB3.2	*22/*24	*22/*26	*14/*28	*48/*97
Т-лімфоцити (9 доба до 1 доби, %)	40	12	28	8
В-лімфоцити (9 доба до 1 доби, %)	35	10	22	5
Т-хелпери (Th)	виражене підвищення	слабке підвищення	помірне підвищення	мінімальне підвищення
Т-супресори (Ts)	помірна стабілізація	дисбаланс	стабілізація	виражений дисбаланс
Імунорегуляторний індекс (ІРІ)	високий	знижений	середній	низький
Лейкоцити, Г/л	нормалізація	збережений лейкоцитоз	часткова нормалізація	виражений лейкоцитоз
Еритроцити, Т/л	стабілізація	тенденція до зниження	стабільні	зниження
Гемоглобін, г/л	відновлення	знижений	часткове відновлення	знижений
Загальний протеїн, г/л	нормалізація	диспротеїнемія	близький до норми	підвищення
ТЕ-РУЛ / ТА-РУЛ	високі значення	низькі	середні	низькі

*Примітка.* <sup>+</sup> корови з вираженою позитивною динамікою на перебіг і результати лікування;

<sup>-</sup> корови зі слабкою динамікою на перебіг і результати лікування.

Особливе значення у формуванні резистентності до маститу мають алелі МНС ВоLA-DRB3.2, які визначають ефективність антигенпрезентації, інтенсивність Т-клітинної відповіді та загальну спрямованість імунної реактивності організму. Саме генетично детерміновані особливості функціонування імунної системи значною мірою обумовлюють відмінності у

перебігу запального процесу в молочній залозі, рівні активації клітинних та гуморальних механізмів захисту, а також швидкості елімінації збудника.

Таблиця 3.23

Індивідуальна ефективність лікування маститу корів в залежності від наявності в їх генотипі генетичних маркерів на основі алелів BoLA-DRB3.2, % ( $M \pm m$ )

Номер бирки	Клінічне покращення, ( $E_1$ ) %	Нормалізація, %					Загальна ефективність, %
		WBC, ( $E_2$ )	HGB і протеїн, ( $E_3$ )	TE-PUJ, TA-PUJ, ( $E_4$ )	Th, Ts, ( $E_5$ )	B-лімфоцити, ( $E_6$ )	
№6040	92,2 $\pm$ 3,1	95,0 $\pm$ 2,5	84,8 $\pm$ 3,8	88,0 $\pm$ 3,2	90,0 $\pm$ 2,9	89,0 $\pm$ 3,0	90,0 $\pm$ 3,1
№1312	90,0 $\pm$ 3,4	90,0 $\pm$ 3,0	92,2 $\pm$ 2,8	85,2 $\pm$ 3,5	88,0 $\pm$ 3,1	86,8 $\pm$ 3,2	89,2 $\pm$ 3,2
№5556	75,0 $\pm$ 4,5	74,7 $\pm$ 4,2	70,0 $\pm$ 4,8	72,0 $\pm$ 4,4	74,3 $\pm$ 4,3	73,0 $\pm$ 4,5	73,0 $\pm$ 4,5
№2133	85,0 $\pm$ 3,8	87,8 $\pm$ 3,3	80,3 $\pm$ 4,0	80,1 $\pm$ 3,9	81,9 $\pm$ 3,7	81,4 $\pm$ 3,8	83,0 $\pm$ 3,8

*Примітка.* Оцінку варіабельності індивідуальних показників представлено у вигляді середнього значення та умовної похибки ( $M \pm m$ ).

Отримані результати свідчать, що тварини з більш збалансованою імунною відповіддю характеризуються вищою ефективністю лікування, що проявляється швидшою нормалізацією гематологічних показників, відновленням популяцій T- і B-лімфоцитів та їх субпопуляцій, а також стабілізацією функціонального стану імунної системи. Натомість у корів із нижчим рівнем імунної реактивності спостерігається пролонгований перебіг патологічного процесу та менш виражена позитивна динаміка досліджуваних показників.

Отже, як інтегрований підсумок необхідно відзначити, що загальна та індивідуальна оцінка ефективності лікування маститу показала необхідність комплексного аналізу клінічних і імунологічних критеріїв із урахуванням генетичних особливостей організму, зокрема наявності генетичних маркерів чутливості до захворювання вим'я. Це дозволяє не лише об'єктивно оцінити результати терапії, але й створює передумови для впровадження принципів персоналізованої ветеринарної медицини, спрямованої на підвищення загальної

ефективності лікування та профілактики маститу у корів.

Висновки.

1. Встановлено високу терапевтичну ефективність лікування катарального маститу корів, яке забезпечило 100% клінічне одужання тварин незалежно від генотипу. Водночас виявлено суттєві відмінності у тривалості клінічного відновлення залежно від присутності в генотипах корів алелів \*24\* і \*26\*. Середня тривалість одужання у корів Д1 становила 4 -5 діб, тоді як у групі зі слабо асоційованими алелями – 3 - 4 доби. Кореляційний зв'язок між генотипом і тривалістю одужання ( $r = 0,71$ ) підтверджує вплив генетичних факторів на швидкість клінічного відновлення та особливостей імунної відповіді.

2. У групі тварин з алелями, асоційованими зі схильністю до маститу, інтегральна ефективність терапії становила 73,5%, тоді як у групі зі слабо асоційованими алелями – 84,4% ( $P < 0,05$ ).

3. Індивідуальна ефективність лікування корів з високим і низьким рівнем динаміки терапії показала, що тварин із генетичними маркерами сприйнятливості до маститу інтегральна ефективність сягала 89,2-90%, тоді як у корів другої групи лише 73-83%.

## РОЗДІЛ 4

### 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Мастит корів на сьогодні залишається однією з найпоширеніших та економічно значущих хвороб у молочному скотарстві. Незважаючи на розвиток технологій утримання та доїння, захворюваність на мастит у багатьох господарствах залишається високою, що зумовлено як інфекційними чинниками, так і порушеннями менеджменту, годівлі та гігієни.

Втрати від маститів становлять незначну частку від ВВП, але коливаються в широких межах (рис.4.1). Дані моделювалися на основі економічних моделей маститу та глобальних оцінок втрат молочного сектору [142, 59, 116, FAO, 2023]. Порівняння розрахункових втрат з розмірами ВВП України показує, що збитки від маститів складають біля 0,33% [43].

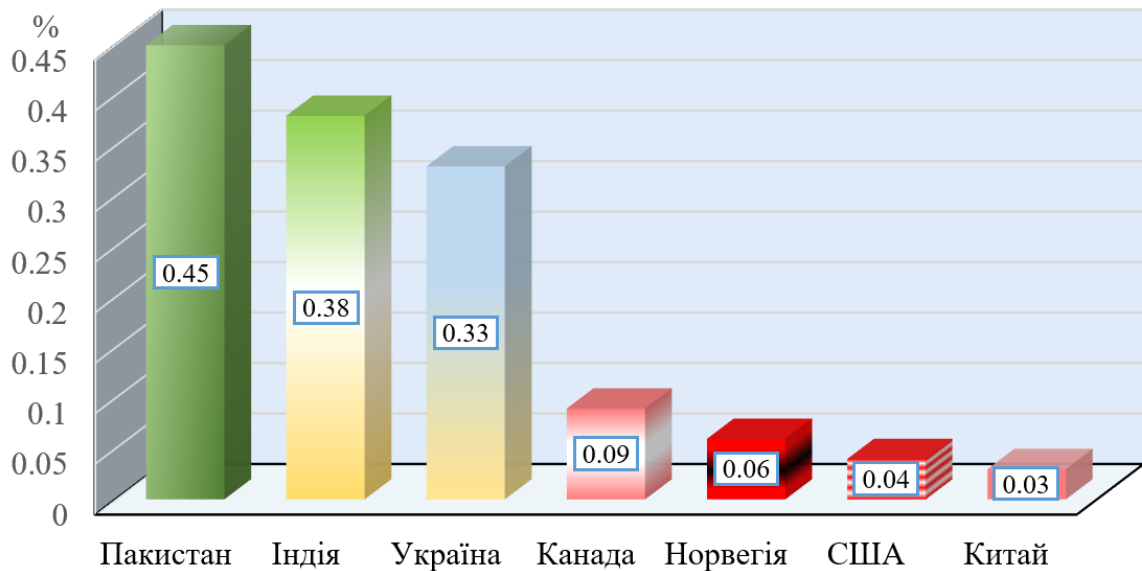


Рис.4.1. Розподіл економічних втрат від маститу як частки ВВП у ключових країнах-виробниках молока.

Узагальнені дані світової наукової літератури свідчать, що поширеність субклінічного та клінічного маститу у корів має значні варіації залежно від регіону та умов ведення тваринництва. Зокрема, за результатами метааналізу, проведеного індійськими дослідниками із використанням онлайн- та офлайн-баз даних за період 1967–2019 років із застосуванням програмного середовища R, до узагальненого

аналізу було включено 222 дослідження щодо субклінічного маститу та 150 – клінічного. Отримані результати дозволили сформувавши репрезентативну оцінку глобальної поширеності цих форм захворювання та підтвердили їх значну частоту у молочному скотарстві. Загальна поширеність захворювання становила 42% (*CI* 38-45%, *PI* 10-83%) та 15% (*CI* 12-19%, *PI* 1-81%). Найвищий рівень субклінічного маститу зафіксовано в Північній Америці (46%) та Африці (44%), а клінічного – в Європі (29%) [134]. За оцінками фахівців, щорічна захворюваність на клінічний мастит у молочних стадах може досягати 20-50% [60].

Головні напрямки подолання маститів полягають у впровадженні систем ранньої діагностики, автоматизованого моніторингу здоров'я вим'я та комплексних програм управління стадом, спрямованих не лише на лікування, а передусім на профілактику захворювань [185, 209].

Сучасний стан проблеми маститів характеризується значним розривом між науково обґрунтованими підходами до профілактики та реальними умовами господарювання, особливо в країнах із перехідною економікою. Необхідно звернути увагу на досвід боротьби з маститами провідних молочних країн світу, який базується на реалізації національних і господарських програм контролю. Вони охоплюють регулярну інспекцію SCC у молоці, дотримання протоколів доїння, санітарну обробку дійок, своєчасне лікування хворих тварин і вибраковування хронічно інфікованих корів.

Значний успіх у цьому напрямку спостерігається в скандинавських країнах (Норвегія, Швеція, Фінляндія), Австралії, Новій Зеландії, Ізраїлі, які опираються на власні програми сформовані на рекомендаціях релізів NMC. Досвід таких програм, як норвезька національна система моніторингу (NCHRS), австралійської консультативної ради з маститу (Australian Mastitis Advisory Council, AMAC), новозеландської національної програми з хімічних забруднювачів (National Milk Quality Programme, NCCP) та ізраїльської молочної палати щодо управління вим'ям (Dairy Board, Israel Cattle Breeders Association), свідчить, що системний підхід дозволяє значно знизити поширеність маститу [14, 77, 165, 169, 217]. Застосування сучасних цифрових технологій, зокрема

сенсорів доїльних апаратів і програм аналізу великих масивів даних, дає змогу прогнозувати ризик виникнення маститу ще до появи клінічних ознак, що є важливим напрямом розвитку галузі [172, 210].

Важливу роль у зменшенні захворюваності на мастит відіграє комплексний менеджмент сучасної молочної ферми, під яким розуміють системну організацію всіх аспектів молочного виробництва, які безпосередньо впливають на здоров'я та продуктивність стада [1, 96, 100, 173, 226, 238]. До головних компонентів менеджменту належать:

- раціональна годівля з урахуванням енергетичних і мінеральних потреб корів;
- належні умови утримання (гігієна, оптимальний мікроклімат);
- дотримання санітарії під час доїння, включаючи правильну техніку та дезінфекцію сосків;
- регулярне ветеринарне обслуговування і моніторинг стада з лабораторним контролем якості молока;
- професійна підготовка персоналу для впровадження сучасних профілактичних і безпечних практик [187].

Для розуміння стану молочного менеджменту в дослідному господарстві ім. Богдана Хмельницького в роботі проаналізовано стан захворюваності та динаміку маститів за 2023–2025 роки. Упродовж досліджуваного періоду зафіксовано скорочення чисельності дійного стада майже на 6%. Частка хворих корів зменшилася на 2,5%, але залишалася досить високою і перевищувала понад третину наявного поголів'я. У структурі захворюваності домінувала субклінічна форма маститу з показником у 25,4%, але необхідно вказати на позитивну тенденцію щодо більш інтенсивного зниження частки СКМ, тоді як прояви КМ залишалися практично незмінними і в середньому становили майже 11%. Аналіз структури даного перебігу захворювання показав, що протягом трьох років у господарстві реєструвалася практично стабільна по 16-17 кількість випадків маститу. У структурі клінічної патології переважала катаральна форма (11 випадків або 68,7% в 2025 році), частка якої за період спостережень постійно

зростала. Поширеність гнійно-катаральної форми склала 20,4%, тоді як серозна форма реєструвалися рідше і мали виражену спрямованість до скорочення. Результати досліджень свідчать про домінування змішаного характеру запального процесу молочної залози у корів господарства.

Порівняння отриманих результатів із даними ветеринарної звітності Дунаєвецької дільничної лікарні показало, що рівень поширеності маститу у дослідному господарстві є високим (понад 36%) і перевищує середні по регіону показники майже вдвічі. Зокрема, у господарствах під ветеринарним наглядом лікарні частота маститу становила 22,6% у 2024 році та 16,4% у 2025 році, тоді як у цілому по господарствах Хмельницької області цей показник зазвичай коливається в межах 15-20%.

Основними чинниками ситуації, що склалася на даному етапі господарювання, є недосконалість виробничого менеджменту: застарілі приміщення, невідповідність умов утримання сучасним вимогам, відсутність сучасної доїльної інфраструктури та недоліки у годівлі й догляді. Сюди необхідно додати фактори несприятливого мікроклімату (підвищена вологість, забруднена підстилка), що сприяє накопиченню мікрофлори та підвищує ризик інфікування вим'я. Тому загальний рівень захворюваності залишається високим, що зумовлює необхідність подальшого удосконалення системи управління виробництвом з проведення організаційно-технологічної модернізації, яка наразі виконується в агроформуванні.

Перспективи контролю та зниження поширеності маститів у молочному скотарстві пов'язані з переходом від терапевтичних заходів до інтегрованої системи профілактики, ранньої діагностики та управління здоров'ям стада. Лікування розглядається як складова комплексної програми контролю, що базується на етіологічній діагностиці та індивідуальній оцінці клінічного стану тварин.

У першому пункті молочної стратегії «Підвищення продуктивності та ефективності молочної галузі» (ФАО), акцентується увага на вдосконаленні генетичного потенціалу молочного стада на основі сучасних технологій [185]. Суть його полягає в тому, що підвищення продуктивності тварин не може

здійснюватися необмежено лише за рахунок удосконалення менеджменту та годівлі, якщо генетичний потенціал організму не забезпечує відповідного рівня реалізації продуктивних ознак. ФАО відмовляється від підходу «максимальний надій будь-якою ціною» і робить ставку на генетичний відбір та розведення корів із довгим і стабільним продуктивним життям [97]. Пріоритет надається тваринам із високою продуктивністю протягом 4-5 лактацій, стабільною репродуктивною здатністю та генетично визначеною ефективністю використання кормів.

Важливим моментом є скорочення часу між поколіннями. Підтримка генетичного відбору дозволяє приймати рішення щодо телиці в перші місяці постнатального онтогенезу, а не після другої лактації. Галузь перестає інвестувати в генетично слабких тварин і концентрує ресурси на тих, які гарантовано реалізують потенціал. У підсумку підвищення продуктивності відбувається не стрибком, а поступовим і незворотним зростанням середнього рівня стада [73, 232].

В ряді робіт наголошується, що застосування геномного підходу в роботі з молочною худобою в Україні здатне суттєво прискорити генетичний прогрес, насамперед за рахунок зменшення генераційного інтервалу. Використання таких стратегій, як ранній відбір «плідників бугаїв», «плідників корів» та «маток бугаїв», дозволяє значно підвищити ефективність селекції: скорочення часу між поколіннями забезпечує збільшення середнього надою молока на 80%. Це свідчить про те, що впровадження геномної селекції створює можливості для більш швидкого й стабільного поліпшення продуктивних ознак стада [3].

Окремий акцент робиться на адаптовану генетику. Продуктивність має оцінюватися в конкретних умовах: клімат, корми, система утримання, людський фактор. Максимальна ефективність досягається тоді, коли генетичний відбір і планування розведення спрямовані на корів, які генетично пристосовані до локальних умов, а не лише демонструють високі показники в інших країнах. Це особливо важливо для країн із перехідною економікою, де в наявності багато місцевих і локальних порід, а інтенсивна генетика (голштинізація) часто призводить до протилежного результату [43, 152, 176, 200].

Отже, підвищення продуктивності корів за рахунок генетичних факторів є

важливою умовою сталого розвитку молочного сектору. Хоча ці заходи потребують тривалих вкладень, їхній ефект накопичувальний: наступні покоління демонструватимуть вищу продуктивність при стабільних або менших витратах на одиницю виробленої продукції.

Частина науковців залишається обережною щодо потенціалу генетичної селекції для контролю маститу. Резистентність до цього захворювання визначається складною полігенною системою з невеликим внеском окремих локусів та значною залежністю від умов утримання й управління стадом. Систематичні огляди GWAS-досліджень показали, що виявлені гени-кандидати пояснюють лише частину фенотипової мінливості, а ефективність маркерної селекції вимагає постійної верифікації. Метааналіз різних порід виявив гетерогенність результатів між популяціями, що обмежує універсальність застосування генетичних маркерів у селекційних програмах і вимагає інтеграції генетики, технологій та ветеринарно-профілактичних заходів [80, 159].

Генетичні параметри КМ і СКМ зазвичай мають низьку спадковість, що обмежує прямий селекційний прогрес. Так,  $h^2$  клінічного маститу коливається приблизно від 0,01 до 0,12, залежно від методу оцінки та породи. В цьому плані для поліпшення природної генетичної резистентності до патогенів вим'я поряд з ознаками стійкості до різних форм маститів комплексно використовується показник КСК. В роботі Heringstad et al. (2003) показано, що цей показник має вищу спадковість (0,08-0,19) і дозволяє досягти більш ефективного результату при використанні генетичних маркерів маститу [114]. Спадковість субклінічного перебігу, визначена через КСК або його логарифмічні трансформації, зазвичай дещо вища і може досягати навіть значень 0,1-0,3, особливо при використанні агрегованих індикаторів LSCS [80, 113, 129, 190, 233].

Деякі країни включили КСК, КМ або обидві ознаки в комплексі до своїх програм селекції як спосіб підвищення резистентності до внутрішньомолочних інфекцій. КСК є ознакою, яка найчастіше використовується для оцінки схильності до маститу. Вона включена до селекційних програм і регулярно публікується в звітах. Крім того, було продемонстровано генетичну кореляцію між КСК та

частотою клінічних маститів. Це відносно високий показник, що свідчить про потенціал зниження частоти клінічних форм мастит у корів шляхом селекції на зменшення КСК. У скандинавських країнах проводять генетичний відбір за здоров'ям вимені на основі записів про мастити, включення яких в оцінку та відбір плідників призвело до зниження генетичної залежності до КМ, незважаючи на відносно низьку спадковість цієї ознаки (0,01-0,15) [161, 191, 233, 241].

Загальновідомо, що між молочною продуктивністю та частотою маститу, а також рівнем соматичних клітин існує позитивна генетична кореляція, яка зазвичай варіює в межах 0,24-0,55 (у середньому близько 0,43). За даними наукових досліджень, зв'язок між надоем і клінічним маститом коливається від незначно негативного до 0,66 (у середньому близько 0,3). Такі показники свідчать про наявність певного антагонізму між високою молочною продуктивністю та стійкістю до захворювання. У зв'язку з цим ігнорування маститу в селекційних програмах може мати негативні наслідки: спрямованість відбору виключно на підвищення надоїв призводить до зниження резистентності корів. Зокрема, встановлено, що за генетичної кореляції на рівні 0,3 це супроводжується збільшенням захворюваності на мастит приблизно на 0,02 випадки на корову щороку, що підкреслює необхідність комплексного підходу до селекції з урахуванням показників здоров'я вимені [82, 228].

Генетична структура популяцій ВРХ визначається якісним і кількісним складом генів, зокрема спектром алельних варіантів та частотами відповідних генотипів. Особливості їх розподілу лежать в основі теорії та методології генетико-популяційного аналізу, в межах якого важливе місце займають дослідження асоціацій у системі «ген-фенотип» щодо господарсько корисних і адаптивних ознак. У зв'язку з цим актуальним є питання вибору ефективних інструментів для виявлення таких закономірностей. На сучасному етапі важливим інструментом дослідження генетичної структури популяцій великої рогатої худоби є використання генетичних маркерів [22, 44, 45, 147, 200].

Для молочної худоби одним із ключових напрямів генетики є підвищення резистентності до маститу. Існують різні підходи до селекції тварин, зокрема

виявлення сприятливих або несприятливих алелів генів, пов'язаних із імунною відповіддю. Хоча стійкість до маститу у великої рогатої худоби має полігенну природу, окремі гени з потенційно значним ефектом можуть бути як уже виявлені, так і ще не ідентифіковані. Наприклад в дослідженні Youngerman et al. (2004) показано, що однонуклеотидний поліморфізм (SNP) у гені CXCR2 асоціюється з порушенням міграції нейтрофілів і підвищеною частотою субклінічного маститу у голштинської худоби, оскільки нейтрофіли відіграють провідну роль у контролі збудників захворювання. Їх міграція у вогнище інфекції забезпечується розпізнаванням медіаторів запалення, зокрема (ELR)СХС-хемокінів і фрагмента комплементу С5а через специфічні рецептори [236]. Також дослідження імунних клітин, що заселяють здорову, інфіковану або імунізовану молочну залозу, видається найбільш перспективним підходом до розробки ефективних вакцин проти маститу [182].

Інші гени, що регулюють розпізнавання бактерій або мобілізацію лейкоцитів у молочній залозі, також можуть бути потенційними об'єктами досліджень. На практиці це виявлення генетичних маркерів, які впливають на імунну відповідь, бар'єрну функцію вим'я та рівень КСК. Для найбільш поширених світових і вітчизняних молочних порід визначено ряд ключових генетичних маркерів: BoLA-DRB3 [45, 65, 91, 136, 138, 157, 192, 214, 203, 216]; CXCR1 (рецептор ІІ-8, вроджений імунітет) [88, 156]; LTF (лактотрансферин, антибактеріальний захист) [148, 239]; TLR4 – (рецептор розпізнавання PAMPs) [83, 145]; SLC11A1 (загальна імунна стійкість) [137]; STAT5A контроль високого рівня КСК [130, 227] тощо. Узагальнені результати досліджень генетичних маркерів, пов'язаних із маститом корів представлені в наукових джерелах [42, 69, 76, 80, 179, 202].

Безумовним лідером у маркерному аналізі та пошуку алелів тісно пов'язаних із чутливістю до маститів у великої рогатої худоби є ген BoLA-DRB3. Він характеризується надзвичайно високим рівнем поліморфізму, що зумовлює відмінності в здатності тварин розпізнавати антигени збудників інфекцій, зокрема патогенів, які спричиняють мастити. Станом на 1 січня 2026 року у базі даних IPD-MHC (Immuno Polymorphism Database – MHC: випуск 3.16.0.0 від 2026-01, збірка

231) групи BoLA, в розділі BoLA-DRB3, зареєстровано 387 валідованих алелів для локусу BoLA-DRB3, що більше в 4 рази ніж для інших локусів II класу, DQB та DQA [98, 121]. Створення інтегрованої бази даних ГКГ на платформі IMGT/MHC, що акумулює інформацію про MHC різних видів сільськогосподарських тварин і маркери контролю захворювань, зокрема алелі гена BoLA-DRB3, забезпечує основу для впровадження генетичних підходів як ефективних інструментів комплексних програм контролю захворювань у тваринництві [178].

Про можливість використання алелів гена BoLA-DRB3.2, як надійного молекулярно-генетичного маркера для оцінки схильності корів до маститів свідчать численні дослідження пов'язані з пошуком тісних і достовірних асоціацій між окремими алелями і частотою виникнення клінічних і субклінічних форм маститу, рівнем соматичних клітин у молоці, а також загальною імунною реактивністю тварин (табл.4.1).

В нашому дослідженні визначення алельного поліморфізму гена BoLA-DRB3 виконано методом ПЛР-ПДРФ, в основі якого лежить здатність рестрикційних ендонуклеаз специфічно розпізнавати та розщеплювати геномну ДНК у певних нуклеотидних послідовностях. Він характеризується високою відтворюваністю результатів, кодомінантним типом успадкування та селективною нейтральністю, що забезпечує високу інформативність результатів. Особливо необхідно відзначити можливість визначення генотипу окремої тварини, що є ключовим для оцінки асоціацій між поліморфізмом гена BoLA-DRB3 і фенотиповими ознаками [43, 222, 44, 197]. Підсумки досліджень генетичної мінливості BoLA-DRB3 локусу у комерційних породах великої рогатої худоби в різних країнах з 1997 по 2022 рік підсумовано в роботі Galdino Andrade et al. (2024), де окреслено перелік 45 робіт із результатами типування гена BoLA-DRB3 за допомогою ПЛР-ПДРФ та секвенування [98].

Аналіз таблиці показує, що в дослідженнях виявлено різні варіанти чутливості між алелями BoLA-DRB3.2 та маститом. Бажання виявити один універсальний генетичний маркер не набуло практичної реалізації.

Таблиця 4.1

Узагальнені дані досліджень щодо виявлення асоціацій між алелями BoLA-DRB3.2 та різними аспектами маститу корів методом ПЛР-ПДРФ

Автори, джерело	Асоціації	Породи	Алелі DRB3.2
Dietz et al. [91]	підвищення ризику маститу	Голштини	*16
Kelm et al. [126]	підвищений рівень EBV для КМ	Голштини	*08
Sharif et al. [203]	ризик виникнення маститу	Голштини, Джерсі	*23
	зниження КСК та ризику виникнення маститу		*16
Sharif et al. [202]	мастит, спричинений <i>Staphylococcus spp.</i>	Голштини	*22,*23,*24
Rupp et al, [190]	нижчий рівень КСК		*03,*11
	вищий показник КСК		*22,*23
	менший ризик виникнення мастопатії		*03
	високий ризик розвитку мастопатії	*08	
Kulberg et al. [136]	клінічний мастит	Норвезька червона	*22,*26
	стійкість до маститу		*07,*11,*18,*24
Duangjinda et al. [92]	виникнення мастопатії	Голштини × Зебу	*01,*52
	стійкість до КМ		*15,*51,*22
Ibrahim et al. [120]	сприйнятливість до маститу	Голштини, Єгипет	*11
	сприйнятливість до <i>E. coli</i>		*24
	стійкість до <i>St. aureus</i>		*16
Yoshida et al. [234]	сприйнятливість до маститу	Голштини, Японія	*8,*16
	стійкість до маститу		*22,*23,*24
Pokorska et al. [178]	менший ризик клінічного маститу	Голштини, Польща	*22 і *16
Suprovych et al. [216]	сприйнятливість до маститу	Україна, УЧРМ	*24
			*26
	стійкість до маститу		*13
Suprovych et al. [216]	сприйнятливість до маститу	Україна, УЧЕРМ	*22
			*07
	стійкість до маститу		*08
			*22
Bandura et al. [64]	сприйнятливість до маститу	Україна, УЧР	*24
	стійкість до маститу		*28
			*26

Частина дослідників вказує на обмежені можливості використання алелів гена *BoLA-DRB3.2*, асоційованих із маститом, як універсальних генетичних маркерів при формуванні стад, стійких до цього захворювання [92, 120, 199]. Разом із тим, у даному напрямку залишається низка дискусійних положень, що потребують подальшого поглибленого вивчення [41].

Встановленим асоціаціям типу «алель–мастит» притаманний популяційний характер, і вони проявляються лише у частини тварин досліджуваної вибірки. Навіть за наявності алелів із високою частотою експресії їх частка серед тварин стада обмежена. Так, в нашому дослідженні УЧРМ алелі \*24 і \*26 гена *BoLA-DRB3* асоційовані з маститом мають сумарну частку у 42,3%. З урахуванням гомозиготи \*24/\*24 реальними носіями цих генетичних варіантів з 52 протестованих корів є лише 21 корова або трохи більше 40%.

Суттєвим обмеженням є недостатнє врахування комбінованого ефекту алелів. Встановлено, що генотипи типу \*Зд/\*А, \*Хм/\*А і \*А/\*А (де \*Зд – алель резистентності, \*Хм – алель сприйнятливості, \*А – умовно «нейтральні» алелі) зустрічаються як у клінічно здорових, так і у хворих тварин. Це свідчить про складний характер генетичного контролю захворювання, де значну роль можуть відігравати міжгенні взаємодії та модифікуючий вплив «неінформативних» алелів [43, 112, 237].

Мастит виникає під впливом комплексу різних причин і факторів, які можуть діяти одночасно або послідовно, які зумовлюють клінічну варіабельність патології та особливості її перебігу [55, 237]. Гострі інфекції в молочній залозі можуть бути спричинені широким спектром патогенів. У дослідженні Duse et al. (2021) проаналізовано понад 2000 зразків молока від корів із клінічним маститом. Загалом ідентифіковано кілька основних груп збудників, серед яких кількісно домінували грампозитивні бактерії. Найбільшу кількість ізолятів майже 500 випадків або 25% належало *Staphylococcus aureus*. Для *Streptococcus dysgalactiae* виявлено близько 350 ізолятів (близько 15-18%), а *Streptococcus uberis* – близько 250 ізолятів (біля 10-12%). Серед грамнегативних бактерій найчастіше реєстрували *Escherichia coli* – орієнтовно до 300 випадків (від 12 до 15%). Інші

збудники, такі як *Trueperella pyogenes* і *Klebsiella spp.*, зустрічалися з частотою до 5% [94, 235].

У нашому дослідженні також підтверджено поліетіологічний характер маститу та встановлено відмінності у структурі мікробного спектра залежно від клінічної форми захворювання. Його результати загалом узгоджуються з сучасними літературними даними, проте виявлено певні відмінності у частоті та домінуванні окремих збудників, що підкреслює важливість регіонально орієнтованого моніторингу мікробного спектра маститу.

Зокрема встановлено, що за катаральної форми провідну роль відігравали *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli* (близько 20%). Це узгоджується з даними більшості досліджень, де ці збудники розглядаються як основні етіологічні агенти початкових форм маститу [125]. Водночас у частині досліджень встановлено домінування стафілококової мікрофлори, що, ймовірно, відображає вплив локальних умов утримання стада [135].

При гнійно-катаральній формі перебігу захворювання нами було виявлено переважання *Streptococcus agalactiae* (18,5%), що відповідає сучасним уявленням про його високу інвазивність та здатність викликати тяжкі ураження тканин молочної залози. Разом із тим, у частині досліджень домінуюча роль при тяжких формах маститу відводиться *Staphylococcus aureus* [159]. Значна частка *Streptococcus pyogenes* та *Escherichia coli* у формуванні гнійно-катаральних уражень підтверджує їх синергічну роль у прогресуванні запального процесу, що також відзначається у сучасних дослідженнях полімікробних інфекцій. Виявлення *Staphylococcus aureus* у половині досліджених проб загалом відповідає літературним даним щодо його здатності до персистенції та формування хронічних інфекцій [25].

В роботі Пастернак та ін. (2023) при визначенні збудників СКМ у корів лактаційного періоду та їх стійкості до антибіотичних засобів для обґрунтування доцільності застосування альтернативних засобів у схемах терапії та профілактики даного захворювання у відібраних зразках було виявлено 42,9% проб *Streptococcus spp* і 28,6% – *E. coli*, що володіють гемолітичними властивостями, і по 14,2% –

*Staphylococcus haemolyticus* та *Staphylococcus aureus* [28].

Триразове дослідження зразків молока зі збірних резервуарів BTSCC ( $n = 495$ ) в провінції Альберта (Канада) протягом 12 місяців із використанням real-time ПЛР показала, що частка стад, у яких принаймні один раз виявлено збудників, становила: *Staphylococcus aureus* – 57%, *Streptococcus agalactiae* – 1,6% та *Mycoplasma bovis* – 1,4% [205].

Певні особливості на результати виявлення алелів накладають модифікації методу ПЛР-ПДРФ, сезонність, особливості менеджменту молочних ферм, де виконувалися дослідження тощо, обмежуючи прогностичну цінність виявлених асоціацій (рис.4.2).

Проте їх значущість істотно підвищується при поєднанні з іншими показниками, такими як рівень соматичних клітин, параметри неспецифічної резистентності та дані клінічного спостереження [148, 168, 192, 202]. Крім того, точність оцінки чутливості великої рогатої худоби до маститу можна підвищити завдяки інтегрованому використанню лімфоцитарних і молекулярно-генетичних маркерів [214]. Тому формування молочного стада стійкого до захворювання вим'я з використанням автентичних алелів встановлених як ДНК-маркери чутливості чи стійкості до маститів для даної популяції має сенс [42].

Локус BoLA-DRB3 демонструє багатий алельний поліморфізм, що ускладнює його практичне застосування. Додаткові труднощі створюються різними підходами до номенклатури, яка використовується в дослідженнях. Класична номенклатура алелів ПЛР-ПДРФ має суттєвий недолік, тому що базується лише на 54 «стандартних» алелях. Тому нами запропоновано розширену номенклатуру, в яку включено всі виявленні в доступній в науковій літературі дані про всі ідентифіковані патерни триплетів ПЛР-ПДРФ. Опрацьовано понад 20 наукових робіт, у яких виявлено 66 «нестандартних» алелів BoLA-DRB3.2 у форматі «локус. екзон\*алель», що дозволило розширити номенклатуру до 120 варіантів. Така уніфікована система позначень алелів BoLA-DRB3.2 дозволяє більш точно відстежувати зміни їх частот у різних

популяціях, уникаючи дублювання та плутанини [66].

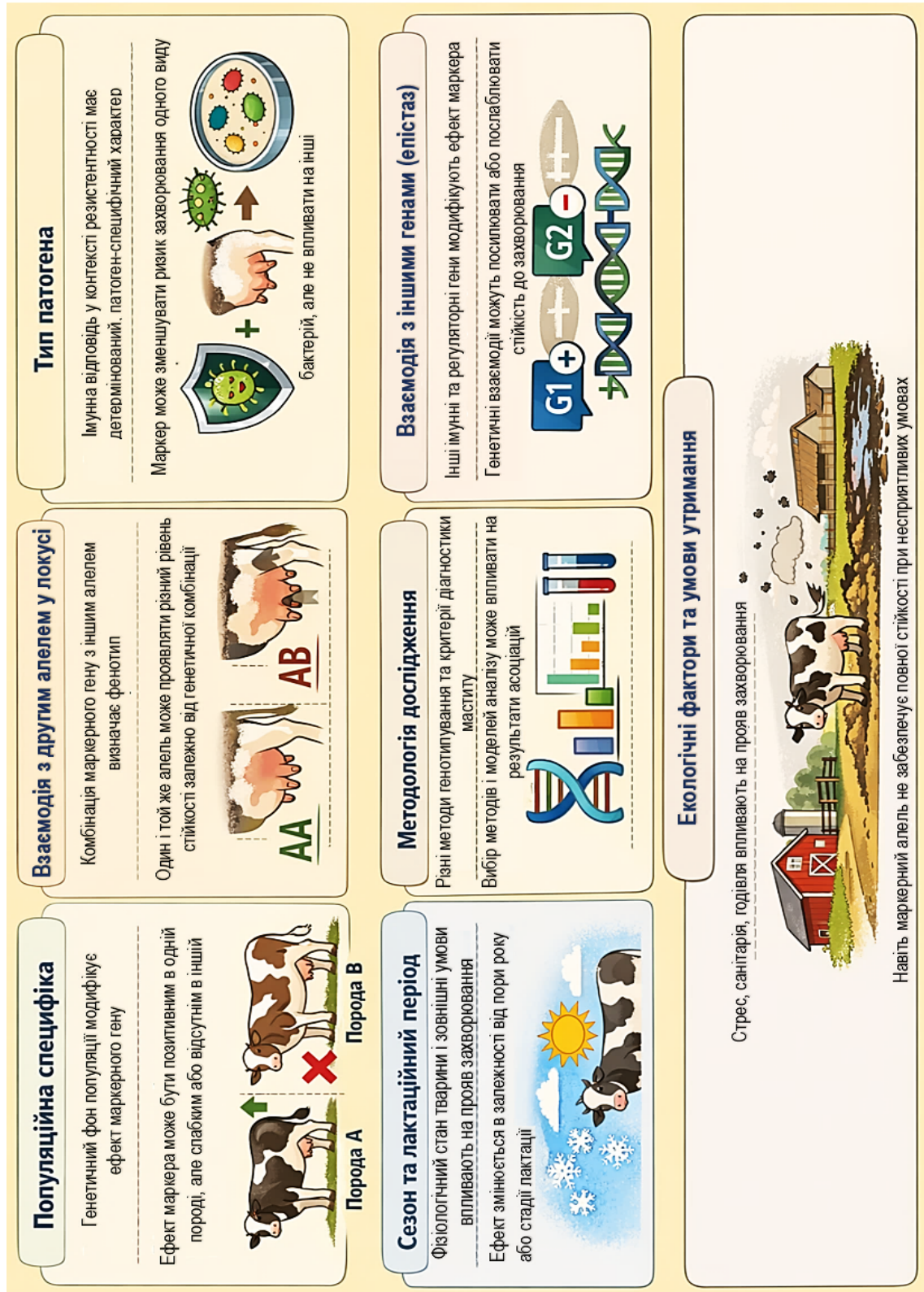


Рис.4.2. Фактори впливу на ефективність генетичних маркерів у великої рогатої худоби

Дослідження, в яких би розглядалися особливості перебігу катарального маститу та ефективність різних терапевтичних підходів залежно від наявності чи відсутності генетичних детермінант, асоційованих із розвитком патологічного

процесу, відсутні. Тому одним із головних завдань виконаної роботи було комплексне дослідження результатів традиційного лікування катарального маститу з урахуванням генетичного статусу хворих корів.

Теоретично імунна відповідь при маститі може розглядатися як результат узгодженої взаємодії трьох рівнів регуляції: вродженого імунітету (швидка неспецифічна реакція), адаптивного імунітету (специфічна клітинна та гуморальна відповідь) і генетичної регуляції через поліморфізм BoLA-DRB3. Між цими рівнями існує функціональний зв'язок, оскільки активація вродженого імунітету визначає інтенсивність запуску адаптивної відповіді, тоді як генетичні фактори модулюють силу та ефективність обох ланок [27, 48, 155]. Саме тому можливі асоціації між гематологічними показниками, субпопуляціями лімфоцитів та генотипами BoLA-DRB3 є біологічно обґрунтованими та відображають загальні закономірності функціонування імунної системи.

Наступний аналіз проведено з урахуванням поліморфізму алелів гена BoLA-DRB3.2 у двох дослідних групах тварин: Д1 – у генотипі яких наявні маркерні алелі BoLA-DRB3.2\*24 і \*26, асоційовані зі схильністю до розвитку маститу, та Д2 – у яких зазначені маркери відсутні або мають слабкий зв'язок із захворюванням. Додатково враховано показники контрольної групи клінічно здорових тварин та їхній клінічний стан після завершення терапії. Оцінку результатів здійснено за трьома основними напрямками:

- порівняння перебігу захворювання на 1, 3 і 9-у добу у групах Д1 і Д2;
- індивідуальна оцінка ефективності терапії у корів;
- визначення показників ефективності лікування.

В аналізі використано показники вродженого та адаптивного імунітету на основі гематологічних даних, лейкограми, чисельності Т- і В-лімфоцитів, їх субпопуляцій (Т-хелперів, Т-супресорів), а також функціонального стану Т-клітин (ТЕ-РУЛ, ТА-РУЛ).

*Порівняння перебігу захворювання у часовому розрізі в групах Д1 і Д2.*

Оцінка гематологічних показників показала, що перебіг запального процесу та ефективність його корекції істотно залежать від наявності у генотипі тварин

алелів BoLA-DRB3.2, асоційованих із маститом. У процесі лікування встановлено генотип-залежний характер змін показників крові. Зокрема, у корів дослідної групи з маркерами схильності до маститу DRB3.2\*24 і \*26 на 9-ту добу лікування відмічене достовірне зниження до 17% ( $P < 0,05$ ) кількості лейкоцитів, що свідчить про згасання запального процесу. У групі Д2, де такі алелі були відсутніми зниження показника ( $P < 0,05$ ) було менш вираженим. Однотипна динаміка виявлена для рівня гемоглобіну в обох дослідних групах. У групі Д1 підвищення становило 18% на 9-ту добу ( $P < 0,05$ ), тоді як у групі Д2 зростання було статистично значущим уже на 3-тю добу ( $P < 0,01$ ) з максимальним рівнем достовірності на 9-ту добу ( $P < 0,001$ ), що свідчить про більш інтенсивне відновлення показника у цих тварин. Відбулося відновлення білкового обміну в бік зростання. Динаміка показників загального протеїну в обох групах також була статистично значимою: у Д1 – 11-12% ( $P < 0,05$ ), у Д2 – 7,1% ( $P < 0,05$ ).

Більш виразні зміни виявлено при аналізі лейкоцитарної формули. У корів групи з маркерами DRB3.2\*24 і \*26 на початку захворювання виявлено достовірно нижчий рівень лімфоцитів порівняно з контролем ( $P < 0,001$ ). У процесі лікування їх частка достовірно зростала, як на 3-тю ( $P < 0,05$ ), так і на 9-ту добу ( $P < 0,001$ ), однак не досягала рівня клінічно здорових тварин. Про поступове згасання у цій групі запального процесу свідчить достовірне зниження частки паличкоядерних ( $P < 0,01$ ) та сегментоядерних нейтрофілів ( $P < 0,01$ ) на 9-ту добу лікування. Частка моноцитів також достовірно зменшувалася ( $P < 0,05$ ), відображаючи нормалізацію фагоцитарної ланки імунітету. Водночас у динаміці лікування рівень базофілів у корів групи Д1 достовірно зростав ( $P < 0,01-0,001$ ), що вказує на їх участь у регуляції запальної відповіді. Концентрація еозинофілів, навпаки, на 9-ту добу достовірно знизилася ( $P < 0,01$ ).

У групі де генетичні маркери схильності до маститів були відсутніми зміни лейкограми були менш вираженими, але з достовірним підвищенням частки лімфоцитів ( $P < 0,05$ ) та зниженням паличкоядерних нейтрофілів ( $P < 0,05$ ), що свідчить про нормалізацію імунного статусу.

Проведений кореляційний аналіз дозволив кількісно оцінити зв'язок між

генетичним профілем та ефективністю лікування. Встановлено наявність помірного прямого кореляційного зв'язку між наявністю алеля BoLA-DRB3.2\*26 та приростом рівня гемоглобіну ( $r = +0,62$ ;  $P < 0,05$ ) і загального протеїну ( $r = +0,58$ ;  $P < 0,05$ ), що підтверджує його позитивний зв'язок з відновними процесами. Водночас між алелем BoLA-DRB3.2\*24 та змінами дослідних показників виявлено слабкий або негативний зв'язок ( $r$  від  $-0,21$  до  $+0,34$ ;  $P > 0,05$ ), що свідчить про відсутність вираженого позитивного ефекту. Також кореляційні зв'язки між показниками були слабкими та нестійкими у групі корів без маркерів ( $r = 0,12-0,29$ ;  $P > 0,05$ ), що відображає високу варіабельність індивідуальної відповіді на лікування.

Отже, статистично значимі зміни і кореляційні зв'язки показали, що алель BoLA-DRB3.2\*26 асоціюється з більш вираженою позитивною динамікою окремих показників та узгодженим перебігом відновних процесів.

Схожі результати отримують дослідники в інших нестандартних схемах лікування маститу. Зокрема при використанні ліпосомального препарату «Ліманін» для лікування субклінічного перебігу захворювання виявлено збільшення кількості лейкоцитів ( $P < 0,01$ ), та гемоглобіну ( $P < 0,05$ ) і зниження на 8% популяції еритроцитів у крові хворих корів. Триразове введення хворим коровам в уражені чверті молочної залози ліпосомального препарату призвело до достовірного зменшення ( $P < 0,05$ ) загальної кількості лейкоцитів, особливо на 9-ту добу, що свідчить про згасання запального процесу [47]. Аналогічні результати отримано при застосуванні ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату [213].

У дослідженні пектинової терапії для лікування клінічного маститу, яке проводилося на етапах від гострої до перехідної стадії запального процесу, встановлено, що після курсу терапії (7-10 діб) у тварин достовірно змінювалися основні гематологічні показники: загальна кількість лейкоцитів зменшилась на 18-25 % ( $P < 0,05$ ), що відображало регресію запального процесу; кількість нейтрофілів стабілізувалася, а частка лімфоцитів підвищилася у середньому на 12-15 % ( $P < 0,05$ ). Показники гемоглобіну і гематокриту після лікування також

достовірно зростали, що вказує на поступове відновлення функціонального стану кровотворної системи [131].

У дослідженні Kuhtyn et al. (2021) терапія на протязі 7-12 діб місцевого введення препарату *Фагомаст* показала суттєві зміни гематологічних показників у корів з маститом. На початковому етапі спостерігали виразні відхилення у лейкоцитарному профілі: підвищену частку нейтрофілів на 55%, знижену частку лейкоцитів ( $P < 0,05$ ) і лімфоцитів до 30%. На 9-12-ту добу лікування відбулося зниження загальної кількості лейкоцитів ( $P < 0,05$ ) до фізіологічних меж, стабілізація кількості нейтрофілів і помірне підвищення частки лімфоцитів. Одночасно відновлювався рівень гемоглобіну і гематокрит, що в сукупності свідчило про поступове відновлення імунного гомеостазу і загальну позитивну реакцію організму на лікування [20].

Важливим регуляторним фактором імунної реактивності є генетично зумовлений поліморфізм генів МНС II класу, зокрема гена *BoLA-DRB3*. Даний ген кодує молекули, які беруть участь у презентації антигенів Т-лімфоцитам, визначаючи ефективність запуску адаптивної імунної відповіді. Алелі цього гена можуть по-різному впливати на інтенсивність активації Т- і В-клітин, що опосередковано відображається як у параметрах специфічного імунітету, так і в інтенсивності реакцій вродженої ланки. Показники Т- і В-ланок імунітету відповідають за специфічне розпізнавання антигенів і формування імунологічної пам'яті. Важливим є баланс між Т-хелперами і Т-супресорами, а показники *TE-РУЛ* і *ТА-РУЛ* відображають функціональну активність Т-клітин. Баланс між *Th*- і *Ts*-клітинами є критично важливим для підтримання імунного гомеостазу, оскільки його порушення може призводити як до надмірної запальної реакції, так і до недостатньої ефективності імунної відповіді. Водночас В-лімфоцити відіграють ключову роль у гуморальному імунітеті через продукцію специфічних антитіл, тоді як показники *TE-РУЛ* і *ТА-РУЛ* відображають функціональний стан Т-клітинного рецепторного апарату та їх здатність до антигенного розпізнавання [182, 208].

Результати дослідження свідчать, що у корів, хворих на катаральний мастит,

відбуваються виражені зміни адаптивного імунітету, які мають чітку кількісну динаміку та залежать від генотипу тварин і впливу терапії.

На початку лікування у корів груп Д1 і Д2 встановлено достовірне зниження відсотку ТЕ-РУЛ порівняно з контролем (69,4%). У тварин Д1 цей показник становив 55,4% (зменшення на 14%;  $P < 0,001$ ), у Д2 – 58% (зменшення на 11,4%;  $P < 0,001$ ), що свідчить про більш виражене пригнічення клітинної ланки імунітету у корів із алелями *BoLA-DRB3.2\*24* і *\*26*. На 3-тю добу лікування відбулося підвищення ТЕ-РУЛ до 59,1% у групі Д1 (ріст на 3,7%;  $P < 0,01$ ) і до 61% у Д2 (ріст на 3%;  $P < 0,01$ ). До 9-ї доби показник збільшився в обох групах, однак залишався нижчим за контроль на 6-7%, що свідчить про часткову нормалізацію клітинної імунної відповіді. Зниження відсотку ТЕ-РУЛ узгоджується із сучасними уявленнями про транзиторну імуносупресію при запальних процесах, за якої відбувається функціональне виснаження ефекторних Т-клітин та зниження їх проліферативної активності [48, 155, 196].

Достовірні зміни встановлено для активних Т-лімфоцитів. Їх рівень відображає функціональний стан клітинної імунної відповіді, зокрема здатність до антиген-специфічної проліферації та продукції цитокінів, що є ключовим для ефективної елімінації патогенів. До лікування відсоток Т-лімфоцитів був нижче за контроль (46,4%) і становив 35% у групі Д1 (зменшення на 11,4%;  $P < 0,001$ ) та 37% у Д2 (зменшення на 9,4%;  $P < 0,001$ ). На 3-тю добу лікування показники зросли до 36,4% і 38,2%, а на 9-ту добу – до 38,4% у Д1 і 40,8% у Д2, відповідно. У корів групи Д2 рівень був вищим ( $P < 0,01$ ), що свідчить про більш ефективне відновлення функціональної активності Т-клітин.

Аналіз імунорегуляторних субпопуляцій показав, що до лікування відсоток Т-хелперів був нижчим за контроль 46,4% і становив 37,2% у групі тварин з маркерами *BoLA-DRB3.2\*24* і *\*26* (зменшення на 9,2%;  $P < 0,001$ ) та 37,8% у Д2 (зменшення на 8,6%;  $P < 0,001$ ). На 9-ту добу лікування показник зріс до 40% в обох групах, однак залишався нижчим за контрольні значення. Зниження частки Т-хелперів може бути пов'язане з порушенням цитокінового балансу, оскільки ці клітини відіграють центральну роль у координації імунної відповіді,

включаючи диференціацію В-лімфоцитів та активацію макрофагів. Сучасні дослідження підкреслюють значення субпопуляцій Th1/Th2/Th17 у формуванні адекватної імунної відповіді при інфекційно-запальних процесах [48, 170].

На початку дослідження частка Т-супресорів у здорових корів становила близько 23% і відповідала верхній межі фізіологічної норми. На 9-ту добу лікування у корів Д2 встановлено її зростання до 31% (збільшення до 8%;  $P < 0,001$ ), тоді як у групі Д1 зміни були менш вираженими. Отримані дані узгоджуються із сучасними уявленнями, згідно з якими Т-супресори представлені переважно регуляторними Т-клітинами (Treg), що забезпечують контроль інтенсивності імунної відповіді та запобігають надмірному запаленню [154, 196]. Підвищення їх частки може свідчити про активацію механізмів імунної регуляції.

Гуморальна ланка імунітету також зазнала змін. Серед достовірних відхилень необхідно відмітити, що до лікування відсоток В-лімфоцитів був нижчим за контроль (50%) і становив 40,9% ( $P < 0,001$ ) у групі Д1 та 46,2% у Д2 ( $P < 0,05$ ). По завершенні терапії у варіанті Д2 показник майже зрівнявся з контролем піднявшись до рівня 48,8% ( $P < 0,05$ ), тоді як у групі Д1 інтенсивність росту на 7,9% була більш суттєвою. В-лімфоцити, окрім продукції антитіл, виконують також функцію антиген-презентуючих клітин і беруть участь у регуляції Т-клітинної відповіді, що підкреслює їх комплексну роль у формуванні гуморального і клітинного імунітету [27, 155].

Загалом встановлено, що під впливом терапії протягом 9 діб відбувається достовірне покращення показників адаптивного імунітету: підвищення відсотку ТЕ-РУЛ на 4-8%, ТА-РУЛ – на 3-4%, Т-хелперів – на 2-3% та зменшення недиференційованих клітин. Водночас у тварин зі слабоасоційованими алелями ці зміни виглядають більш вираженими та супроводжуються кращою нормалізацією імунорегуляторного балансу, що може вказувати на більш сприятливу динаміку відновлення імунної відповіді. У тварин із алелями BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 простежується тенденція до більшої напруженості імунних процесів і дещо повільнішої нормалізації показників.

Проведений кореляційний аналіз виявив наявність достовірних взаємозв'язків між генетичними та імунологічними показниками. Зокрема, встановлено сильний прямий зв'язок між наявністю алеля BoLA-DRB3.2\*26 та приростом В-лімфоцитів на 9-ту добу ( $r = +0,72$ ;  $P < 0,01$ ) і динамікою зниження Т-хелперів на 3-тю добу ( $r = +0,68$ ;  $P < 0,01$ ). Виявлено також обернений зв'язок між рівнем Т-супресорів і значенням ІРІ ( $r = -0,74$ ;  $P < 0,01$ ), що підтверджує їх ключову роль у регуляції імунного балансу.

Таким чином, встановлено, що імунна відповідь у процесі лікування має чітко виражений фазний характер: на ранньому етапі (3-тя доба) домінувало різке зниження Т-хелперів до 40% із одночасною активацією В-лімфоцитів на 5-7%. Після завершення лікування відбулося часткове відновлення хелперної ланки на 6-10% та інтенсивний ріст В-лімфоцитів на 12-16%.

Більш виражена та завершена нормалізація показників у тварин із алелем BoLA-DRB3.2\*26 свідчить про їх вищу імунну реактивність і ефективніші механізми адаптації, тоді як у тварин без маркерів або з алелем \*24 імунна відповідь є менш інтенсивною, більш варіабельною та характеризується збереженням ознак імунної напруги.

Отримані результати вказують на можливий зв'язок алелів гена BoLA-DRB3.2\*24 та \*26 не лише зі схильністю до розвитку маститу, але й з особливостями перебігу запального процесу, ступенем імунних порушень та динамікою відновлення організму в умовах терапії. З практичної точки зору це відкриває можливості для впровадження принципів індивідуалізованої ветеринарної медицини. Зокрема, корови – носії алелів схильності можуть потребувати більш інтенсивного та тривалішого лікування, додаткової імуномодулюючої підтримки та ретельнішого моніторингу клінічних, гематологічних та імунологічних показників. Водночас тварини без зазначених генетичних маркерів характеризуються більш сприятливим прогнозом і можуть ефективно реагувати на стандартні схеми терапії.

*Індивідуальна оцінка ефективності терапії за різного генотипу корів.*

У межах групи Д1 встановлено певну варіабельність імунної відповіді, що

проявлялася у різній інтенсивності активації лімфоцитарних популяцій, що є типовим для перебігу запальних захворювань молочної залози. У корови №6040 відзначено більш виражену позитивну динаміку показників клітинного та гуморального імунітету. Зокрема, рівень Т-лімфоцитів підвищився на 40% ( $P < 0,01$ ), а В-лімфоцитів – на 35% ( $P < 0,05$ ). Відзначалася активна мобілізація адаптивної імунної відповіді та ефективно залучення як клітинної, так і гуморальної ланок імунітету, що узгоджується із сучасними уявленнями про ключову регуляторну роль Т-хелперів у формуванні імунної відповіді при маститі [196]. Паралельно відмічалася нормалізація гематологічних показників, зокрема зниження проявів лейкоцитозу та стабілізація еритроцитарних параметрів.

Натомість у корови №1312 характер змін був менш вираженим. Приріст Т-лімфоцитів становив лише 12%, В-лімфоцитів – 10% ( $P > 0,05$ ). Позитивна тенденція була менш достовірною із-за обмеженої слабкої імунної відповіді. Подібна ситуація описана у дослідженні для тварин із підвищеною чутливістю до маститу [134]. Збереження відносного лейкоцитозу на тлі недостатньої нормалізації гематологічних показників свідчить про неповне згасання запального процесу та пролонгований перебіг відновних реакцій у корови Хвилька.

Таким чином, у межах групи Д1 простежується різний ступінь інтенсивності імунної відповіді, де №6040 демонструє більш ефективну адаптаційну реакцію порівняно з №1312.

Аналіз динаміки імунної відповіді у тварин №5556 та №2133 другої групи засвідчив, що загальна спрямованість імунологічних змін була подібною до виявлених для корів з генетичними маркерами, однак інтенсивність відновних процесів характеризувалася певними особливостями. Так у корови №5556 спостерігалася динаміка імунних показників була більш помірною. Про активну, але більш врівноважену імунну відповідь свідчить дещо менший, але статистично значимий ріст рівня Т-лімфоцитів на 28% і В-лімфоцитів – на 22% ( $P < 0,05$ ). Такий тип імунної відповіді сприяє регуляції запального процесу без

його надмірного посилення, а часткова нормалізація гематологічних показників вказує на поступове зменшення запального процесу та відновлення гомеостазу [208]. У іншій корови з групи Д2 №2133 динаміка була значно слабшою: приріст Т-лімфоцитів становив лише 8%, В-лімфоцитів – 5% ( $P > 0,05$ ). Також постерігався знижений або нестабільний рівень ІРІ (2,5-2,7) і збереження запального процесу в кінці лікування.

Встановлена наступна динаміка гематологічних показників: у корови №6040 відбулася нормалізація лейкоцитів, стабілізація кількості еритроцитів та підвищення рівня гемоглобіну; у корови №5556 – часткова нормалізація лейкоцитів і відновлення рівня гемоглобіну. У тварин із менш сприятливою динамікою лікування відмічали збережений лейкоцитоз і тенденцію до анемії (№1312), а також більш виражені гематологічні відхилення у вигляді лейкоцитозу та зниження еритроцитарних показників (№2133). Міжгрупові відхилення були достовірними ( $P < 0,05-0,01$ ) для лейкоцитів і гемоглобіну.

Виявлені відмінності між окремими тваринами у швидкості та повноті відновлення можуть бути пояснені генетично зумовленими особливостями імунної реактивності, пов'язаними з алелями BoLA-DRB3.2\*24 та \*26. У ряді досліджень вказується на асоціацію цього локусу з чутливістю до маститу [136, 203]. У тварин-носіїв маркерних алелів частіше спостерігається зниження ефективності активації Т-хелперної ланки, більш повільне зростання Т- та В-лімфоцитів, тенденція до збереження запального процесу і менш виражена нормалізація гематологічних показників, що добре узгоджується з динамікою показників у корів №1312 та №2133.

Таким чином, ефективність індивідуальної терапії маститу у корів визначалася поєднанням рівня імунологічної реактивності та генетичних чинників організму, що відображалось у різній інтенсивності відновних процесів.

Більш швидке відновлення імунних показників асоціюється зі збалансованою Т-хелперною відповіддю та узгодженою взаємодією субпопуляцій Т-лімфоцитів, що забезпечує ефективну регуляцію імунної

відповіді та контроль запального процесу.

Уповільнений перебіг відновних процесів пов'язаний із наявністю алелів BoLA-DRB3.2\*24 і \*26, які характеризуються зниженою ефективністю активації адаптивного імунітету та менш узгодженою координацією імунних реакцій, що може бути пов'язано більш тривалим збереженням запального процесу. У рамках отриманих результатів найбільшу інформативність мали динаміка Т-лімфоцитів і темпи нормалізації лейкоцитарних показників ( $P < 0,05-0,01$ ), що дозволяло комплексно оцінювати рівень імунної реактивності та перебіг відновних процесів у тварин.

Отримані результати порівняння індивідуальних результатів терапії підтверджують, що ефективність лікування маститу у корів визначається як імунологічними, так і генетичними механізмами, а алелі BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 можуть розглядатися як потенційні маркери прогнозування характеру, тривалості та ефективності відновлення.

#### *Показники ефективності лікування.*

Аналіз ефективності лікування маститу показав, що проведена терапія зумовила стабільну позитивну динаміку клінічного стану та істотні зміни показників клітинної й гуморальної ланок імунної системи у тварин обох дослідних груп. Але ступінь відновлення корів достовірно залежав від генетичних особливостей, зокрема алельного поліморфізму гена BoLA-DRB3.2.

Узагальнене порівняння показало, що корови зі слабоасоційованими алелями схильності до маститу мали стабільно вищі показники ефективності лікування за всіма дослідженими критеріями. Зокрема, швидше усунення клінічних проявів маститу та відновлення функціональної активності молочної залози підтверджується клінічним показником ефективності терапії в групі Д2 (86%), що достовірно перевищило аналогічний показник у Д1 на 12% ( $P < 0,01$ ).

Нормалізація гематологічних показників відбувалася подібними темпами в обох групах і становила 68,4% у Д2 проти 62,5% у Д1 ( $P > 0,05$ ), що вказує на відносно однакову динаміку усунення запального процесу. Стабілізація обмінних процесів теж була кращою у тварин Д2. Лабораторні характеристики

метаболічного статусу організму відновлювалися швидше, а різниця в ефективності їх нормалізації перевищила 10% ( $P < 0,01$ ).

Аналіз клітинної ланки імунітету показав, що ефективність відновлення Т-клітинних реакцій у групі Д2 досягала 89,9%, що достовірно перевищувало показник групи з генетичними маркерами схильності до маститу – 80,4% ( $P < 0,01$ ). Також у цих корів була вищою імунорегуляція, що свідчить про більш збалансовану взаємодію Т-хелперів і Т-супресорів.

Найбільш міжгрупові відмінності виявлено за показником гуморальної імунної відповіді: у групі Д2 він становив 92,4%, тоді як у Д1 – лише 73,8% ( $P < 0,001$ ).

Узагальненням параметрів ефективності *E2-E6* встановлено, що інтегральна ефективність лікування корів групи Д2 сумарно становила 84,4%, що достовірно перевищило відповідний показник у групі Д1 на 10,9% ( $P < 0,05$ ).

Отримані результати потребують порівняння з сучасними даними літератури щодо ролі генетичних маркерів імунної відповіді у формуванні резистентності до маститу у великої рогатої худоби.

Згідно з сучасними уявленнями, поліморфізм гена *BoLA-DRB3* суттєво впливає на ефективність імунної відповіді, визначаючи інтенсивність презентації антигенів та активації Т- і В-лімфоцитів і грає ключову роль клітинних та гуморальних механізмів захисту вим'я від інфекційних агентів [170]. Отримані дані загальної ефективності лікування підтверджують, що тварини зі слабо асоційованими алелями схильності до маститу, демонструють більш високі значення інтегральної ефективності лікування ніж корови з алелями *BoLA-DRB3.2\*24* і *\*26*, що свідчить про більш повноцінну реалізацію клітинної та гуморальної імунної відповіді та обґрунтовує доцільність використання генетичних маркерів у прогнозуванні перебігу захворювання та оптимізації терапевтичних стратегій у ветеринарній практиці.

Поглиблений аналіз індивідуальних показників ефективності лікування маститу у корів дозволив виявити виражену гетерогенність клініко-імунологічних реакцій, що проявляється у варіабельності перебігу запального

процесу та швидкості відновлення функціонального стану організму у різних тварин. Встановлена неоднорідність відповідей свідчить про суттєву роль індивідуально-генетичних чинників у формуванні імунної реактивності, що узгоджується з сучасними уявленнями про генетичну детермінованість імунної відповіді у великої рогатої худоби [111, 210].

У цьому контексті ключове значення мають гени комплексу головної гістосумісності BoLA класу II, зокрема високополіморфний локус BoLA-DRB3.2, який визначає молекулярні механізми антигенпрезентації та ініціації адаптивної імунної відповіді. Поліморфізм даного локусу зумовлює варіативність зв'язування антигенних пептидів і, відповідно, ефективність активації Т-хелперів та подальшу диференціацію їх субпопуляцій, що безпосередньо впливає на характер імунорегуляторних процесів [111, 178].

Сучасні дослідження підтверджують, що окремі алельні варіанти BoLA-DRB3 асоційовані як із підвищеною резистентністю, так і зі схильністю до маститу, що відображається у відмінностях інтенсивності імунної відповіді та ефективності елімінації збудника [214].

Генетично зумовлений поліморфізм системи BoLA, зокрема локусу DRB3.2, виступає одним із головних факторів, який визначає індивідуальні відмінності у перебігу запального процесу, рівні імунної реактивності та ефективності відновлення гомеостазу після проведеної терапії, що необхідно враховувати при інтерпретації результатів лікування та розробці персоналізованих підходів у ветеринарній медицині.

На цьому фоні чітко простежуються відмінності між окремими тваринами за результатами лікування (табл.4.2). Так, найвищі значення загальної ефективності встановлено у корів №6040 (90%) та №1312 (89%). У цих тварин спостерігалося найбільш повне та узгоджене відновлення як клінічних, так і лабораторних показників: нормалізувалася лейкоцитарна формула, стабілізувався рівень гемоглобіну і загального протеїну. Водночас відзначалося гармонійне відновлення клітинної та гуморальної ланок імунітету – із достатньою активацією Т-хелперів, Т-супресорів і В-лімфоцитів. Така

узгодженість змін свідчить про ефективну взаємодію вроджених і адаптивних механізмів імунного захисту та, ймовірно, пов'язана з наявністю сприятливих варіантів BoLA-DRB3.2.

Таблиця 4.2

Порівняльна характеристика клініко-імунологічних показників у корів з різною ефективністю лікування маститу

Номер бирки	Ефективність лікування, %	Гематологічні показники	Т-клітинна ланка (Th/Ts)	В-лімфоцити	Імунологічна інтерпретація	Ймовірний статус BoLA-DRB3.2
№6040	90,0±3,1	Повна нормалізація WBC, HGB, загального протеїну	Гармонійне відновлення імунних параметрів	Високий рівень	Оптимальна координація вродженого та адаптивного імунітету	Сприятливі алелі (висока презентація антигену)
№1312	89,2±3,2	Стабільна нормалізація гематологічних показників	Гармонійне відновлення	Збільшений рівень	Ефективна імунна відповідь	Ймовірно сприятливий генотип
№5556	73,0±4,5	Часткова нормалізація показників	Помірне відновлення Th/Ts	Середній рівень	Проміжний тип імунної реактивності	Можлива гетерозиготність BoLA-DRB3.2
№2133	83,0±3,8	Знижений HGB, загальний протеїн, нестабільний WBC	Слабка активація Т-ланки	Низький рівень	Нестабільна імунна відповідь, знижена резистентність	Несприятливі алелі (низька презентація антигену)

Деяка інша картина спостерігалася у корови №2133, де загальна ефективність лікування становила 83%. Хоча більшість показників мали позитивну динаміку, відновлення параметрів адаптивного імунітету було менш вираженим і більш поступовим. Це може свідчити про проміжний рівень імунної реактивності, коли імунна відповідь формується достатньо, але не досягає оптимальної інтенсивності, що частково може бути пов'язано з особливостями алельного складу BoLA-DRB3.2.

Найменш сприятливу динаміку встановлено у корови №5556 (73%), де процес відновлення мав більш затяжний характер. У цієї тварини відзначалося

зниження рівня гемоглобіну та загального протеїну, а також недостатня активація як Т-, так і В-лімфоцитарної ланки імунітету. Крім того, спостерігалася більша варіабельність показників, що свідчить про нестабільність імунної відповіді. Подібні особливості можуть бути пов'язані з менш ефективними варіантами BoLA-DRB3.2, які обмежують повноцінність антигенпрезентації та координацію імунної відповіді.

Узагальнюючи отримані дані, можна відзначити, що різниця між тваринами з найвищими (№6040, №1312) та нижчими (№2133, №5556) показниками ефективності лікування становила 16-17%. При цьому результати статистичного аналізу (t-критерій Стьюдента) свідчать про наявність достовірних відмінностей ( $P < 0,05$ ), що підтверджує вагомий вплив індивідуальних, у тому числі генетично зумовлених факторів, на ефективність терапії.

Виявлені результати свідчать, що ефективність лікування маститу визначається не лише застосованою терапією, але й індивідуальними особливостями імунної відповіді тварин. Це підкреслює доцільність індивідуального підходу до оцінки перебігу захворювання та відкриває перспективи для впровадження елементів.

Нижче подано узагальнюючу інформацію порівняльних показників для ілюстрації імунологічних змін і ролі BoLA-DRB3.2 у формуванні ефективності лікування маститу.

Таким чином, ефективність лікування маститу у корів визначається комплексною взаємодією індивідуальних імунологічних механізмів та генетично детермінованих особливостей організму. Ключову роль відіграє узгоджене функціонування клітинної та гуморальної ланок імунної системи, рівень якої варіює залежно від генетичного профілю тварин. Виявлені закономірності дозволяють розглядати алелі гена BoLA-DRB3.2 як перспективні маркери прогнозування перебігу маститу та ефективності лікування, що створює наукове підґрунтя для впровадження генетично орієнтованих підходів у ветеринарній практиці та селекційній роботі.

Визначення алелів BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 для корів української чорно-рябої молочної породи може бути застосоване для:

- раннього прогнозування ризику розвитку маститу;
- формування дійсного стада з підвищеною резистентністю до патології молочної залози;
- диференційованого підходу до профілактичних заходів;
- оптимізації схем терапії з урахуванням імуногенетичного статусу тварини.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вперше на основі ПЛР-ПДРФ визначено алелі гена BoLA-DRB3 для корів української червоної молочної породи асоційовані з захворюваністю та резистентністю до маститу. Представлено поширення та перебіг запалень молочної залози корів в Хмельницькому регіоні, обґрунтовано мікробну етіологію цих процесів. Встановлено бактеріологічний спектр збудників захворювання при субклінічному та катаральному маститі.

Вперше встановлено особливості імунної відповіді корів при катаральному маститі за умов застосування комплексної терапії з урахуванням генетичного поліморфізму гена BoLA-DRB3. Висвітлено особливості клінічних проявів захворювання вим'я у корів з урахуванням алелів гена BoLA-DRB3. Показано, що ефективність лікування суттєво залежить від наявності або відсутності у тварин алелів DRB3.2\*24 і \*26, асоційованих із розвитком патологічного процесу.

1. Аналіз генетичного поліморфізму гена BoLA-DRB3.2 на основі методу ПЛР-ПДРФ показав наявність детермінованих алельних варіантів, які проявляють сильні асоціації з чутливістю до маститу. Для української червоної молочної породи зі схильністю до захворювання відзначено сильний зв'язок для алеля BoLA-DRB3.2\*26 ( $P < 0,001$ ), а із стійкістю до маститу – BoLA-DRB3.2\*28 ( $P < 0,05$ ); для української чорно-рябої молочної породи – BoLA-DRB3.2\*24 ( $P < 0,05$ ), \*26 ( $P < 0,05$ ) та BoLA-DRB3.2\*28 ( $P < 0,01$ ), відповідно.

2. Встановлено, що середній рівень захворюваності корів на субклінічний мастит у Хмельницькому регіоні у фермерських господарствах у 2024 році становив 15,9% від усього поголів'я тварин, у 2025 році – 16,1%. Моніторинг захворюваності у дослідному господарстві ТОВ імені Богдана Хмельницького в 2023-2025 рр. мав середній показник маститу у 36,2% із переважанням субклінічної форми (25,4%) над клінічною (10,7%). У структурі клінічних форм

домінувала катаральна форма (61,2%). Найчастіше мастит реєстрували у корів третьої лактації.

3. За прихованого перебігу захворювання домінували коагулазонегативні стафілококи (37,2%), *Escherichia coli* (20,9%) та *Staphylococcus aureus* (16,7%), за катаральної форми провідними збудниками були *Staphylococcus aureus* (21,9%) і *Escherichia coli* (19,5%), а за гнійно-катаральної форми зростає етіологічна роль *Streptococcus agalactiae* (18,5%). Епізоотичні штами *Staphylococcus aureus* проявляють резистентність до 37,5 % антибактеріальних препаратів.

4. Дослідженнями клінічних проявів патології молочної залози у корів з субклінічним перебігом та катаральною формою маститу виявлено, що майже 60% корів були носіями алелів BoLA-DRB3.\*24 і \*26. Встановлено, що у тварин з гнійно-катаральною у формою маститу вони були наявними у всіх тварин як в гетеро- так і в гомозиготному стані. У клінічно здорових корів домінує алель BoLA-DRB3\*28, асоційований із підвищеною резистентністю до захворювання.

5. Встановлено генетичну зумовленість динаміки гематологічного та біохімічного профілю корів за наявності алелів BoLA-DRB3.2\*24 та \*26. На 9-ту добу терапії у цих тварин відбувається відновлення гомеостазу, що підтверджується вірогідним зростанням рівня гемоглобіну на 18% ( $P < 0,05$ ), загального білка – на 11,5% ( $P < 0,05$ ) при одночасному нівелюванні лейкоцитарної реакції зі зниженням на 20% ( $P < 0,05$ ). Виявлено детермінованість імунної відповіді в групі тварин з алелями BoLA-DRB3.2\*24 та \*26, що зумовлює гострішу реакцію ефektorних клітин крові на запалення. Зафіксована динаміка характеризувалася підвищенням рівня нейтрофілів (у 1,76 рази) та моноцитів (у 1,44 рази) з наступним їх вірогідним зниженням на 25,4% та 33,9% наприкінці періоду лікування.

6. Встановлено специфіку відновлення імунного статусу корів залежно від їхнього генотипу: тварини-носії алелів BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 характеризуються інтенсивнішою нормалізацією загальної кількості Т-лімфоцитів (ріст ТЕ-РУЛ на 7,6 % до  $63,0 \pm 1,0$  %,  $P < 0,05$ ) та стабілізацією імунорегуляторного балансу (PI  $1,74 \pm 0,07$ ) до рівня фізіологічної норми. Водночас у корів з «нейтральними»

алелями покращення показників супроводжується активнішою мобілізацією високоавідних клітин (ріст ТА-РУЛ до  $40,8 \pm 1,11\%$ ,  $P < 0,01$ ), проте характеризується різким зростанням частки Т-супресорів (до  $31,0 \pm 0,7\%$ ,  $P < 0,01$ ) та зниженням ІРІ до  $1,3 \pm 0,04$ . Це свідчить про вищий потенціал відновлення імунологічного гомеостазу у тварин з ДНК-маркерами (\*24 і \*26) за рахунок збалансованої реакції ефекторної ланки імунітету.

7. Встановлено, що у корів з алелями BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 спостерігалася стійка тенденція до відновлення популяції В-лімфоцитів, хоча цей процес відбувався повільніше порівняно з тваринами другої групи («нейтральні» алелі). Попри початково глибшу імуносупресію ( $40,9 \pm 1,1\%$ ,  $P < 0,01$ ), на 9-ту добу терапії у корів-носіїв алелів вміст В-клітин вірогідно зріс до  $43,6 \pm 1,2\%$  ( $P < 0,01$ ). Проте у тварин з нейтральними алелями нормалізація показника була інтенсивнішою, досягнувши наприкінці досліджень рівня контролю ( $48,8 \pm 1,1\%$ ), що вказує на більш активне відновлення гуморальної ланки захисту у корів без алелів \*24 і \*26.

8. Виявлено суттєві відмінності у тривалості клінічного відновлення залежно від присутності в генотипах корів алелів \*24\* і \*26\*. Середня тривалість одужання у корів з ДНК-маркерами становила 4 -5 діб, тоді як у групі зі слабо асоційованими алелями – 3 - 4 доби. Кореляційний зв'язок між генотипом і тривалістю одужання ( $r = 0,71$ ) підтверджує вплив генетичних факторів на швидкість клінічного відновлення та особливостей імунної відповіді.

9. У групі тварин з алелями, асоційованими зі схильністю до маститу, інтегральна ефективність терапії становила 73,5%, тоді як у групі зі слабо асоційованими алелями – 84,4% ( $P < 0,05$ ). Індивідуальна ефективність лікування корів з високим і низьким рівнем динаміки терапії показала, що тварин із генетичними маркерами сприйнятливості до маститу інтегральна ефективність сягала 89,2-90%, тоді як у корів другої групи лише 73-83%.

## ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

З метою профілактики маститу корів української чорно-рябої молочної породи рекомендується враховувати генотип тварин за алелями гена BoLA-DRB3.2\*24 і \*26, які асоціюються із сприйнятливістю та BoLA-DRB3.2\*28, що обумовлює резистентність до захворювання молочної залози.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Башченко, М. І., Бойко, О. В., Гончар, О. Ф., Сотніченко, Ю. М., & Ткач, Є. Ф. (2020). Вплив генотипових і паратипових факторів на продуктивність молочної худоби. *Вісник аграрної науки*, 98(3), 55–60. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202003-08>
2. Болтянська, Н. І. (2020). Аналіз факторів виникнення маститу у корів. *Вісник Харківського національного технічного університету сільського господарства імені Петра Василенка*, Випуск 209, 67–69. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vkhdtusg\\_2020\\_209\\_16](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vkhdtusg_2020_209_16)
3. Брода, Н. А., Собко, Г. В., Мудрак, Д. І., Масюк, М. Б., & Матвіїшин, Т. С. (2021). Імунобіологічна реактивність організму корів, хворих на субклінічну форму маститу, за дії апіфітопрепарату «Антимаст». *Conference Modern Methods of Diagnostic, Treatment and Prevention in Veterinary Medicine*, 28–29. Retrieved from <https://nvlvet.com.ua/index.php/conference/article/view/4478>
4. Вальчук, О. А., & Деркач, С. С. (2014). Мастит у корів. *Ветеринарне акушерство*. ЕДорада. <https://edorada.org/en/articles/89>
5. Влізло, В. В., Салига, Ю. Т., & Макарович, А. В. (2016). Мастит корів: етіологія, патогенез, діагностика і профілактика. ІБТ НААН.
6. Влізло, В. В., Федорук, Р., Ратич, І. Б., та ін. (2012). *Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині*. Львів: Сполом. ISBN 976-966-665-677-6.
7. Гладій, М. В., Башченко, М. І., Полупан, Ю. П., та ін. (2017). Селекційні, генетичні та біотехнологічні методи удосконалення і збереження генофонду порід сільськогосподарських тварин / за ред. М. В. Гладія, Ю. П. Полупана. *Полтава: ТОВ «Фірма “Техсервіс”»*. 793 с.
8. Горюк, Ю. В., Кухтин, М. Д., Перкій, Ю. Б., & Горюк, В. В. (2018). Поширення основних збудників маститу корів на молочних фермах західного регіону України. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 20(83), 115–119. <https://doi.org/10.15421/nvlvet8322>
9. Горюк, Ю. В. (2023). Обґрунтування, розробка та застосування бактеріофагового препарату для лікування корів, хворих на мастит Автореф.

- дис. д-ра вет. наук, ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Retrieved from: [https://uacademic.info/download/file/0523U100069/autoreferat-Реферат\\_ГОРЮК ЮЛІЯ ВІКТОРІВНА.pdf](https://uacademic.info/download/file/0523U100069/autoreferat-Реферат_ГОРЮК ЮЛІЯ ВІКТОРІВНА.pdf).
10. Грабовський, С. С. (2014). Вплив імуномодуляторів природного походження на показники клітинного імунітету і рівень кортизолу в крові щурів за умов стресу. *Біологічні студії*, 8(1), 93–102. <https://doi.org/10.30970/sbi.0801.342>
  11. Дзіцюк, В. В., Мохначова, Н. Б., & Добрянська, М. Л. (2022). Виявлення молекулярно-генетичних маркерів тварин, асоційованих з гіпоалергенними властивостями молока: методичні рекомендації. Чубинське: Інститут розведення і генетики тварин ім. М. В. Зубця НААН. 28 с.
  12. Дмитренко, Н. І., & Панікар, І. І. (2012). Конспект лекцій з патологічної фізіології для студентів факультету ветеринарної медицини (напрямок підготовки 6.110101 – Ветеринарна медицина ОКР – Бакалавр. URL: <https://www.pdau.edu.ua/sites/default/files/node/1469/oporniykonspektpatofiziologiya.pdf>.
  13. Довгій, Ю. Ю., Сеніченко, В. Ю., Фещенко, Д. В., & Чала, І. В. (2019). Вплив вітамінно-мінеральних комплексів на молочну продуктивність та гематологічні показники корів. *Scientific Progress & Innovations*, (2), 85–91. <https://doi.org/10.31210/visnyk2019.02.10>
  14. Інтенсивне молочне скотарство Ізраїлю (n.d.). <https://propozitsiya.com/articles/intensyvne-molochne-skotarstvo-izrayilyu>
  15. Караванський, М., Рудь, В., & Тарасенко, Л. (2021). Рівень соматичних клітин молока коров'ячого як важливий показник його безпечності. *Аграрний вісник Причорномор'я*, (101). <https://doi.org/10.37000/abbsl.2021.101.08>
  16. Козій, В. І., Сахацький, М. І., & Хоменко, В. І. (2018). Гігієна доїння як фактор профілактики маститу у корів. *Науковий вісник ветеринарної медицини*, (1), 45–50.
  17. Кондрашов, М. С. (2010). Поширеність мікозного маститу серед дійних корів. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 12(3(45), ч. 1), 99–102.
  18. Коцюмбас, І. Я., & Жила, М. І. (2015). Захворювання молочної залози у корів. *Сполом*.

19. Краснова, Н. Г., & Головка, А. М. (2013). Етіопатогенез і специфічна профілактика маститів у корів. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок*, 14(3–4), 390–397. [http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis\\_nbuv/cgiirbis\\_64.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAGE\\_FILE\\_DOWNLOAD=1&Image\\_file\\_name=PDF/Ntbibt\\_2013\\_14\\_3-4\\_72.pdf](http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAGE_FILE_DOWNLOAD=1&Image_file_name=PDF/Ntbibt_2013_14_3-4_72.pdf)
20. Кухтин, М., Горюк, Ю., Горюк, В., & Просяний, С. (2021). Динаміка морфологічних та біохімічних показників крові корів, хворих на мастит, при застосуванні фагового препарату «Фагомаст». *Аграрний вісник Причорномор'я*, 100, 44–51. <https://doi.org/10.37000/abbsl.2021.100.09>
21. Кушнір, М. І., Стефанік, В. Ю., & Шпак, М. О. (2012). Етіологічні чинники виникнення маститу у корів. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького*, 14(3(1)), 130–135. [http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis\\_nbuv/cgiirbis\\_4.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=JRN&IMAGE\\_FILE\\_DOWNLOAD=1&Image\\_file\\_name=PDF/nvlnu\\_2012\\_14\\_3%281%29\\_\\_27.pdf](http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_4.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=JRN&IMAGE_FILE_DOWNLOAD=1&Image_file_name=PDF/nvlnu_2012_14_3%281%29__27.pdf)
22. Левченко, В. І., Кондрахін, І. П., Влізло, В. В., Головаха, В. І., Судаков, М. О., Мельник, Й. Л., Чумаченко, В. Ю., Богатко, Л. М., Лисенко, В. В., & Папченко, І. В. (2012). Внутрішні хвороби тварин. Білоцерківський національний аграрний університет
23. Мастит у корів: сучасна профілактика та лікування. URL: <https://horoshun.com.ua/ua/articles/mastit-u-korov-sovremennaya-profilaktika-i-lechenie/>
24. Міністерство аграрної політики України. (2019). Наказ № 118 від 12 березня 2019 р. “Про затвердження Вимог до безпечності та якості молока і молочних продуктів” (14 серпня 2024 р. за № 1245/42590). <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1245-24>
25. Мазуренко, В. Р. (2021). Комплексна біотехнологічна діагностика контагіозного маститу корів [Дисертація кандидата біологічних наук, Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»]. КПІ ім. Ігоря Сікорського. <https://ela.kpi.ua/handle/123456789/40872>
26. Мурська, С. Д. (2014). Моніторинг маститів у корів господарств Львівської та Тернопільської області. *Вісник Сумського національного аграрного*

- університету. *Серія: Ветеринарна медицина*, 1, 207–211. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna\\_vet\\_2014\\_1\\_57](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_vet_2014_1_57)
27. ННЦ «Інститут біології та медицини». (n.d.). Протиінфекційний імунітет (Розділ 15). [https://biomed.knu.ua/Library/Rozdil\\_15.pdf](https://biomed.knu.ua/Library/Rozdil_15.pdf)
  28. Пастернак, А. М., Кошевой, В. І., Науменко, С. В., Радзиховський, М. Л., & Склярів, П. М. (2023). Особливості бактеріальної контамінації секрету молочної залози корів лактаційного періоду за субклінічного маститу. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 25(112). <https://doi.org/10.32718/nvlvet1121>
  29. Переста, А. М., Калачнюк, Л. Г., & Постоєнко, Г. В. (2017). Природна резистентність корів при маститах за впливу апіфітопрепаратів. *Бджільництво України*, 2, 166–171. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bdjukr\\_2017\\_2\\_22](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bdjukr_2017_2_22)
  30. Поліщук, М. М. (2013). Лікування корів, хворих на серозний мастит. *Ветеринарна медицина України*, (3), 43.
  31. Поліщук, Т. В., & Воробйова, Т. В. (2016). Етологія надремонтного молодняка за різних способів утримання. *Аграрна наука та харчові технології*, 2(92), 149–156.
  32. Поширеність збудників та контроль маститу на молочних фермах. <https://milkua.info/uk/post/profilaktika-ta-likuvanna-mastitiv-estonskij-dosvid-PtU>
  33. Радзиховський, М. Л., Дишкант, О. В., Виговська, Л. М., Куліщенко, О. М., & Давиденко, П. О. (2023). Традиційні методи діагностики інфекційного маститу у великої рогатої худоби. *Науковий вісник ветеринарної медицини*, 24(1). <https://doi.org/10.36359/scivp.2023-24-1.21>
  34. Риженко, Г. Ф., Горбатюк, О. І., Андріяшук, В. О., Жовнір, О. М., Уховська, Т. М., Тютюн, С. М., & Каменчук, П. П. (2016). Мікробіологічне забруднення молока і молочних продуктів за субклінічних маститів у корів та шляхи їх попередження. *Ветеринарна біотехнологія*, (29), 233–241. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb\\_2016\\_29\\_28](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb_2016_29_28)
  35. Салига, Ю. Т., & Федорук, Р. С. (2020). Мастит корів як фактор зниження якості молока. *Вісник аграрної науки*, (6), 28–33.
  36. Сачук Р.М. (2021). Експериментально-теоретичне обґрунтування розробки препаратів для профілактики акушерської патології і субклінічного маститу

- корів та їх фармако-токсикологічна характеристика. Дис. д-ра с.-г. наук, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені Гжицького. Інституційний репозитарій Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій. Retrieved from: [https://uacademic.info/download/file/0521U100391/ДИСЕРТАЦІЯ\\_САЧУК Р.М.pdf](https://uacademic.info/download/file/0521U100391/ДИСЕРТАЦІЯ_САЧУК Р.М.pdf)
37. Сачук, Р.М., Стравський, Ю.С., Шевченко, А.М., Кацараба, О.А., Костишин, Ю.Ю. та Жигалюк, С.В. (2019). Поширення, етіологія та профілактика субклінічного маститу у корів. *Український журнал ветеринарних та сільськогосподарських наук*, 2 (2), 18-21. <https://doi.org/10.32718/ujvas2-2.04>
  38. Скляр, О. І., & Фотіна, Т. І. (2016). Санітарний стан доїльного обладнання та його вплив на розповсюдження субклінічного маститу корів. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*, (6), 50–53.
  39. Строяновська Л.В. (2025). Імунобіологічна реактивність організму корів із запальним процесом молочної залози за дії ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина (21 Ветеринарія). Заклад вищої освіти «Подільський державний університет». <https://pdatu.edu.ua/razovi-spetsializovani-vcheni-rady.html>
  40. Строяновська, Л., & Супрович, Т. (2021). Поширення та етіологія маститів у фермерському господарстві. *Аграрний вісник Причорномор'я*, 100, 16–21. <https://doi.org/10.37000/abbsl.2021.100.04>
  41. Супрович, Т. М. (2015). Асоціативний зв'язок між алелями гена BoLA-DRB3.2 та маститами. *Біологія тварин*, 17(3), 141–146.
  42. Супрович, Т. М., & Бірюкова, О. Д. (2017). Головний комплекс гістосумісності як молекулярно генетичний маркер в селекції великої рогатої худоби. В кн. М. В. Гладій & Ю. П. Полупан (Eds.), *Селекційні, генетичні та біотехнологічні методи удосконалення і збереження генофонду порід сільськогосподарських тварин*. Полтава: ТОВ «Фірма «Тех сервіс». ISBN 978-617-7038-60-2
  43. Супрович, Т. М., & Супрович, М. П. (2020). Поліморфізм гена BoLA-DRB3 як маркер чутливості до захворювань великої рогатої худоби (монографія). Кам'янець-Подільський: Подільський державний аграрно-технічний

- університет. URL: <http://188.190.33.55:7980/jspui/handle/123456789/7983>
44. Супрович, Т. М., Супрович, М. П., Бандура, В. В., & Чорний, І. О. (2023). Генетичні дослідження великої рогатої худоби на основі ДНК-маркерів. *Подільський вісник: сільське господарство, техніка, економіка*, 38(1), 192–202. <https://doi.org/10.37406/2706-9052-2023-1.29>
  45. Бандура, В. В., & Супрович, Т. М. (2026). Паратипові чинники маститу корів в умовах фермерського господарства. *Подільський вісник: сільське господарство, техніка, економіка*, (50). С.282-288 <https://doi.org/10.37406/2706-9052-2026-1-39>
  46. Титух, Я. В. (2021). Моніторинг різних форм маститу у господарствах Сумської області. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Ветеринарна медицина»*, 1(52), 45–49. <http://repo.snau.edu.ua:8080/xmlui/handle/123456789/9513>
  47. Чепурна, В. А., & Ободовська, М. В. (2022). Показники крові у корів з патологією молочної залози за дії ліпосомального препарату. *ЛОГОС: Збірник наукових праць, Cambridge, UK*, 147–149. <https://doi.org/10.36074/logos-20.05.2022.043>
  48. Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2021). *Cellular and molecular immunology* (10th ed.). Elsevier.
  49. Abebe, R., Hatiya, H., Abera, M., Asmare, K., & Megersa, B. (2016). Bovine mastitis: Prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, 12, Article 270. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0905-3>
  50. Ablondi, M., Summer, A., Stocco, G., Degano, L., Vicario, D., Stefanon, B., Sabbioni, A., & Cipolat-Gotet, C. (2023). Heritability and genetic correlations of total and differential somatic cell count with milk yield and composition traits in Italian Simmental cows. *Journal of dairy science*, 106(12), 9071–9077. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23639>
  51. Adkins, P. R. F., & Middleton, J. R. (2018). Methods for diagnosing mastitis. The veterinary clinics of North America. *Food animal practice*, 34(3), 479–491. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.07.003>
  52. Ahmed, H. A., Hussein, A. E.-D., & El Diasty, M. (2024). Study on mycological and

- molecular detection of yeast and mold isolated from bovine mastitis. *SVU International Journal of Veterinary Sciences*, 7(3), 64–76. <https://doi.org/10.21608/svu.2024.308859.1336>
53. Aida Y., Takeshima S., Baldwin C.L., Kaushik A.K. (2015). Bovine immunogenetics. In: Garrick D.J., Ruvinsky A., editors. *The genetics of Cattle*. 2nd ed. Croydon, UK: CAB International.
54. Andersson, L., Sigurdardottir, S., & Borsch, C. (1988). Genetic mapping of the bovine major histocompatibility complex. *Animal Genetics*, 19, 215–225.
55. Angelopoulou, A., Holohan, R., Rea, M. C., Warda, A. K., Hill, C., & Ross, R. P. (2019). Bovine mastitis is a polymicrobial disease requiring a polydiagnostic approach. *International Dairy Journal*, 99, Article 104539. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104539>
56. Ashraf, A., & Imran, M. (2020). Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. *Animal Health Research Reviews*, 21(1), 36–49. doi:10.1017/S1466252319000094
57. Ashraf, A., & Imran, M. (2023). Diagnosis of bovine mastitis: From conventional to molecular methods. *Microorganisms*, 11(2), 321. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020321>
58. Assatbayeva, G., Issabekova, S., Uskenov, R., Karymsakov, T., & Abdrakhmanov, T. (2022). Influence of microclimate on ketosis, mastitis and diseases of cow reproductive organs. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 10(3), 2230. <https://doi.org/10.31893/jabb.22030>
59. Azooz, M. F., El-Wakeel, S. A., & Yousef, H. M. (2020). Financial and economic analyses of the impact of cattle mastitis on the profitability of Egyptian dairy farms. *Veterinary World*, 13(9), 1750–1759. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1750-1759>
60. Baidevatov, Yu. A., & Baidevatova, Yu. V. (2019). Dissemination of mastitis and peculiarities of defeating quarters of the mammary gland in cows of various breeds in the farms of the Sumy region. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, (2), 227–231.
61. Baldwin, C. L., Damani-Yokota, P., Yirsaw, A., Loonie, K., Teixeira, A. F., &

- Gillespie, A. (2021). Special features of  $\gamma\delta$  T cells in ruminants. *Molecular immunology*, 134, 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2021.02.028>
62. Baltian, L. R., Ripoli, M. V., Sanfilippo, S., Takeshima, S. N., Aida, Y., & Giambattista, G. (2012). Association between BoLA DRB3 and somatic cell count in Holstein cattle from Argentina. *Molecular Biology Reports*, 39(7), 7215–7220. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1526-y>
63. Ban-Cucerzan, A., Morar, A., Tîrziu, E., Bucur, I. M., Popa, S. A., & Imre, K. (2026). Bovine Mastitis Therapy at a Crossroads: Pharmacokinetic Barriers, Biofilms, Antimicrobial Resistance, and Emerging Solutions. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 19(1), 175. <https://doi.org/10.3390/ph19010175>
64. Bandura, V. V., & Suprovych T. M. (2026). Clinical and biological significance of DNA markers in mastitis in cows of the Ukrainian Red Dairy breed. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 9(1), 8-14. <https://doi.org/10.32718/ujvas9-1.02>
65. Bandura, V. V., & Suprovych, T. M. (2025). Genetic profile of the Ukrainian Red Dairy breed by the BoLA-DRB3 gene. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*, 26(2), 23-32. <https://doi.org/10.36359/scivp.2025-26-2.03>
66. Bandura, V. V., & Suprovych, T. M. (2025). Ordering of alleles “without specific nomenclature” of BoLA-DRB3 exon 2 gene obtained by PCR-RFLP. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural sciences*, 27(103), 88–96. doi: 10.32718/nvlvet-a10310.
67. Bannerman, D. D. (2009). Pathogen-dependent induction of cytokines and other soluble inflammatory mediators during intramammary infection of dairy cows. *Journal of Animal Science*, 87(13 Suppl), 10–25. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1187>
68. Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493–496.
69. Baxter, R., Hastings, N., Law, A., & Glass, E. J. (2008). A rapid and robust sequence-based genotyping method for BoLA-DRB3 alleles in large numbers of heterozygous

- cattle. *Animal Genetics*, 39, 561–563. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2008.01757.x>
70. Behl, J. D., Verma, N. K., Tyagi, N., Mishra, P., Behl, R., & Joshi, B. K. (2012). The major histocompatibility complex in bovines: a review. *ISRN veterinary science*, 2012, 872710. <https://doi.org/10.5402/2012/872710>
  71. Bhavneet, K., Kaur, H., Abrol, R., Sharma, S., Raina, A., & Sharma, S. (2025). Mastitis in dairy cattle: A comprehensive review of microbial etiology, pathogenesis, and control strategies. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 28(9), 1316–1332. <https://doi.org/10.9734/jabb/2025/v28i92978>
  72. Bielecka, M. (2022). Antioxidant, antimicrobial and anticarcinogenic activities of bovine milk proteins and their hydrolysates: A review. *International Dairy Journal*, 127, 105208. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105208>
  73. Birara, T., & Melesse, A. (2024). A review on the application of genomic selection in the improvement of dairy cattle productivity. *Ecological Genetics and Genomics*, 31, 100257. <https://doi.org/10.1016/j.egg.2024.100257>
  74. Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium, Elsik, C. G., Tellam, R. L., Worley, K. C., Gibbs, R. A., Muzny, D. M., Weinstock, G. M., Adelson, D. L., Eichler, E. E., Elnitski, L., Guigó, R., Hamernik, D. L., Kappes, S. M., Lewin, H. A., Lynn, D. J., Nicholas, F. W., Reymond, A., Rijkels, M., Skow, L. C., Zdobnov, E. M., ... Zhao, F. Q. (2009). The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution. *Science (New York, N.Y.)*, 324(5926), 522–528. <https://doi.org/10.1126/science.1169588>
  75. Bradley A. (2002). Bovine mastitis: an evolving disease. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 164(2), 116–128. <https://doi.org/10.1053/tvj.2002.0724>
  76. Brajnik, Z., & Ogorevc, J. (2023). Candidate genes for mastitis resistance in dairy cattle: A data integration approach. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 14(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00821-0>
  77. Brightling, P., Dyson, R., Hope, A., & Penry, J. (2009). A national programme for mastitis control in Australia: Countdown Downunder. *Irish Veterinary Journal*, 62(Suppl 4), S52–S58. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-62-S4-S52>
  78. Bronzo, V., Lopreiato, V., Riva, F., Amadori, M., Curone, G., Addis, M. F., Cremonesi, P., Moroni, P., Trevisi, E., & Castiglioni, B. (2020). The role of innate

- immune response and microbiome in resilience of dairy cattle to disease: The mastitis model. *Animals*, 10(8), 1397. <https://doi.org/10.3390/ani10081397>
79. Burch, K. S., Hou, K., Ding, Y., Wang, Y., Gazal, S., Shi, H., & Pasaniuc, B. (2022). Partitioning gene-level contributions to complex-trait heritability by allele frequency identifies disease-relevant genes. *American journal of human genetics*, 109(4), 692–709. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2022.02.012>
  80. Cai, Z., Iso-Touru, T., Sanchez, M. P., Kadri, N., Bouwman, A. C., Chitneedi, P. K., MacLeod, I. M., Vander Jagt, C. J., Chamberlain, A. J., Gredler-Grandl, B., Spengeler, M., Lund, M. S., Boichard, D., Kühn, C., Pausch, H., Vilkki, J., & Sahana, G. (2024). Meta-analysis of six dairy cattle breeds reveals biologically relevant candidate genes for mastitis resistance. *Genetics, Selection, Evolution: GSE*, 56(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s12711-024-00920-8>
  81. Chechet, O., Gorbatiuk, O., Pyskun, O., Musiiets, I., Romanko, M., Buchkovska, G., Kuriata, N., Ordynska, D., Chalimova, L., Mekh, N., Balanchuk, L., Togachynska, L., & Kuchynskyi, M. (2023). Microbiological monitoring of mastitis prevalence in cows in livestock farms among different regions of Ukraine during 2018–2022. *Біологія тварин*, 25(4), 17–25. <https://doi.org/10.15407/animbiol25.04.017>
  82. Chegini, A., Hossein-Zadeh, N. G., Hosseini-Moghadam, S. H., & Shadparvar, A. A. (2019). Genetic correlation estimates between milk production traits, mastitis and different measures of somatic cells in Holstein cows. *Animal Production Science*, 59, 1031–1038. <https://doi.org/10.1071/AN17325>
  83. Chen, H., Liu, C., Xiang, M., Yu, J., Xia, Y., Hu, X., Wang, D., Tao, B., Zhang, Y., & Cheng, L. (2022). Contribution of the mutation rs8193069 in TLR4 to mastitis resistance and performance in Holstein cows in southern China. *Veterinary Medicine and Science*, 8(1), 357–366. <https://doi.org/10.1002/vms3.671>
  84. Cobirka, M., Tancin, V., & Slama, P. (2020). Epidemiology and Classification of Mastitis. *Animals: an open access journal from MDPI*, 10(12), 2212. <https://doi.org/10.3390/ani10122212>
  85. Cochran, W. G. (2007). *Sampling techniques* (3rd ed.). Wiley
  86. Costa, C., Visentin, G., De Marchi, M., Cassandro, M., & Penasa, M. (2018). Heritability and repeatability of milk lactose and its relationships with traditional milk traits, somatic cell score and freezing point in Holstein cows. *Journal of Dairy*

- Science*, 101(11), 10294–10307. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14564>
87. Dairy cow housing design to prevent environmental mastitis during lactation. AHDB. (n.d.). URL: [https://ahdb.org.uk/knowledge-library/dairy-cow-housing-design-to-prevent-environmental-mastitis-during-lactation?utm\\_source](https://ahdb.org.uk/knowledge-library/dairy-cow-housing-design-to-prevent-environmental-mastitis-during-lactation?utm_source)
  88. Dalal, V., Kamaldeep, D., Magotra, A., Yadav, D. C., Pushpa, S., & Garg, A. R. (2024). Association of CXCR1 gene polymorphism with clinical mastitis and performance traits in Murrah buffalo. *Reproduction in Domestic Animals*, 59(12), e14749. <https://doi.org/10.1111/rda.14749>
  89. Davies, C. J., Andersson, L., Joosten, I., Mariani, P., Gasbarre, L. C., & Hensen, E. J. (1992). Characterization of bovine MHC class II polymorphism using three typing methods: Serology, RFLP and IEF. *European Journal of Immunogenetics*, 19(5), 253–262. <https://doi.org/10.1111/j.1744-313x.1992.tb00068.x>
  90. Debruyne, E., Ghumman, N. Z., Peng, J., Tiwari, H. K., & Gogoi-Tiwari, J. (2025). Alternative approaches for bovine mastitis treatment: A critical review of emerging strategies, their effectiveness and limitations. *Research in veterinary science*, 185, 105557. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2025.105557>
  91. Dietz, A. B., Cohen, N. D., Timms, L., & Kehrl, M. E. (1997). Bovine lymphocyte antigen class II alleles as risk factors for high somatic cell counts in milk of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80(2), 406–412. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)75951-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)75951-4)
  92. Duangjinda, M., Buayai, D., Pattarajinda, V., Phasuk, Y., Katawatin, S., Vongpralub, T., & Chaiyotvittayakul, A. (2009). Detection of bovine leukocyte antigen DRB3 alleles as candidate markers for clinical mastitis resistance in Holstein×Zebu. *Journal of Animal Science*, 87(2), 469–476. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0789>
  93. Duarte, C. M., Freitas, P. P., & Bexiga, R. (2015). Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 27(6), 665–672. <https://doi.org/10.1177/1040638715603087>
  94. Duse, A., Persson-Waller, K., & Pedersen, K. (2021). Microbial etiology, antibiotic susceptibility and pathogen-specific risk factors for udder pathogens from clinical mastitis in dairy cows. *Animals*, 11(7), 2113. <https://doi.org/10.3390/ani11072113>
  95. Dyson, R., Charman, N., Hodge, A., Rowe, S. M., & Taylor, L. F. (2022). A survey

- of mastitis pathogens including antimicrobial susceptibility in southeastern Australian dairy herds. *Journal of dairy science*, 105(2), 1504–1518. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20955>
96. Eastwood, C. R. (2023). *Smart dairy farming: Case studies in digital innovation*. Academic Press.
  97. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2019). *Sustainable livestock development: Guiding principles*. Rome: FAO.
  98. Galdino Andrade, T. E., Scavassini Peña, M., Fiorotti, J., de Souza Bin, R., Rodrigues Caetano, A., Connelley, T., & Ferreira de Miranda Santos, I. K. (2024). Graduate Student Literature Review: The DRB3 gene of the bovine major histocompatibility complex-Discovery, diversity, and distribution of alleles in commercial breeds of cattle and applications for development of vaccines. *Journal of dairy science*, 107(12), 11324–11341. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-24628>
  99. Garcia, B. L. N., Fidelis, C. E., Barbosa, K. da S., & Santos, M. V. (2026). On-farm culture for mastitis treatment decisions. In *Encyclopedia of Livestock Medicine for Large Animal and Poultry Production* (pp. 1–5). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-52133-1\\_564-1](https://doi.org/10.1007/978-3-031-52133-1_564-1)
  100. Gargiulo, J. I., Eastwood, C. R., Garcia, S. C., & Lyons, N. A. (2018). Dairy farmers with larger herd sizes adopt more precision dairy technologies. *Journal of Dairy Science*, 101(6), 5466–5473. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13324>
  101. Gebreyohanes, G., Chernet, T. F., Tarekegn, G. M., Ally, O. M., Meseret, S., Mrode, R., Negussie, E., Bedada, Z. E., Ekine-Dzivenu, C., Tera, A., & Tessema, T. S. (2025). Single-step genome-wide association study of milk somatic cell scores across multi-cattle breeds in Ethiopia. *Animal biotechnology*, 36(1), 2586262. <https://doi.org/10.1080/10495398.2025.2586262>
  102. Georges, M., & Andersson, L. (2003). Positional identification of structural and regulatory quantitative trait nucleotides in domestic animal species. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 68, 179–187.
  103. Georges, M., Charlier, C., & Hayes, B. (2019). Harnessing genomic information for livestock improvement. *Nature Reviews Genetics*, 20(3), 135–156. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0082-2>
  104. Germain, R. N., & Jenkins, M. K. (2004). In vivo antigen presentation. *Current*

- opinion in immunology*, 16(1), 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2003.11.001>
105. Germon, P., & Martins, R. P. (2023). Immune defences of the mammary gland in dairy ruminants. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 58 Suppl 2, 4–14. <https://doi.org/10.1111/rda.14372>
106. Giovambattista, G., Moe, K. K., Polat, M., Borjigin, L., Hein, S. T., Moe, H. H., Takeshima, S. N., & Aida, Y. (2020). Characterization of bovine MHC DRB3 diversity in global cattle breeds, with a focus on cattle in Myanmar. *BMC genetics*, 21(1), 95. <https://doi.org/10.1186/s12863-020-00905-8>
107. Gisbert, P. (2024, November 12). Fundamentals of bovine immunity. Ruminants – Ceva. <https://ruminants.ceva.pro/bovine-immunity>
108. Gowane, G. R., Vandre, R. K., Nangre, M., & Sharma, A. K. (2013). Major histocompatibility complex (MHC) of bovines: An insight into infectious disease resistance. *Livestock Research International*, 1(2), 46–57.
109. Gutiérrez-Reinoso, M. A., Aponte, P. M., & García-Herreros, M. (2023). Genomic and Phenotypic Udder Evaluation for Dairy Cattle Selection: A Review. *Animals: an open access journal from MDPI*, 13(10), 1588. <https://doi.org/10.3390/ani13101588>
110. Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., & Hogeveen, H. (2007). Economic effects of bovine mastitis and mastitis management. *Journal of Dairy Science*, 90(4), 153–161. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)72652-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)72652-4)
111. Hamada, R., Metwally, S., Matsuura, R., Borjigin, L., Lo, C. W., Ali, A. O., Mohamed, A. E. A., Wada, S., & Aida, Y. (2023). BoLA-DRB3 Polymorphism Associated with Bovine Leukemia Virus Infection and Proviral Load in Holstein Cattle in Egypt. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 12(12), 1451. <https://doi.org/10.3390/pathogens12121451>
112. Hameed, K. G. A., Sender, G., & Korwin-Kossakowska, A. (2008). An association of BoLA alleles DRB3.2\*16 and DRB3.2\*23 with occurrence of mastitis caused by different bacterial species in two herds of dairy cows. *Animal Science Papers and Reports*, 26(1), 37–48.
113. Heringstad, B., Gianola, D., Chang, Y. M., Odegård, J., & Klemetsdal, G. (2006). Genetic associations between clinical mastitis and somatic cell score in early first lactation cows. *Journal of Dairy Science*, 89(6), 2236–2244. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72295-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72295-0)

114. Heringstad, B., Rekaya, R., Gianola, D., Klemetsdal, G., & Weigel, K. A. (2003). Genetic change for clinical mastitis in Norwegian cattle: A threshold model analysis. *Journal of Dairy Science*, 86(1), 369–375. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73615-7
115. Hernandez, R. D., Uricchio, L. H., Hartman, K., Ye, C., Dahl, A., & Zaitlen, N. (2019). Ultrarare variants drive substantial cis heritability of human gene expression. *Nature genetics*, 51(9), 1349–1355. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0487-7>
116. Hogeveen, H., Huijps, K., & Lam, T. J. (2011). Economic aspects of mastitis: New developments. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(1), 16–23. <https://doi.org/10.1080/00480169.2011.547165>
117. Horiuk, Yu. V., Kukhtyn, M. D., Perkiy, Yu. B., & Horiuk, V. V. (2018). Distribution of main pathogens of mastitis in cows on dairy farms in the western region of Ukraine. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 20(83), 115–119. doi: 10.15421/nvlvet8322
118. How much does mastitis cost dairy producers annually? URL: <https://www.thecattlesite.com/focus/thermo-fisher-scientific/2335/bovine-diagnostics-how-much-does-mastitis-cost-dairy-producers-annually/>
119. Hu, Z.-L., Park, C. A., & Reecy, J. M. (2022). Animal QTLdb: A livestock QTL database tool set for positional QTL information mining and beyond. *Nucleic Acids Research*, 50(D1), D969–D974. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1113>
120. Ibrahim, E. A., Allam, N. A. T., Kotb, E. E. Z., Rafey, G. A., Alaa El-Deen, M. M., & Fadlallah, M. G. (2012). Sequence-based typing study on the relationship between subclinical mastitis and BoLA-DRB3.2\* allelic polymorphism in Egyptian cows. *Global Veterinaria*, 9(1), 8–22.
121. IPD-MHC. Release 3.16.0.0 (2026-01) build 231. <https://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/>
122. Kajdanek, A., Kluska, M., Matusiak, R., Kazimierczak, J., & Dastyh, J. (2024). A rapid and inexpensive PCR test for mastitis diagnosis based on NGS data. *Pathogens*, 13(5), 423. <https://doi.org/10.3390/pathogens13050423>
123. Kanneganti, T. D., Lamkanfi, M., & Núñez, G. (2007). Intracellular NOD-like receptors in host defense and disease. *Immunity*, 27(4), 549–559. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.10.002>
124. Karthikeyan, A., Radhika, G., Aravindakshan, T. V., Pruthviraj, D. R., & Pragathi, K. S. (2016). Genetic basis of mastitis resistance in cattle. *International Journal of*

*Science and Environment Technology*, 5(4), 2192–2199.

125. Keane, O. M. (2019). Symposium review: Intramammary infections – Major pathogens and strain-associated complexity. *Journal of Dairy Science*, 102(5), 4713–4726. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15326>
126. Kelm, S. C., Detilleux, J. C., Freeman, A. E., Kehrli, M. E., Dietz, A. B., Fox, L. K., Butler, J. E., Kasckovics, I., & Kelley, D. H. (1997). Genetic association between parameters of innate immunity and measures of mastitis in periparturient Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 80, 1767–1775. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76110-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76110-1)
127. Khan, M. Z., Wang, J., Ma, Y., Chen, T., Ma, M., Ullah, Q., Khan, I. M., Khan, A., Cao, Z., & Liu, S. (2023). Genetic polymorphisms in immune- and inflammation-associated genes and their association with bovine mastitis resistance/susceptibility. *Frontiers in immunology*, 14, 1082144. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1082144>
128. Khate, K., & Yadav, B.R. (2010). Incidence of mastitis in Sahiwal cattle and Murrah buffaloes of a closed organized herd. *Indian Journal of Animal Sciences*, 80, 467-469
129. Kirsanova, E., Heringstad, B., Lewandowska Sabat, A., & Olsaker, I. (2019). Alternative subclinical mastitis traits for genetic evaluation in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 102(6), 5323–5329. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16104>
130. Kiyici, J. M., Akyüz, B., Kaliber, M., Arslan, K., Aksel, E. G., & Cinar, M. U. (2022). Association of GH, STAT5A, MYF5 gene polymorphisms with milk somatic cell count, EC and pH levels of Holstein dairy cattle. *Animal Biotechnology*, 33(3), 401–407. <https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1800483>
131. Kocik, M., Wierzbicki, M., Kaczmarowski, M., Górski, K., & Szulc, T. (2025). Intramammary pectin therapy for clinical mastitis in dairy cows: A field pilot study. *Agriculture*, 15(16), 1760. <https://doi.org/10.3390/agriculture15161760>
132. Kour, S., Sharma, N., N., B., Kumar, P., Soodan, J. S., Santos, M. V. d., & Son, Y.-O. (2023). Advances in Diagnostic Approaches and Therapeutic Management in Bovine Mastitis. *Veterinary Sciences*, 10(7), 449. <https://doi.org/10.3390/vetsci10070449>
133. Kovačević, Z., Mihajlović, J., Mugoša, S., Horvat, O., Tomanić, D., Kladar, N., & Samardžija, M. (2022). Pharmacoeconomic analysis of the different therapeutic

- approaches in control of bovine mastitis: Phytotherapy and antimicrobial treatment. *Antibiotics*, 12(1), 11. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010011>
134. Krishnamoorthy, P., Goudar, A. L., Suresh, K. P., & Roy, P. (2021). Global and countrywide prevalence of subclinical and clinical mastitis in dairy cattle and buffaloes by systematic review and meta-analysis. *Research in Veterinary Science*, 136, 561–586. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.04.021>
135. Krömker, V., & Leimbach, S. (2017). Mastitis treatment-Reduction in antibiotic usage in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(Suppl 3), 21–29. <https://doi.org/10.1111/rda.13032>
136. Kulberg, S., Heringstad, B., Guttersrud, O. A., & Olsaker, I. (2007). Study on the association of BoLA-DRB3.2 alleles with clinical mastitis in Norwegian Red cows. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124(4), 201-217. doi: 10.1111/j.1439-0388.2007.00662.x
137. Kulibaba, R., Liashenko, Y., & Ivashchenko, O. (2021). Polymorphism of TLR1, TLR4, and SLC11A1 genes in populations of different cattle breeds of Ukrainian selection. *Agricultural Science and Practice*, 8(3), 25–34. <https://doi.org/10.15407/agrisp8.03.025>
138. Kumari, N., Loat, S., Saini, S., Dhilor, N., Kumar, A., & Kataria, R. S. (2019). Role of BoLA-DRB3 genetic diversity against resistance to mastitis in cattle: Review. *Journal of Veterinary Science and Research*, 1, 30–36. <https://doi.org/10.36811/jvsr.2019.110004>
139. Lamba, H., Sharma, D., Singh, S. P., Tiwari, M., Goel, R., Pandey, V., & Singh, S. K. (2017). BoLA-DRB3 polymorphism and its association with milk production traits in Indian cattle breeds. *Journal of Livestock Biodiversity*, 7(1).
140. Lesta, A., Marín-García, P. J., & Llobat, L. (2025). A Comprehensive Review of the Bovine Immune Response to Pathogens. *International journal of molecular sciences*, 26(17), 8461. <https://doi.org/10.3390/ijms26178461>
141. Lewin, H. A., Russell, G. C., & Glass, E. J. (1999). Comparative organization and function of the major histocompatibility complex of domesticated cattle. *Immunological Reviews*, 167(1), 145–158. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1999.tb01393.x>
142. Liu, H. (2024). Cost of mastitis in relation to farm characteristics (Master's thesis).

- Wageningen University. <https://edepot.wur.nl/657879>
143. Loat, S., Kumari, N., Dhilor, N., Kumar, A., Kumar, N., Niranjana, S. K., Sodhi, M., Mukesh, M., & Kataria, R. S. (2020). Expression analysis of MHC class II DRB3 gene in mastitis affected indicus and crossbred cattle. *Indian Journal of Animal Sciences*, 90(3), 395–396. <https://doi.org/10.56093/ijans.v90i3.102517>
  144. Loat, S., Kumari, N., Saini, S., Dige, M. S., Kumar, A., et al. (2023). Allelic diversity at BoLA DRB3 locus and association with predisposition to clinical mastitis in indicus and crossbred cattle. *Animal Biotechnology*, 34(4), 1030–1039. <https://doi.org/10.1080/10495398.2021.2010088>
  145. Mavangira V. (2025). Immunology of the Bovine Mammary Gland: Advances in Recent Years. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 41(2), 137–154. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2025.03.002>
  146. Mishra, S. K., Niranjana, S. K., Banerjee, B., & Kataria, R. S. (2018). Evaluating differential expression of MHC class II genes for association with resistance to mastitis in Indian buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, 11, 465.
  147. Miyasaka, T., Takeshima, S. N., Jimba, M., Matsumoto, Y., Kobayashi, N., Matsuhashi, T., & Aida, Y. (2011). Association of bovine leukocyte antigen DRB3 polymorphisms with mastitis resistance in Japanese Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 94(7), 3655–3662. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3915>
  148. Moncada-Laínez, M., Valladares-Medina, P. A., Castillo, R., De la Rosa-Reyna, X. F., Sifuentes-Rincón, A. M., Moreno-Medina, V. R., Lara-Rivera, A. L., & Parra-Bracamonte, G. M. (2023). Lactoferrin gene polymorphisms associated with clinical mastitis in Honduran Holstein inheritance cows. *Molecular Biology Reports*, 50(2), 1949–1952. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-08078-6>
  149. Morales, J. P. A., López-Herrera, A., & Zuluaga, J. E. (2020). Association of BoLA DRB3 gene polymorphisms with BoHV-1 infection and zootechnical traits. *Open Veterinary Journal*, 10(3), 331–339. <https://doi.org/10.4314/ovj.v10i3.12>
  150. Morales-Ubaldo, A. L., Rivero-Perez, N., Valladares-Carranza, B., Velázquez-Ordoñez, V., Delgadillo-Ruiz, L., & Zaragoza-Bastida, A. (2023). Bovine mastitis, a worldwide impact disease: Prevalence, antimicrobial resistance, and viable alternative approaches. *Veterinary and Animal Science*, 21, 100306. <https://doi.org/>

10. 1016/j.vas.2023.100306
151. Mrode, R. A. (2014). *Linear models for the prediction of animal breeding values* (3rd ed.). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781780643915.0000>
152. Mukhamadieva, N., Julanov, M., Zainettinova, D., Stefanik, V., Nurzhumanova, Z., Mukataev, A., & Suychinov, A. (2022). Prevalence, Diagnosis and Improving the Effectiveness of Therapy of Mastitis in Cows of Dairy Farms in East Kazakhstan. *Veterinary sciences*, 9(8), 398. <https://doi.org/10.3390/vetsci9080398>
153. Muloi, D. M., Ibayi, E. L., Nyotera, S., Kirimi, H., Abdi, A. M., Mutinda, S. M., Abigael, C., & Moodley, A. (2025). Treatment strategies and antibiotic usage practices in mastitis management in Kenyan smallholder dairy farms. *BMC veterinary research*, 21(1), 212. <https://doi.org/10.1186/s12917-025-04662-7>
154. Murphy, K. M., & Stockinger, B. (2010). Effector T cell plasticity: flexibility in the face of changing circumstances. *Nature immunology*, 11(8), 674–680. <https://doi.org/10.1038/ni.1899>
155. Murphy, K., & Weaver, C. (2022). *Janeway's immunobiology* (10th ed.). Garland Science. <https://www.routledge.com/Janeways-Immunobiology/Murphy-Weaver/p/book/9780815345510>
156. Muslimova, Z., Abdualiyeva, A., Shaugimbayeva, N., Orynkhanov, K., & Ussenbekov, Y. (2024). Genotyping of Holstein cows by SELL, MX1 and CXCR1 gene loci associated with mastitis resistance. *Reproduction in Domestic Animals*, 59(8), e14713. <https://doi.org/10.1111/rda.14713>
157. Nakagawa, S., & Cuthill, I. C. (2007). Effect size, confidence interval and statistical significance: A practical guide for biologists. *Biological Reviews*, 82(4), 591–605. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2007.00027.x>
158. Nakatsuchi, A., Matsumoto, Y., & Aida, Y. (2023). Influence of BoLA-DRB3 Polymorphism and Bovine Leukemia Virus (BLV) Infection on Dairy Cattle Productivity. *Veterinary sciences*, 10(4), 250. <https://doi.org/10.3390/vetsci10040250>
159. Narayana, S. G., de Jong, E., Schenkel, F. S., Fonseca, P. A. S., Chud, T. C. S., Powell, D., Wachoski-Dark, G., Ronksley, P. E., Miglior, F., Orsel, K., & Barkema, H. W. (2023). Underlying genetic architecture of resistance to mastitis in dairy cattle: A systematic review and gene prioritization analysis of genome-wide association

- studies. *Journal of Dairy Science*, 106(1), 323–351. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-21923>
160. Nardo, M., Saisana, M., Saltelli, A., & Tarantola, S. (2005). *Tools for composite indicators building* (EUR 21682 EN). European Commission Joint Research Centre. <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC31473>
161. Nash, D. L., Rogers, G. W., Cooper, J. B., Hargrove, G. L., & Keown, J. F. (2003). Heritability of intramammary infections at first parturition and relationships with sire transmitting abilities for somatic cell score, udder type traits, productive life, and protein yield. *Journal of Dairy Science*, 86(8), 2684–2695. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73977-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73977-1)
162. NMC. Submissions for the Annual Meeting 65th NMC Annual Meeting January 26-29, 2026 Birmingham, Alabama, USA. [https://catalyst.omnipress.com/#event-home/nmc\\_2026](https://catalyst.omnipress.com/#event-home/nmc_2026)
163. National Mastitis Council Inc. (2017). *Laboratory handbook on bovine mastitis* (3rd ed.). New Prague, MN, USA: National Mastitis Council Inc.
164. Neefjes, J., Jongsmá, M. L., Paul, P., & Bakke, O. (2011). Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nature reviews. Immunology*, 11(12), 823–836. <https://doi.org/10.1038/nri3084>
165. New Zealand: Milk quality makes the national brand. (n.d.). <https://www.tridge.com/news/new-zealand-milk-quality-makes-the-national>
166. Nogara, K. F., Busanello, M., Tavares, Q. G., De Assis, J. A., Freu, G., Veiga Dos Santos, M., Corrêa Vieira, F. M., & Zopollatto, M. (2023). Factors influencing milk quality and subclinical mastitis in dairy herds housed in compost-bedded pack barn system. *Animals*, 13(23), 3638. <https://doi.org/10.3390/ani13233638>
167. Oliveira, L., Hulland, C., & Ruegg, P. L. (2021). Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*, 104(1), 1037–1050. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18843>
168. Oprządek, J., Brzozowska, A. M., Urtnowski, P., Rutkowska, K., & Łukaszewicz, M. (2018). Association of BoLA-DRB3 genotype with somatic cell count in milk of Polish Holstein cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 47, e20170284.
169. Osterås, O., & Sølverød, L. (2009). Norwegian mastitis control programme. *Irish Veterinary Journal*, 62(Suppl 4), S26–S33. doi:10.1186/2046-0481-62-S4-S26

170. Oviedo-Boyso, J., Valdez-Alarcón, J. J., Cajero-Juárez, M., Ochoa-Zarzosa, A., López-Meza, J. E., Bravo-Patiño, A., & Baizabal-Aguirre, V. M. (2007). Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria causing mastitis. *Veterinary Research*, 38(3), 369–389. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006003>
171. Pal, M., Regasa, A., & Gizaw, F. (2019). Etiology, pathogenesis, risk factors, diagnosis and management of bovine mastitis: A comprehensive review. *International Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 6, 40–55.
172. Palma, O., Plà-Aragonés, L. M., Mac Cawley, A., & Albornoz, V. M. (2025). AI and data analytics in the dairy farms: A scoping review. *Animals*, 15(9), 1291. <https://doi.org/10.3390/ani15091291>
173. Pedreiro, M. (2018). Successful management of the modern dairy farm. <http://idfdc.com/wp-content/uploads/2018/07/Day2FarmdamentalsPeople-Dubai2018.pdf>
174. Pelmuş, R.Ş., Grosu, H., Gras, M.A., Lazăr, C. & Rotar, M.C. (2022). Estimation of the genetic parameters for Somatic Cell Scores in the first lactation of Romanian Black and White cattle. *Archiva Zootechnica*, 25(1), 142-153. <https://doi.org/10.2478/azibna-2022-0010>
175. Penev, T., Gergovska, Z., Marinov, I., Kirov, V., Stankov, K., Mitev, Y., & Miteva, C. (2014). Effect of season, lactation period and number of lactation on mastitis incidence and milk yields in dairy cows. *Agricultural Science and Technology*, 6(2), 231–238.
176. Pérez-Cabal, M. A., & Charfeddine, N. (2013). Genetic relationship between clinical mastitis and several traits of interest in Spanish Holstein dairy cattle. *Interbull Bulletin*, 47, 77–81. <https://journal.interbull.org/index.php/ib/article/download/1767/1770/3241?>
177. Pishesha, N., Harmand, T. J., & Ploegh, H. L. (2022). A guide to antigen processing and presentation. Nature reviews. *Immunology*, 22(12), 751–764. <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00707-2>
178. Pokorska, J., Kułaj, D., Dusza, M., Ochrem, A., & Makulska, J. (2018). The influence of BoLA-DRB3 alleles on incidence of clinical mastitis, cystic ovary disease and milk traits in Holstein Friesian cattle. *Molecular Biology Reports*, 45(5), 917–923. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4238-0>

179. Prajapati, B. M., Gupta, J. P., Pandey, D. P., Parmar, G. A., & Chaudhari, J. D. (2017). Molecular markers for resistance against infectious diseases of economic importance. *Veterinary World*, 10(1), 112–120. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.112-120>
180. Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., & Constable, P. D. (2007). *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats* (10th ed.). Saunders Elsevier
181. Rainard, P., & Riollet, C. (2006). Innate immunity of the bovine mammary gland. *Veterinary Research*, 37(3), 369–400. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006007>
182. Rainard, P., Foucras, G., & Martins, R. P. (2022). Adaptive Cell-Mediated Immunity in the Mammary Gland of Dairy Ruminants. *Frontiers in veterinary science*, 9, 854890. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.854890>
183. Ranjbar, M. M., Ataei, S., Nikbakht Brujeni, G., & Golabdar, S. (2017). Analysis of variations, structures, and phylogenetic characteristics of bovine leukocyte antigen DRB3 exon2. *Archives of Razi Institute*, 72(3), 147–157. <https://doi.org/10.22092/ari.2017.111611>
184. Rasmussen, P., Barkema, H. W., Osei, P. P., Taylor, J., Shaw, A. P., Conrady, B., Chaters, G., Muñoz, V., Hall, D. C., Apenteng, O. O., Rushton, J., & Torgerson, P. R. (2024). Global losses due to dairy cattle diseases: A comorbidity-adjusted economic analysis. *Journal of Dairy Science*, 107(9), 6945–6970. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-24626>
185. Recommended Mastitis Control Program. (2025). National Mastitis Council. <https://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2025/08/SEVEN-point-NMC-Recommended-Mastitis-Control-08.18.25.pdf>
186. Reshi, A. A., Husain, I., Bhat, S. A., Rehman, M. U., Razak, R., Bilal, S., & Mir, M. R. (2017). Bovine mastitis as an evolving disease and its impact on the dairy industry. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(12), 3472–3483. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.612.405>
187. Rhoads, M. L., Zhang, Y., Relling, A. E., Collier, R. J., & Baumgard, L. H. (2021). Changes in blood metabolites and immune cells in Holstein and Jersey dairy cows by heat stress. *Animals*, 11(3), 742. <https://doi.org/10.3390/ani11030742>
188. Rollin, E., Dhuyvetter, K. C., & Overton, M. W. (2015). The cost of clinical mastitis

- in the first 30 days of lactation: An economic modeling tool. *Preventive veterinary medicine*, 122(3), 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.11.006>
189. Ruegg, P. L. (2017). A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *Journal of dairy science*, 100(12), 10381–10397. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>
190. Rupp, R., & Boichard, D. (1999). Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score, production, udder type traits, and milking ease in first lactation Holsteins. *Journal of dairy science*, 82(10), 2198–2204. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75465-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75465-2)
191. Rupp, R., & Boichard, D. (2003). Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle. *Veterinary Research*, 34(6), 671–688. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003036>
192. Rupp, R., Hernandez, A., & Mallard, B. (2007). Association of bovine leukocyte antigen (BoLA) DRB3.2 with immune response, mastitis, and production and type traits in Canadian Holsteins. *Journal Dairy Science*, 90(2), 1029–1038. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(07)71589-8
193. Sahar, M. W., Beaver, A., von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2020). Predicting Disease in Transition Dairy Cattle Based on Behaviors Measured Before Calving. *Animals: an open access journal from MDPI*, 10(6), 928. <https://doi.org/10.3390/ani10060928>
194. Şahin, H. A., Mikó, E., Önder, H., & Baccouri, W. (2026). Thermal Image-Based Artificial Neural Network Approach to Determine Mastitis Detection in Holstein Dairy Cattle. *Animals*, 16(7), 1048. <https://doi.org/10.3390/ani16071048>
195. Saisana, M., & Tarantola, S. (2002). State-of-the-art report on current methodologies and practices for composite indicator development. European Commission, Joint Research Centre, Ispra, Italy (EUR 20408 EN).
196. Sakaguchi, S., Mikami, N., Wing, J. B., Tanaka, A., Ichiyama, K., & Ohkura, N. (2020). Regulatory T cells and immune tolerance. *Annual Review of Immunology*, 38, 541–566. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042718-041717>
197. Salisu, I. B., Olawale, A. S., Jabbar, B., Koloko, B. L., Abdurrahman, S. L., Amin, A. B., & Ali, Q. (2018). Molecular markers and their potentials in animal breeding and genetics. *Nigerian Journal of Animal Science*, 20(3), 29–48.
198. Seegers, H., Fourichon, C., & Beaudeau, F. (2003). Production effects related to

- mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary research*, 34(5), 475–491. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003027>
199. Sender, G., Galal, K., Hameid, K., & Ptak, E. (2008). Association of the BoLA-DRB3 alleles with estimated breeding value for somatic cell count in Polish dairy cattle. *Archiv für Tierzucht*, 51(2), 111–119.
200. Sender, G., Korwin-Kossakowska, A., Pawlik, A., Galal Abdel Hameed, K., & Oprządek, J. (2013). Genetic basis of mastitis resistance in dairy cattle – a review. *Annals of Animal Science*, 13(4), 663–673. <https://doi.org/10.2478/aoas-2013-0043>
201. Sharif, S. (1999). The bovine major histocompatibility complex: Immunogenetic study of the BoLA-DRB3 locus and disease associations (Doctoral dissertation, University of Guelph). 165 p.
202. Sharif, S., Mallard, B. A., & Sargeant, J. M. (2000). Presence of glutamine at position 74 of pocket 4 in the BoLA-DR antigen binding groove is associated with occurrence of clinical mastitis caused by *Staphylococcus* species. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 76(3–4), 231–238. doi:10.1016/s0165-2427(00) 00216-6
203. Sharif, S., Mallard, B. A., Wilkie, B. N., Sargeant, J. M., Scott, H. M., Dekkers, J. C., & Leslie, K. E. (1998). Associations of the bovine major histocompatibility complex DRB3 (BoLA-DRB3) alleles with occurrence of disease and milk somatic cell score in Canadian dairy cattle. *Animal Genetics*, 29, 185–193. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.1998.00318.x>
204. Sharun, K., Dhama, K., Tiwari, R., Gugjoo, M. B., Iqbal Yattoo, M., Patel, S. K., Pathak, M., Karthik, K., Khurana, S. K., Singh, R., Puvvala, B., Amarpal, Singh, R., Singh, K. P., & Chaicumpa, W. (2021). Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *The veterinary quarterly*, 41(1), 107–136. <https://doi.org/10.1080/01652176.2021.1882713>
205. Shaukat, W., Nobrega, D. B., Kalbfleisch, K. N., Kastelic, J. P., Kelton, D. F., & Barkema, H. W. (2026). Herd-level prevalence of contagious mastitis pathogens and insights into somatic cell count dynamics using bulk tank milk samples from dairy farms in Alberta, Canada. *Journal of dairy science*, S0022-0302(26)00281-X. Advance online publication. <https://doi.org/10.3168/jds.2025-28106>
206. Sigurdardottir, S., Borsch, C., Gustafsson, K., & Andersson, L. (1992). Gene duplications and sequence polymorphism of bovine class II DQB genes.

- Immunogenetics*, 35(3), 205–213. <https://doi.org/10.1007/bf00185115>
207. Sitte, K., Brinkworth, R., East, I. J., & Jazwinska, E. C. (2002). A single amino acid deletion in the antigen-binding site of BoLA-DRB3 is predicted to affect peptide binding. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 85, 129–135. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(01\)00430-5](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(01)00430-5)
208. Sordillo L. M. (2018). Mammary Gland Immunobiology and Resistance to Mastitis. The Veterinary clinics of North America. *Food animal practice*, 34(3), 507–523. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.07.005>
209. Stanek, P., Żółkiewski, P., Teter, W., & Januś, E. (2018). Productivity and longevity of dairy cows in relation to housing and management system. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 1120–1128. <https://doi.org/10.1080/09712119.2018.1521336>
210. Stanek, P., Żółkiewski, P., & Januś, E. (2024). A review on mastitis in dairy cows research: Current status and future perspectives. *Agriculture*, 14(8), 1292. <https://doi.org/10.3390/agriculture14081292>
211. Strojjanovska, L., & Suprovych, T. (2021). The prevalence and etiology of mastitis in farming. *Agrarian Bulletin of the Black Sea Littoral*, 100. <https://doi.org/10.37000/abbsl.2021.100.04>
212. Suprovych, T. M., Suprovych, M. P., Biriukova, O. D., Trach, V. V., Danchuk, O. V., & Grafov, A. V. (2022). BoLA DRB3 gene as a marker of sensitivity of the white headed Ukrainian cattle to mastitis. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 10(1), 3–10. <https://doi.org/10.32819/2022.10001>
213. Suprovych, T., Strojjanovska, L., Vishchur, O., Havryliak, V., Vasylyuk, S., Masyuk, M., Solovodzinska, I., & Lubenets. (2023). Influence of liposomal thiosulfonate drug on the blood parameters of cows suffering catarrhal mastitis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(2), 195–202. <https://doi.org/10.15421/022329>
214. Suprovych, T. M., Suprovych, M. P., Strojjanovska, L. V., & Chorny, I. O. (2023). Model of sensitivity cattle to mastitis on the basis of lymphocytic and molecular genetic markers. *Podilian Bulletin: Agriculture, Engineering, Economics*, 36, 73–78. <https://doi.org/10.37406/2706-9052-2022-110>
215. Suprovych, T. M., Vishchur, O. I., Suprovych, M. P., & Chepurna, V. A. (2019). Relationship between alleles of gene BoLA-DRB3 and somatic cells amount in milk

- of Ukrainian black-and-white dairy breed. *Animal Biology*, 21(4), 75–83. <https://doi.org/10.15407/animbiol21.04.075>)
216. Suprovych, T.M., Suprovych, M.P., Koval, T.V., Karchevska, T.M., Chepurna, V.A., Chorny, I.O., & Berezhanskyi, A.P. (2018). BoLA-DRB3 gene as a marker of susceptibility and resistance of the Ukrainian black-pied and red-pied dairy breeds to mastitis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(3), 363-368. doi:10.15421/021853
217. Svensson, C., Lomander, H., & Kokko, S. (2022). Veterinary herd health management – Experiences and perceptions among Swedish dairy cattle veterinarians. *Journal of Dairy Science*, 105(8), 6820–6832. <https://doi.org/10.3168/>
218. Takeshima, S.N. and Aida, Y. (2006) Structure, Function and Disease Susceptibility of the Bovine Major Histocompatibility Complex. *Animal Science Journal*, 77, 138-150. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2006.00332.x>
219. Taponen, S., Koort, J., Björkroth, J., Saloniemi, H., & Pyörälä, S. (2007). Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism-based analysis. *Journal of dairy science*, 90(7), 3301–3307. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-860>
220. Tarazona-Manrique, L. E., Villate-Hernández, J. R., & Andrade-Becerra, R. J. (2019). Bacterial and fungal infectious etiology causing mastitis in dairy cows in the highlands of Boyacá (Colombia). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 66, 208–218. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v66n3.84258>
221. Tayeng, K., Tomar, S. S., Nanavat, S., Aich, R., Ignietious, S., & Nagoriya, S. K. (2021). BoLA-DRB3 Gene Polymorphism and its Association with Lactation Yield and Milk Constituents in Crossbred Cattle. *Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*, 17(1), 71-75. <https://acspublisher.com/journals/index.php/ijvsbt/article/view/2253>
222. Thiel, T., Kota, R., Grosse, I., Stein, N., & Graner, A. (2004). SNP2CAPS: a SNP and INDEL analysis tool for CAPS marker development. *Nucleic Acids Research*, 32(1), e5. <https://doi.org/10.1093/nar/gnh006>
223. Tizard, I. R. (2024). *Veterinary immunology* (11th ed.). W. B. Saunders Co., Ltd.
224. Tommasoni, C., Fiore, E., Lisuzzo, A., & Giancesella, M. (2023). Mastitis in Dairy Cattle: On-Farm Diagnostics and Future Perspectives. *Animals: an open access*

- journal from MDPI*, 13(15), 2538. <https://doi.org/10.3390/ani13152538>
225. Traherne J. A. (2008). Human MHC architecture and evolution: implications for disease association studies. *International journal of immunogenetics*, 35(3), 179–192. <https://doi.org/10.1111/j.1744-313X.2008.00765.x>
226. Tullo, E., Finzi, A., & Guarino, M. (2019). Review: Environmental impact of livestock farming and precision livestock farming as a mitigation strategy. *Science of the Total Environment*, 650(Pt 2), 2751–2760. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.018>
227. Usman, T., Yu, Y., Liu, C., Wang, X., Zhang, Q., & Wang, Y. (2014). Genetic effects of single nucleotide polymorphisms in JAK2 and STAT5A genes on susceptibility of Chinese Holsteins to mastitis. *Molecular Biology Reports*, 41(12), 8293–8301. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3730-4>
228. Vallimont, J. E., Dechow, C. D., Sattler, C. G., & Clay, J. S. (2009). Heritability estimates associated with alternative definitions of mastitis and correlations with somatic cell score and yield. *Journal of Dairy Science*, 92(7), 3402–3410. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1229>
229. van Eijk, M. J., Stewart-Haynes, J. A., & Lewin, H. A. (1992). Extensive polymorphism of the BoLA-DRB3 gene distinguished by PCR-RFLP. *Animal Genetics*, 23(6), 483–496. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1992.tb00168.x>
230. Vargas Jurado, N., Aamand, G. P., Nielsen, U. S., Pösö, J., Fikse, F., Kudinov, A., & Lidauer, M. (2024). Estimation of variance components for clinical mastitis and somatic cell scores for the Nordic dairy cattle populations. *Interbull Bulletin*, (60), Proceedings of the 2024 Interbull Meeting, Bled, Slovenia, 20–21 May 2024. Retrieved from <https://journal.interbull.org/index.php/ib/article/view/1929>
231. Viguiier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., & O'Kennedy, R. (2009). Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in biotechnology*, 27(8), 486–493. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.05.004>
232. Wiggans, G. R., Cole, J. B., Hubbard, S. M., & Sonstegard, T. S. (2017). Genomic selection in dairy cattle: The USDA experience. *Annual Review of Animal Biosciences*, 5, 309–327. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021815-111422>
233. Yamaguchi, S., Masuda, Y., Nakagawa, S., Abe, H., Gotoh, Y., & Baba, T. (2019). Genetic parameters for mastitis incidence and its indicators based on somatic cell

- score for Holsteins in Hokkaido, Japan. *Animal Science Journal*, 90(8), 915–923. <https://doi.org/10.1111/asj.13218>
234. Yoshida, T., Furuta, H., Kondo, Y., & Mukoyama, H. (2012). Association of BoLA-DRB3 alleles with mastitis resistance and susceptibility in Japanese Holstein cows. *Animal Science Journal*, 83(5), 359–366. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2011.00972.x>
235. Yoshida, T., Mukoyama, H., Furuta, H., Kondo, Y., Takeshima, S. N., Aida, Y., & Tomogane, H. (2009). Association of the amino acid motifs of BoLA-DRB3 alleles with mastitis pathogens in Japanese Holstein cows. *Animal Science Journal*, 80(5), 510–519. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2009.00664.x>
236. Youngerman, S. M., Saxton, A. M., Oliver, S. P., & Pighetti, G. M. (2004). Association of CXCR2 polymorphisms with subclinical and clinical mastitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 87, 2442–2448. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73389-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73389-8)
237. Yu, W., Zhang, Z., Wang, Z., Lin, X., Dong, X., & Hou, Q. (2025). Comprehensive Prevention and Control of Mastitis in Dairy Cows: From Etiology to Prevention. *Veterinary sciences*, 12(9), 800. <https://doi.org/10.3390/vetsci12090800>
238. Yunas, M., Hamid, M. M. A., Usman, Q. U. D., Rasool, S., & Rehan, M. (2025). Managing a dairy farm through modern practices. In S. H. Farooqi, K. Kholik, & M. A. Zaman (Eds.), *One Health horizons: Integrating biodiversity, biosecurity, and sustainable practices* (pp. 157–163). Unique Scientific Publishers. <https://doi.org/10.47278/book.HH/2025.120>
239. Zemanová, M., Sláma, P., & Toman, M. (2022). Immune mechanisms, resistance genes, and their roles in the prevention of mastitis in dairy cows. *Annals of Animal Biology*, 65, 371–389. <https://doi.org/10.5194/aab-65-371-2022>
240. Zhao, X., & Lacasse, P. (2008). Mammary tissue damage during bovine mastitis: Causes and control. *Journal of Animal Science*, 86(13 Suppl.), 57–65. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0302>
241. Zwald, N. R., Weigel, K. A., Chang, Y. M., Welper, R. D., & Clay, J. S. (2006). Genetic analysis of clinical mastitis data from on-farm management software using threshold models. *Journal of Dairy Science*, 89(1), 330–336. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72049-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72049-1)

## ДОДАТКИ

Додаток 1

### АКТ

#### впровадження результатів завершених наукових досліджень

- 1. Назва впровадження:** Терапевтична і економічна ефективність лікування патологій молочної залози у корів з урахуванням алелів гена BoLA-DRB3.
- 2. Назва завершеної НДР, що впроваджується і номер ДР:** Клініко-патогенетичні особливості маститу корів з урахуванням поліморфізму гена BoLA-DRB3, як розділ ініціативної кафедральної тематики «Вивчення і розробка методів оцінки впливу комплексу генетичних та антропогенно змінених чинників середовища на функціональний стан організму тварин і птиці», номер державної реєстрації №0121u110773.
- 3. Підрозділ установи – розробника:** кафедра гігієни тварин та ветеринарного забезпечення Національної поліції України Закладу вищої освіти «Подільський державний університет».
- 4. Коротка характеристика впровадження:** хворі на серозно-катаральний мастит корови були поділені на дві дослідні групи в залежності від генотипу за геном BoLA-DRB3. До першої дослідної групи (n = 7) увійшли тварини, які містили алелі гена BoLA-DRB3 асоційовані з захворюванням молочної залози. Друга дослідна група була сформована з корів (n = 5) в генотипі яких були присутні алелі гена BoLA-DRB3, слабо асоційовані з маститом. Хворим тваринам обмежили концентровані корми та збільшили частку легкозасвоюваних кормів. Корови були переведені на ручне доїння. За 5-10 хвилин до здоювання вводили Окситоцин по 5-10 ОД внутрішньом'язово для стимуляції повного виведення патологічного секрету та згустків. З етіотропної терапії внутрішньом'язово вводили Амоксицилін 15% LA по 1 мл на 10 кг маси тіла через 48 годин 2-3 введення. Інтрацистернально в уражені чверті вимені тричі з інтервалом 24 години вводили по одному шприцу-тубі Синулокс LC 3-5 діб. Препарат містить амоксицилін, клавуланову кислоту та преднізолон, який знімає набряк. Препарат вводили після ретельного видоювання та антисептичної обробки дійкового каналу. Для зменшення запальної реакції, болючості та набряку вим'я ми застосували нестероїдний протизапальний засіб Айніл по 3 мл на 100 кг ваги внутрішньом'язово протягом 1-3 доби, який сприяв нормалізації мікроциркуляції та зниженню ексудації. Для покращення кровообігу та резорбції запального інфільтрату застосовували протизапальну мазь Дібутин, яку наносили легкими масажними рухами після доїння.
- 5. Назва організації, де проведено впровадження:** ТОВ імені Богдана Хмельницького Кам'янець-Подільського району Хмельницької області
- 6. Результати впровадження:** Встановлено суттєві відмінності у тривалості клінічного відновлення корів залежно від присутності в їх генотипах маркерних алелів гена BoLA-DRB3: у тварин з алелями BoLA-DRB3\*24\* і \*26\* середня тривалість одужання становила 7,1±0,4 доби, тоді як у групі зі слабо

асоційованими алелями –  $5,8 \pm 0,3$  доби ( $P = 0,008$ ). Кореляційний зв'язок між генотипом і тривалістю одужання ( $r = 0,71$ ) підтверджує вплив генетичних факторів на швидкість клінічного відновлення та особливостей імунної відповіді.

#### **7. Відповідальні за впровадження:**

Від розробника:

Василь БАНДУРА, аспірант  
кафедра гігієни тварин та ветеринарного  
забезпечення НПУ ЗВО «ПДУ»

*Від ТОВ імені Богдана Хмельницького*

*Кам'янець-Подільського району*

*Хмельницької області*

Роман ГОНЦА, лікар ветеринарної медицини

Костянтин ІВАНОВ, директор



лютого 2026 р.

Додаток 2

Затверджую  
Перший проректор  
Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій  
імені С. З. Гжицького  
доцент Двилюк І. В.  
«05» травня 2026 р.

## АКТ

про впровадження/використання результатів  
дисертаційної роботи в освітній процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: «Клініко-патогенетичні особливості маститу корів з урахуванням поліморфізму гена BOLA-DRB3», що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – «ветеринарна медицина», виконаної Бандурою Василем Васильовичем впроваджено у навчальну програму при викладанні дисципліни « Епізоотологія та інфекційні хвороби тварин », читання лекцій та проведення лабораторно-практичних занять для підготовки фахівців ОР «Магістр» із спеціальності 211 – «ветеринарна медицина» у Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнології імені С. З. Гжицького .

Завідувач кафедри епізоотології  
ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького,  
доктор ветеринарних наук,  
професор

Підписи засвідчую:

Начальник відділу кадрів ЛНУВМБ  
Імені С. З. Гжицького



Куртяк Б. М.

**ВІРНО**  
НАЧАЛЬНИК ВІДДІЛУ КАДРІВ  
ЛЬВІВСЬКОГО  
НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ  
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ  
ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ  
ІМЕНІ С.З.ГЖИЦЬКОГО

Гентош О. П.

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
 Директор Інституту біології тварин НААН  
 Юрій САЛИГА  
 “11” травня 2026 р.



### АКТ

#### впровадження результатів наукових досліджень в освітній процес

№ ДР 121u110773 «Клініко-патогенетичні особливості маститу корів з урахуванням поліморфізму гена BoLA-DRB3»

яка виконана в період з 2022 р. по 2025 р.

Вперше доведено уявлення про патогенез маститу корів з позицій взаємодії генетичних факторів; підходи до оцінки імунного статусу корів при маститі залежно від генотипу за геном BoLA-DRB3. Експериментально доведено, що при наявності алелів гена BoLA-DRB3.2\*26 і \*24 у корів української чорно-рябої молочної породи виникають клінічні форми захворювання на мастит. Вперше встановлено генотип-залежні зміни адаптивного імунітету у корів, хворих на серозно-катаральний мастит, що характеризуються достовірним зниженням частки ТЕ-РУЛ на початку лікування ( $P < 0,001$ ) з подальшим частковим відновленням. Встановлено, що у носіїв алелів BoLA-DRB3.2\*24 і \*26 пригнічення клітинної ланки імунітету є більш вираженим, що свідчить про вплив генотипу на перебіг імунної відповіді. Набули подальшого розвитку: наукові положення щодо використання молекулярно-генетичних маркерів у прогнозуванні захворюваності корів на мастит; концепція індивідуалізованої профілактики маститу з урахуванням генетичних особливостей та умов утримання тварин.

Здобувач Бандура Василь Васильович

Комісія в складі:

голова комісії: д.вет.н., професор Віщур О.І.

члени комісії: к.вет.н., с.н.д. Понкало Л.І.

к.вет.н., с.н.д. Мудрак Д.І.

встановила впровадження в освітній процес результатів наукових досліджень та місце їх використання в лекціях з дисципліни «Ветеринарна імунологія» для здобувачів вищої освіти III (освітньо-наукового) рівня вищої освіти за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина»

11” травня 2026 р.

Голова комісії:



д.вет.н., професор Віщур О.І.

Члени комісії:



к.вет.н., с.н.д. Понкало Л.І.

к.вет.н., с.н.д. Мудрак Д.І.

Підписи засвідчую:

Вчений секретар ІБТ НААН к.с.-г.н.



А. З. Пилипець