

УДК 636.034

DOI: 10.15587/1729-4061.2019.168762

Розробка заходів підвищення якості та безпечності молока на виробництві

О. І. Шкромада, О. І. Скляр, А. П. Палій, Л. Г. Улько, І. В. Герун,
О. А. Науменко, К. В. Іщенко, О. С. Кистерна, О. В. Мусієнко, А. П. Палій

Кількість соматичних клітин у молоці корів впливає на якісні показники, гатунок та безпечність. Рівень в молоці соматичних клітин залежить від стану вим'я у тварин. Тому важливим є вчасно проводити діагностику корів на субклінічний мастит та профілакувати його виникнення.

В результаті проведених досліджень визначений гістологічний спектр соматичних клітин у корів української чорно-рябої молочної породи. Експериментально доведено, що мікроорганізми, виділені з шкіри вим'я корів, ідентичні мікрофлорі, яка викликає у корів захворювання на субклінічний мастит.

В результаті проведених досліджень встановлений спосіб передачі збудників маститної інфекції через гуму молочних стаканів доїльного обладнання.

Також визначений спектр збудників субклінічного маститу та розроблена схема профілактики захворювання і запобігання його поширенню серед дійного стада. В результаті експериментальних досліджень доведена ефективність використання швидкого маститного тесту, який дає змогу своєчасно виділити з стада корів з неякісним молоком.

Поява кетонових тіл у молоці підвищує його кислотність та знижує якість молока. Показник кислотності характеризує харчову цінність молока та контролюється при прийомі на молокозавод. При цьому господарство втрачає гроші на зниженні сортності молока.

Експериментально розроблений спосіб профілактики та лікування кетозу у корів на основі хелатів металів за рахунок покращення обмінних процесів у рубці корів. В результаті проведених досліджень встановлений взаємозв'язок між станом мікрофлори рубця та виникнення ацетонемії у корів. Таким чином, запропоновані заходи дають можливість підвищити якість та безпечність молока корів шляхом зменшення кількості тварин у стаді з ознаками маститу та кетозу

Ключові слова: соматичні клітини, субклінічний мастит, мікрофлора, гума молочних стаканів, якість молока, кетонові тіла

1. Вступ

Молоко та молочні продукти займають одне із значних місць у харчовому ланцюзі людей будь якого віку. В коров'ячому молоці крім основних компонентів (жир, білок, вуглеводи) міститься близько 150 поживних речовин (вітаміни, мікро-макроелементи та ін.), які мають важливе значення для життєдіяльності людського організму. Поряд з тим, що молоко і молочні

продукти необхідні для життєдіяльності людей, вони також є добрим поживним середовищем для розвитку мікроорганізмів. При порушенні санітарних умов отримання та зберігання молока може бути небезпечним джерелом інфекції.

Для попередження виникнення маститу у господарствах необхідно застосовувати сучасні системи доїння та дезінфекції молочного обладнання. Також, не менш важливим показником, є мікробна забрудненість повітря та підлоги на якій лежать корови. Дотримання схеми дезінфекцій приміщення та гігієна вим'я у корів убезпечує господарство від розповсюдження збудників маститу.

Насправді є великою проблемою виявлення у стаді корів з ознаками субклінічного маститу через відсутність у тварин характерних симптомів. Деякі тварини можуть не хворіти, але бути носіями збуднику маститу. Через це не можливо на 100 % звільнити стадо від хворих тварин. Регулярний моніторинг молока на вміст соматичних клітин дозволить запобігти небажаним втратам на гатунку молока, а використання експрес-тесту на мастит допоможе виявити хворих тварин у стаді.

Підвищення рівня ацетонових тіл у молоці корів є ознакою кетозу. Для захворювання характерним є порушення обміну речовин, яке на початку розвитку не діагностується, що призводить до втрати кількості та якості молока, а в подальшому вибраковки такої тварини. Тому дотримання збалансованого раціону для тварин з додаванням хелатних металів попередить виникнення кетозу у корів та дозволить зберегти якість молока на високому рівні. Таким чином, системний моніторинг та дотримання схеми заходів дозволить знизити ризики появи на виробництві неякісного молока.

Якість та безпечність молока за захворювання корів на мастит наразі є актуальною та до кінця не вирішеною проблемою. На виробництві дуже складно відстежувати якість молока через те, що стан тварин постійно змінюється. Постійно існує небезпека зараження та захворювання в стаді на субклінічний мастит та кетоз. Зважаючи на вищезазначене, необхідно постійно проводити моніторинг цих захворювань. Прогресивним напрямком у профілактиці маститу, у першу чергу субклінічної форми, є виконання технологічних процесів у його виробництві. Це контроль за санітарно-гігієнічними параметрами мікроклімату у приміщеннях де утримуються тварини, технологією доїння та використанням молочного обладнання.

На теперішній час для лікування маститу запропоновано значну кількість схем, але основним є використання антибіотиків. Це в свою чергу впливає на якість та безпечність молока. Якість та безпечність молока за субклінічного маститу напряду пов'язані одне з одним. Якщо показниками якості молока є поживна цінність, яка змінюється під час захворювання, то показниками безпечності є кількість соматичних клітин та бактеріальне обсіменінні.

2. Аналіз літературних даних та постановка проблеми

В роботі [1] приведені результати дослідження безпечності та якості молока. Так, за даними ФАО молоко та молочні продукти віднесені до першої категорії ризиків, які спричиняють харчові інтоксикації мікробної етіології.

Стандарти та регламенти Європейського Союзу (ISO 13366-2 IDF 148-2, ISO 5725-1, ISO 5725-2) та загальні правила охорони здоров'я для торгівлі в Європейському Союзі молоком та молочними продуктами для споживання людиною (Council Directive 2002/99/EU forms the legal basis for all animal health rules governing the production, processing, distribution and introduction of products of animal origin for human consumption and Regulation (EU) № 178/2002, Regulation (EU) № 852/2004, Regulation (EU) № 853/2004, Regulation (EU) № 854/2004 and Regulation (EU) 882/2004 form the legal base for the public health rules for trade and introduction into the EU) вимагають контролювання у молоці кількості соматичних клітин, кетонових тіл та мікроорганізмів. Згідно з міжнародними вимогами до харчових продуктів, контролювати якість та безпечність продукції на кінцевому етапі є недостатньо, оскільки це не може гарантувати її безпечність. Доброякісне за фізико-хімічним складом молоко, отримане в антисанітарних умовах швидко може стати непридатним для вживання або й шкідливим для здоров'я споживачів. Разом з тим, як зазначається в роботі [2], якісне та безпечне молоко можна отримати лише від здорових тварин. Для вирішення подібних проблем сучасна світова харчова промисловість впроваджує нові системи управління якістю продукції. Однією з них є НАССР, і саме такий підхід використаний в роботі [3].

До тепер ще залишається повністю не вирішеним питання контролю якості та безпечності молока на виробництві. Причиною цього можуть бути приховані (безсимптомні) форми захворювань корів, які важко піддаються ранній діагностиці [2].

Серед захворювання дійних корів одне із значних місць посідає мастит, особливо субклінічної (скритої) форми, основними причинами якого є порушення умов утримання та технології доїння. За недотримання технології доїння (порушення вакуумного режиму, зношена гума, «сухе доїння», тощо) виникають мікротравми шкіри, епітелію молочних шляхів, паренхіми вим'я. Як наслідок, виникає вплив негативних факторів зовнішнього середовища, до чого надалі приєднується патогенна мікрофлора [4].

Згідно вимог ветеринарно-санітарної експертизи заборонено вживати та продавати молоко від корів, які хворі на мастит. Молоко хворих тварин містить велику кількість патогенної мікрофлори і через це непридатне для виробництва молочнокислих продуктів, особливо сиру [5]. Таке молоко має підвищену кислотність, а бактерії руйнують цінні речовини, у тому числі жир і білок, що псує смак, запах та консистенцію молочних продуктів. Разом з тим, у такому молоці залишаються токсини (продукти життєдіяльності бактерій), в тому числі і термостійкі форми [6].

Запобігти або попередити повністю проблему виникнення субклінічного маститу у молочного скота не можливо. Все залежить від породи тварин, схильності до даного захворювання, резистентності організму, кліматичних умов розташування господарства, доїльного обладнання, режимів дезінфекції тощо [7].

Тому доцільно, з урахуванням створених умов експлуатації та утримання тварин, розробити схему заходів профілактики виникнення та ліквідації проблем субклінічних маститів на молочній фермі [8].

До кінця не вирішеною залишається проблема безпечності молока і вміст в ньому соматичних клітин (епітеліальні клітини, які відторглися з секреторної частини вим'я та молочних ходів і клітини крові). При запальному процесі в молочній залозі (маститі) кількість лейкоцитів збільшується згідно клітинної теорії запалення, починається процес фагоцитозу. В результаті цього збільшується загальна кількість соматичних клітин, що є показником здоров'я корови (вим'я). Разом з тим, змінюється не лише кількість соматичних клітин, а й співвідношення їх видового складу [9].

Варіантом подолання цієї проблеми може бути використання цитологічного дослідження, яке дає уяву про характер, рівень запального процесу та поширеність у стаді маститу. Також одним з важливих заходів є використання швидкого маститного тесту для вибракування із стада хворих корів. Навіть наявність 2 % хворих корів у стаді може зіпсувати загальний показник і знизити якість, а тим більше безпечність молока [10].

Іншою проблемою безпечності молока є бактеріальна забрудненість, яка найточніше відображає санітарні умови його виробництва [11]. Якщо кількість соматичних клітин залежить від стану здоров'я корови (вим'я), то бактеріальне обсіменіння, більшою мірою, залежить від ряду технологічних чинників. До них відносяться умови утримання тварин, гігієнічний стан шкіри вим'я та бактеріальне забруднення молочного обладнання [12].

Варіантом подолання даної проблеми є дезінфекція доїльних стаканів перед кожним доїнням та видалення з стада хворих на мастит тварин. Такі радикальні заходи вибракування тварин необхідні через те, що навіть регулярна дезінфекція вим'я корів та доїльного обладнання на 100 % не знищує всю патогенну мікрофлору і вона може поширюватись серед дійного стада [13].

Важливим показником якості молока є відсутність у ньому кетонових тіл. Але ця проблема дуже часто постає у високоудійних тварин через порушення у них обміну речовин [14].

Головною вимогою у молочному бізнесі є економічна рентабельність дійного стада. За останніми розрахунками необхідно отримувати від корів молока не менше ніж 9000–9500 кг за лактацію. З метою підвищення лактації, жирності та вмісту білка тваринам задають велику кількість концентрованих кормів, що викликає порушення обміну речовин [15]. Кетоз виникає як самостійне захворювання внаслідок порушення енергетичної незбалансованості за білком та вуглеводами кормів. В зв'язку з цим його можна віднести до аліментарного чинника. Значна кількість вчених відмічає зміни в біохімічних реакціях рубця: підвищення кислотності (рН), зміна співвідношення між жирними леткими кислотами та зменшення кількості (збільшення вмісту масляної кислоти) і зменшення кількості простіших (інфузорій) [16].

Все це дозволяє стверджувати, що є доцільним застосування таких заходів профілактики кетозу, як збалансована годівля корів та лікування за допомогою комплексу хелатів заліза, цинку та марганцю.

3. Мета і завдання дослідження

Метою дослідження є розробка заходів по підвищенню якості та безпечності молока на підприємствах шляхом зниження ризиків захворювання корів на субклінічний мастит та кетоз.

Для досягнення поставленої мети вирішувалися наступні задачі:

– вдосконалити метод визначення кількісного та видового складу соматичних клітин; з'ясувати основні джерела та шляхи забруднення мікрофлорою молока корів;

– встановити ефективність застосування хелатних металів для тварин хворих на кетоз; визначити їх клінічний статус; рівень обмінних процесів в організмі, вплив на мікрофлору рубця, визначити кислотність та рівень кетонових тіл у молоці; розробити систему заходів щодо покращення якості та безпечності молока.

4. Матеріали та методи розробки заходів підвищення якості та безпечності молока на виробництві

4.1. Методика дослідження видового складу соматичних клітин та мікрофлори у молоці

Робота виконувалась в лабораторії клінічної діагностики Сумського національного аграрного університету (Україна) та в умовах виробництва на фермах Сумської області протягом 2018 року. Дослідження проводилось на коровах української чорно-рябої молочної породи 1–4 лактації. Для визначення здорової та ураженої чверті вим'я використовували каліфорнійський маститний тест [17] та мікроскопічний тест для підрахунку соматичних клітин [18]. Після дослідження стану здоров'я чверті вим'я із позитивно реагуючої відбирали секрет у стерильні стаканчики, дотримуючись правил асептики. В лабораторії робили мазки молока за стандартними методами дослідження молочних продуктів. Проводили підрахунок загальної кількості соматичних клітин за методом Прескотта і Бритта [19] та визначали їх видовий склад.

Мікробіологічними методами визначали склад мікрофлори молока, шкіри, вим'я, дійок та молочного обладнання [20]. Перед початком доїння проводили дезінфекцію молочного обладнання. Дослідження бактеріального забруднення гуми доїльних стаканів проводили після кожного доїння.

4.2. Методика клінічного дослідження тварин, визначення кислотності та кетонових тіл у молоці

Для дослідження на кетоз було визначено 4 групи корів аналогів віком 3–4 лактація по 5 голів у кожній. Із них дві групи корів були контролем. За контроль брали групу здорових тварин та хворих на субклінічний кетоз, якій не проводилось лікування. На початку дослідження визначали клінічний статус тварин. Температуру визначали звичайним максимальним медичним термометром, пульс досліджували на середній хвостовій артерії методом пальпації, дихання – прикладанням долонь рук до носових отворів, скорочення рубця – румінографом З.С. Горяїнової. Протягом дослідження в усіх корів відбирали рубцеву рідину з 10 до 11 години ранку через зонд з метою

визначення кількості, інтенсивності та напрямку руху інфузорій туфелька. Для визначення інтенсивності та напрямку руху інфузорій використовували мікроскоп XS-2610 та цифрову камеру DELTA OPTICAL 2.0 MP. Підрахунок кількості інфузорій проводили у камері Горяєва. З метою фіксації використовували 4 % розчину формаліну. Активність мікрофлори рубця – пробою з метиленовим синім за Діркенсом та Хофреком [21]. Кислотність вмісту рубця досліджували рН-метром [22].

Разом з тим відбирали кров із хвостової артерії для морфологічного та біохімічного дослідження. Біохімічні показники сироватки крові дослідних і контрольних тварин вивчали за такими показниками і методиками:

- загальний білок – рефрактометром;
- фракції білка – нефелометричним методом;
- резервну лужність крові – дифузійним методом за допомогою здвоєних колб (за І. П. Кондрахіним);
- каротин – колориметричним методом за Коромисловим Г. Ф. і Кудрявцевою Л. А.

Дослідження кетонових тіл проводили за допомогою кетонметра. Вміст гемоглобіну за методом Саллі. Лейкоцитарну формулу виводили шляхом підрахунку відносного вмісту клітин в мазках крові, пофарбованих за Романовським-Гімзою. Для визначення рівня природної резистентності обчислювали індекс Бредекка, як співвідношення кількості лімфоцитів і паличкоядерних нейтрофілів, і співвідношення суми нейтрофілів до лімфоцитів. Кількість еритроцитів – меланжерним методом.

5. Результати дослідження якості та безпечності молока на виробництві

5.1. Результати дослідження видового складу соматичних клітин та мікрофлори у молоці

Проведеними мікроскопічними дослідженнями мазків молока корів встановлено видову особливість та кількість соматичних клітин. Так, дослідження КСК показали, що їх кількість в основний період лактації (виключення молозивного періоду та період запуску) знаходиться в межах до 100 тис/см³, що регламентується з DSTU 3662-97 [23]. СК диференціюються як лімфоцити, моноцити, нейтрофіли (рис. 1, 2). При захворюванні корови на субклінічний мастит КСК збільшується у десятки, і навіть сотні разів, що може виражатися до 25000–30000 тис/см³.

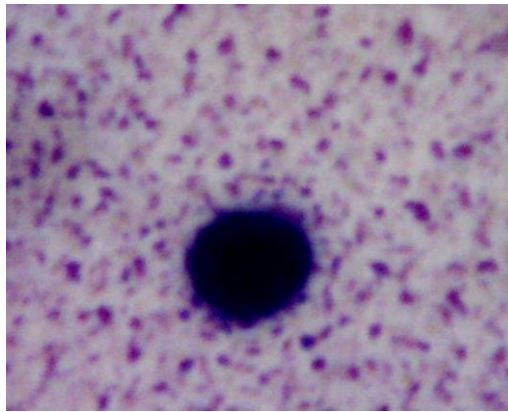


Рис. 1. Лімфоцит (молоко здорової корови) (збільшення $\times 1000$)

Так, на рис. 1. показаний лімфоцит молока здорової корови. Характерним для нього є те що, при фарбуванні за Levowitz-Weber (L-W) він округлої форми, ядро щільної консистенції інтенсивно фарбується у темно фіолетовий колір, навколо ядра добре видно незначний обідок голубуватої цитоплазми.

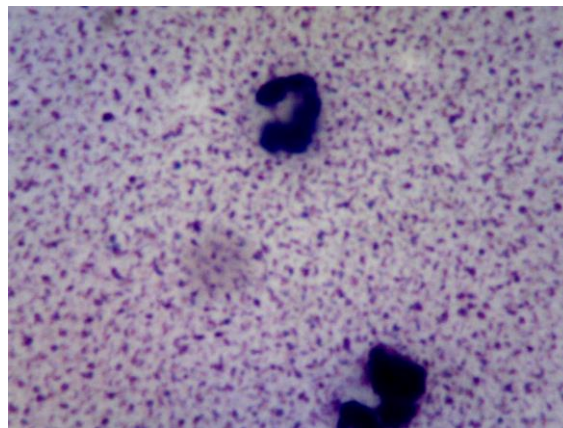


Рис. 2. Сегментоядерний нейтрофіл (молоко здорової корови)
(збільшення $\times 1000$)

На рис. 2. показаний сегментоядерний нейтрофіл. Дослідження показали, що нейтрофіли знаходяться як у молоці здорових та і хворих на субклінічний мастит. Разом з тим, необхідно відмітити, що при захворюванні на субклінічний мастит їх кількість збільшується у тисячі разів. Кількість нейтрофілів при захворюванні може займати до 90 % усіх клітин. На ряду із сегментоядерними нейтрофілами у молоці з'являються паличкоядерні та юні.

В секреті вим'я корів при субклінічному маститі з'являються моноцити (рис. 3).

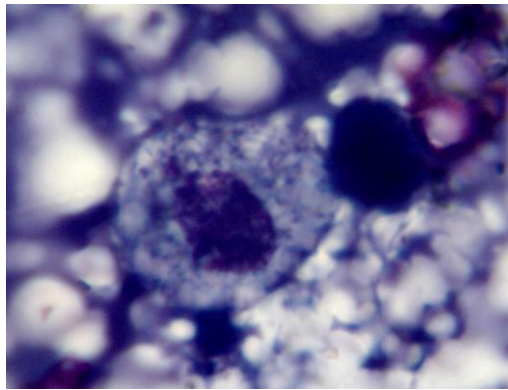


Рис. 3. Моноцит (секрет вим'я при захворюванні на субклінічний мастит)
(збільшення $\times 1000$)

Моноцити (макрофаги) мають несегментоване ядро неправильної форми зі значною кількістю цитоплазми. Макрофаги у великих кількостях накопичуються в осередках запалення. Поряд з цим, за Levowitz-Weber забарвлюються в інтенсивний фіолетово-коричневий колір. Клітина має велику кількість цитоплазми зі значною кількістю гранул темно-фіолетового до чорного кольору (базофільну). У молоці корів при субклінічному маститі вони виконують антиалергенну функцію.

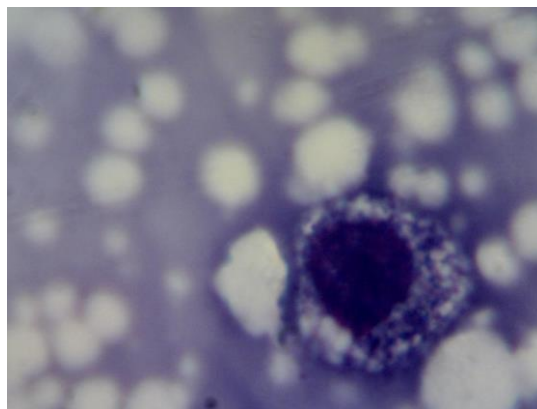


Рис. 4. Базофіл (секрет вим'я при захворюванні на субклінічний мастит)
(збільшення $\times 1000$)

Необхідно відмітити, що у молоці корів при субклінічному маститі, у світловому мікроскопі, у базофілів не видно зовнішньої клітинної оболонки. При дослідженні КСК у молоці корів не було виявлено будь-якої залежності між їх кількістю, морфологічною будовою та періодом захворювання.

Експериментальними дослідженнями в молоці корів виявлено видовий склад соматичних клітин та їх кількість. Так, рівень лейкоцитів у здорових чвертях вим'я корів знаходиться у визначених межах. Але у зв'язку з тим, що нейтрофіли виконують захисну функцію вим'я, вони постійно змінюються. Рівень макрофагів у молоці здорових корів не перевищує 2% від загальної

кількості, 60 % частка епітеліальних клітин (рис. 5, 6), решту складають лімфоцити та гранулоцити.

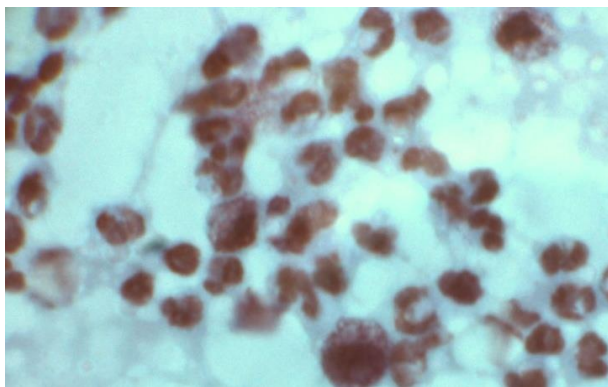


Рис. 5. Соматичні клітини секрету вим'я корови хворої на субклінічний мастит (збільшення $\times 400$)

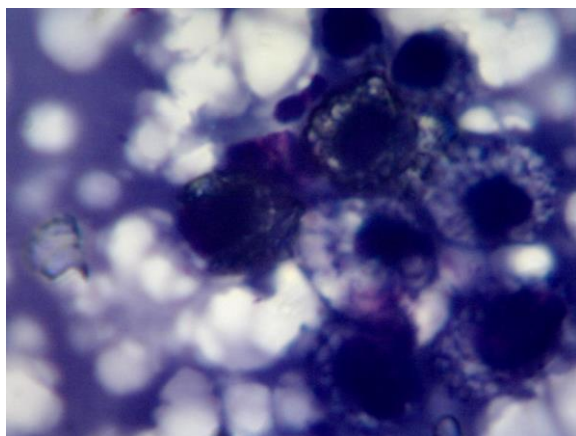


Рис. 6. Соматичні клітини секрету вим'я корови хворої на субклінічний мастит (збільшення $\times 1000$)

Вдосконалення методу визначення кількісного та видового складу соматичних клітин полягає у використанні для фіксації мазка молока спирта-денатурату. Результатом даного удосконалення є те, що мазки молока практично у 100 % утримуються на предметному склі при фарбуванні. Тоді як використання раніше запропонованих методів фіксації мазків базувалось на фарбуванні мазків крові. А як відомо, мазки молока приблизно у десять разів жирніші ніж крові, що призводить до сповзання з предметного скельця. Це також дозволило визначать не тільки кількість але й видовий склад. Разом з тим математичним шляхом вирахований коефіцієнт переводу визначення кількості соматичних клітин для мікроскопу SX 2610. Так, підрахувавши 25 полів зору мікроскопу зі збільшенням у 400 разів та знаючи площу поля зору і вивівши середні дані, перемножуємо на запропонований коефіцієнт (120405). Таким чином визначаємо КСК у см^3 молока.

Результати дослідження корів, уражених субклінічним маститом, різними методами представлено в табл. 1.

Таблиця 1

Ефективність дослідження на субклінічний мастит

КСК, тис/см ³	Методи дослідження			
	Прескотта-Бріда	Тест «Шалма»	Мастидинова проба	Проба відстоювання
100	+	–	–	–
500	+	+	–	–
1000	+	+	+	–
7000	+	+	+	+

За проведеними дослідженнями можна зробити висновок, що найбільш ефективним методом дослідження на ранній стадії виявився метод Прескотта-Бріда. Але він є досить трудомістким і не сприйнятним для використання у виробничих умовах. Найбільш чутливою пробою на виробництві виявився тест «Шалма». Він виявляє уражених тварин уже при збільшенні КСК в межах 500 тис/см³. Найменш ефективною пробою виявилась проба відстоювання, так як позитивний результат появляється лише при збільшенні КСК < 7000 тис/см³.

В результаті виробничих випробувань було встановлено, що в 68 % випадків причиною виникнення субклінічного маститу були патогенні стафілококи (*S. aureus*). Агалактійний стрептокок (*Str. agalactiae*) складав 17 % та у 15 % випадків була зареєстрована асоційована мікрофлора (рис. 7).

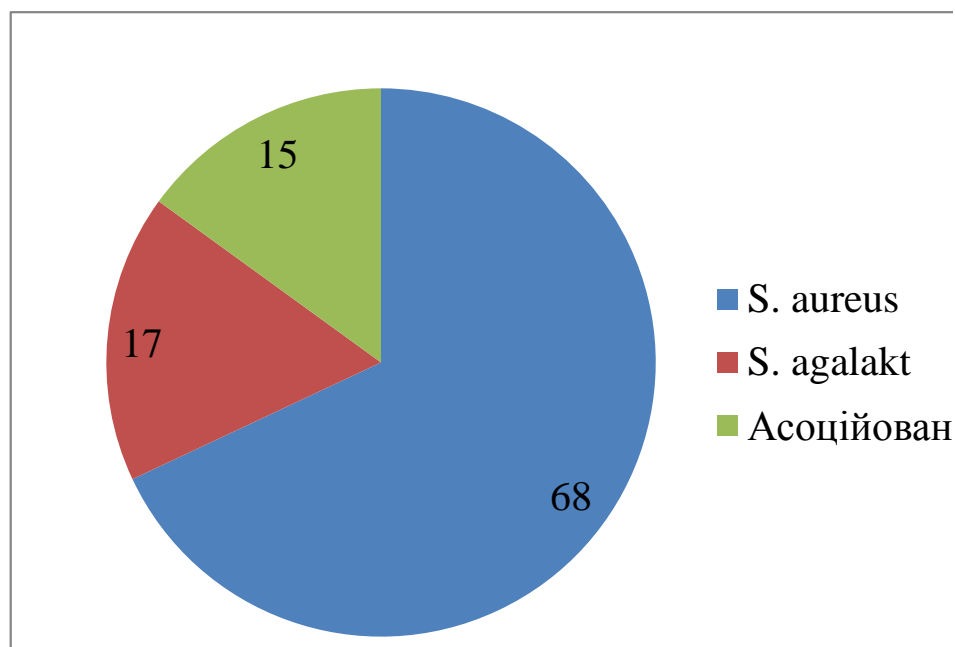


Рис. 7. Співвідношення збудників субклінічного маститу

Результати дослідження мікробного забруднення шкіри дійок та вим'я показують, що на ній завжди присутні мікроорганізми, які здатні викликати захворювання на субклінічний мастит. Різниця лише в тім, що змінюється їх співвідношення (табл. 2).

Таблиця 2

Мікробна забрудненість шкіри вим'я корів ($M \pm m$)

Вік корів (лактація)	Мікрофлора шкіри дійок (%)		
	<i>S. aureus</i>	<i>Str. agalact</i>	Асоційована
1 ($n=5$)	29±1,4	60±3,7	11±2,0
2 ($n=7$)	38±2,0	56±2,3	6±1,4
3 ($n=7$)	49±3,8	44±2,9	7±1,3
4 ($n=6$)	48±3,7	43±4,2	9±1,2

Як видно із табл. 3, у корів-первісток найменша кількість *S. aureus* і в той же час найбільша кількість *Str. agalactiae*. З віком тварини співвідношення дещо змінюється: так збільшується кількість *S. aureus* і навпаки зменшується кількість *Str. agalactiae*. Разом з тим, не виявлено зміни кількості асоційованої мікрофлори. Можна зробити припущення, що на шкірі вим'я мікроорганізми є антагоністами між собою.

Отже, збудники завжди присутні на шкірі вим'я тварин. Тому стадо від субклінічного маститу складно повністю звільнити, але контролювати його та поширення в межах 7–8 % можливо.

Основними етапами профілактики захворювання є суворе дотримання технології доїння корів, систематичне дослідження корів каліфорнійським маститним тестом (тест «Шалма») та відокремлення уражених тварин від здорових з метою розриву епізоотичного ланцюга. Однією з причин швидкого розповсюдження субклінічного маститу в стаді є перенесення збудника під час доїння, особливо з підвищеною патогенністю від хворої тварини до здорової. Основним механічним переносником є гума доїльних стаканів, через безпосередній контакт зі шкірою вим'я хворої та здорової тварини.

В зв'язку з цим були проведені дослідження динаміки бактеріального забруднення гуми доїльних стаканів. Перед початком доїння гума доїльних стаканів піддавалася ретельному механічному очищенню, обмивалася водою, дезінфікувалася. Після дезінфекції ретельно обмивалася дистильованою водою, висушувалася. Результати дослідження наведені у табл. 3.

Таблиця 3

Динаміка бактеріального забруднення гуми доїльних стаканів залежно від кількості видосених корів ($M \pm m$, $n=5$)

Вік тварин (лактація)	Перед початком доїння КУО/см ²	Після видоювання п'яти корів, тис. КУО/см ²	Після видоювання десяти корів, тис. КУО/см ²
1	2,1±0,1	534,7±29,9*	1336,7±45,1*
2	2,3±0,2	601,4±23,0*	1486,3±34,6*
3	2,3±0,3	843,6±45,0*	1568,4±67,6*
4	2,1±0,2	811,3±48,1*	1489,9±59,0*

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно до початку доїння

Мікробне забруднення гуми доїльних стаканів перед доїнням було в межах 2,1–2,3 тис. КУО/см². Після видоювання п'яти та десяти голів корів бактеріальне забруднення гуми доїльних стаканів у першій лактації збільшилось у 267 та 668, другої у 261,3 та 646,2 рази відповідно. Така ж тенденція спостерігалась і за інших лактацій ($p \leq 0,05$). Як видно із результатів дослідження (табл. 2), мікробне забруднення гуми доїльних стаканів має динамічний характер в сторону збільшення.

Основні джерела обсіменіння молока є молочне обладнання і безпосередньо молокопровід. З метою дослідження бактеріального обсіменіння молока залежно від технології його одержання проведені експерименти у чотирьох господарствах на різних доїльних установках (табл. 4). Перед дослідженням була проведена ретельна санітарно-гігієнічна очистка та дезінфекція вим'я корів. Одночасно з тим було підготовлене молочне обладнання (гума доїльних стаканів, колектор, молочний шланг, молокопровід та танк охолоджувач). В усіх випадках молоко брали після його охолодження до 5–6 °С. В першому і другому господарстві використовувалась установка ДеЛаваль. Різниця цих установок полягала у кількості доїльних апаратів. В 3 та 4 господарстві використовувалась установка АДМ-8 з різною довжиною молокопроводу.

Таблиця 4

Мікробіологічне обсіменіння молока за різних технологій його одержання ($M \pm m$)

Технологія доїння	Доїльне обладнання, КУО/см ³					ЗБО, КУО/см ³
	гума доїльних стаканів	молочний шланг	молочний колектор	промивна вода	доїльне відро	молоко
ДеЛаваль № 1 <i>n</i> =24	24,5±0,90	27,3±1,20	28,8±7,91	67,8±6,90	–	91,3±7,9
ДеЛаваль № 2 <i>n</i> =20	23,8±0,17	26,9±1,30	26,7±5,61	59,3±4,91	–	86,9±3,7
АДМ-8 молокопровід <i>n</i> =20	3,7±0,23	8,1±0,31	4,2±0,20	231,8±17,9	–	345,4±38,9
АДМ-8 переносні доїльні відра <i>n</i> =20	2,8±0,18	6,7±0,20	3,4±0,20	–	21,9±3,91	67,4±3,9

Як видно з табл. 4, залежно від технології отримання молока та особливостей доїльної установки, загальне обсіменіння молока суттєво відрізняється (від 67,4±3,9 до 345,4±38,9 КУО/см³). Так за використання доїльних відер молоко найкраще за показниками мікробного обсіменіння (67,4±3,9 КУО/см³). Це пояс-

нюється тим, що в даному випадку все молочне обладнання після кожного доїння розбирається, піддається ретельному очищенню та дезінфекції під контролем оператора. Після промивання доїльне обладнання висушується. Хоча і в даному випадку всі частини молочного обладнання дещо відрізняються за показниками мікробного обсіменіння (від $2,8 \pm 0,18$ до $21,9 \pm 3,91$ КУО/см³).

Найбільше обсіменіння молока виявили у господарстві з молокопроводом установки АДМ-8 – $345,4 \pm 38,9$ КУО/см³. Це пов'язано з тим що, даний молокопроводі застарілого зразка, має значну кількість з'єднань в яких накопичується багато мікроорганізмів до яких практично не доходить дезінфектант. Разом з тим, якщо порівнювати результати бактеріального забруднення промивної води у установках ДеЛаваль, то вони практично аналогічні ($67,8 \pm 6,90$ та $59,3 \pm 4,91$ – КУО/см³). Хоча у господарстві № 1, де використовується довший молокопровід, ЗБО молока дещо вища (Р невірогідне).

Отже дослідження дають змогу стверджувати, що найбільший вплив на ЗБО має молочне обладнання.

Для попередження інфікування корів збудниками маститу (*S. aureus* і *Str. agalactiae*) під час доїння необхідно після кожної видоєної корови проводити дезінфекцію гуми доїльних стаканів. Для цього запропоновано використовувати озоноповітряну суміш (ОПС), яка є екологічно чистою. Озоноповітряну суміш отримуємо за допомогою озоногенератора. Для зручності та збереження часу в процесі доїння ОПС подається по гумових трубах до доїльних стаканів в період між доїннями.

Виробництво безпечного та якісного молока на молочних фермах можливе лише за системного управління, що гуртується на контролі КСК.

Система управління отримання якісного молока базується на двох програмах та прогнозуванні захворювання корів на приховану форму маститу.

За першою програмою визначається кореляційна залежність КСК та продуктивності тварин за прихованої форми маститу у окремих корів за встановленим скором. Використання другої програми дає можливість визначити відсоток захворювання корів на приховану форму маститу шляхом визначення КСК у збірному молоці.

Таким чином, запропонований *Scor* можна використовувати як в індивідуальних господарствах, так і за значної кількості поголів'я. КСК у молоці за прихованої форми маститу виражається в мільйонах на см³. В процесі досліджень була запропонована спрощена система співвідношення.

Кожний послідуєчий рахунок *Scor* відповідає певній кількості соматичних клітин та відсотку зменшення молочної продуктивності (табл. 5).

Отже, дослідження згідно першої програми у системі управління виробництва безпечного та якісного молока вказують на кореляційний зв'язок КСК та продуктивність тварин.

В другій програмі використано розроблені показники залежності між КСК у збірному молоці та відсотком захворюванням корів у стаді. Встановлено корелятивні зв'язки між ними (табл. 6).

Таблиця 5

Прогнозування молочної продуктивності корів згідно скору

Скор	Кількість соматичних клітин (тис/см ³)	Втрати молочної продуктивності корів за лактацію (кг/305днів)			
		1 лактація		2 лактація	
		Середнє значення	Оптимальне значення	Середнє значення	Оптимальне значення
1	75	–	–	–	–
2	100	72	75	142	150
3	200	148	150	285	300
4	400	225	225	430	450
5	800	293	300	590	600
6	1600	375	375	710	750

Примітка: розроблені значення скору відповідають коровам з продуктивністю у межах 5000–7000 кг молока за лактацію

Таблиця 6

Кількості соматичних клітин у збірному молоці залежно від відсотку захворювання

Кількість уражених корів, (%)	КСК молоці, (тис/см ³)
7	200–250
12	400–450
20	600–650
30	1200–1350
50	1800–2000

Дані таблиці 6 показують, що існує пряма залежність між КСК у молоці та відсотком захворювання корів у стаді, а також ілюструє динаміку.

5. 2. Результати дослідження тварин на кетоз та молока на кетонові тіла

Були проведені експериментальні дослідження молока на кетонові тіла. Так, через 30 днів від початку досліду температура тіла тварин у середньому знизилась на 0,7 °С, що відповідає здоровим. За проведеними дослідженнями (табл. 7) можна констатувати, що клінічний статус тварин при захворюванні на приховану форму кетозу суттєво змінюється.

Таблиця 7

Показники клінічного статусу тварин та кореляція обмінних процесів у організмі корів ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Період дослідження	Група тварин		
		контрольна (здорові)	контрольна (хворі)	лікування (30 діб)
Т (°С)	початок	38,4±0,1	39,1±0,2	39,3±0,2
	закінчення	38,3±0,1	39,4±0,2	38,6±0,1

Пульс (уд/хв)	початок	61,2±0,9	89,2±1,1*	92,1±2,5*
	закінчення	61,1±0,8	93,1±1,3*	73,3±0,7
Дихання (рух/хв)	початок	17,4±0,7	33,6±1,6*	34,3±1,7*
	закінчення	17,3±0,7	36,6±2,2*	23,1±1,1*
Скорочення рубця (рух/5хв)	початок	9,0±0,3	3,5±0,2*	3,7±0,3*
	закінчення	9,0±0,3	3,3±0,2*	8,9±0,2
Активність мікрофлори (хв)	початок	1,9±0,2	6,2±0,3*	6,4±0,9*
	закінчення	1,9±0,2	8,6±0,3	2,7±0,7
Кількість інфузорій (тис/мл)	початок	928,9±35,7	342,4±18,8*	367,4±24,3*
	закінчення	931,7±41,9	296,6±27,4*	753,3±41,0*
(рН) вмісту рубця)	початок	6,8±0,4	5,1±0,3*	4,7±0,2*
	закінчення	6,8±0,3	4,8±0,4*	6,6±0,2
Кислотність молока (°Т)	початок	16,2±0,2	18,2±0,3	18,1±0,3
	закінчення	16,2±0,3	20,9±0,7	16,5±0,2

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно до здорових тварин; ** – $p \leq 0,05$ порівняно по відношенню до початку лікування. При $p \leq 0,05$ зміни вважали вірогідними

Кількість пульсових хвиль зменшилась на 18,8 ударів за хвилину, частота дихальних рухів – на 11,2 до фізіологічної норми ($p \leq 0,05$). Скорочення рубця нормалізувалось і було у межах $8,9 \pm 0,2$, що більше на 5,2 рухи ($p \leq 0,05$) від початку задавання хелатних металів (залізо, цинк, марганець, мідь). Активність мікрофлори також суттєво зросла. Разом з тим, необхідно відмітити, що збільшилась кількість інфузорії туфелька на 385,9 штук. Кислотність вмісту рубця знаходилась у межах 6,7 рН, що відповідає здоровим тваринам. Титрована кислотність молока знаходилась у межах $16,5$ °Т, що відповідає показникам гатунку «Екстра».

На рис. 7, 8 показана незначна кількість (до $342,4 \pm 18,8$ тис/мл) інфузорії туфелька, які виявили у рубцевому вмісті хворих тварин на початку дослідження. Разом з тим, практично не спостерігали великих форм інфузорій. За результатами експериментальних досліджень після застосування хелатних металів через 5–7 днів від початку в рубцевому вмісті суттєво збільшилась кількість великих форм інфузорій.

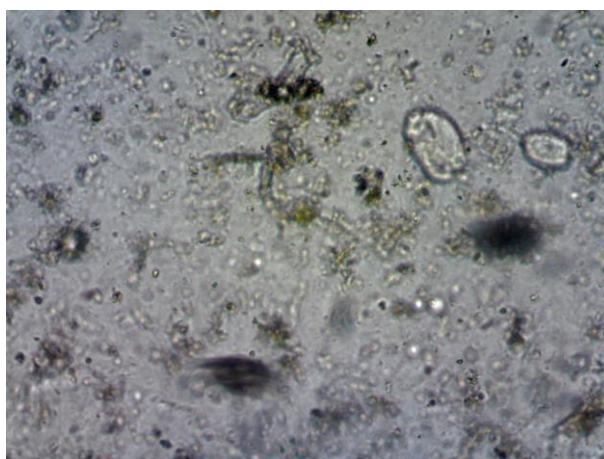


Рис. 7. Інфузорії туфелька (×400)

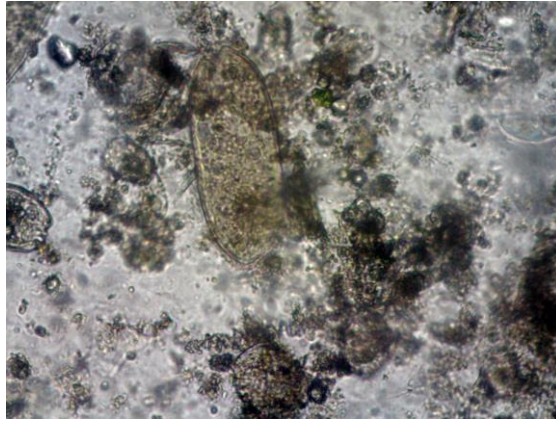


Рис. 8. Великі та малі форми інфузорій ($\times 400$)

Проведені дослідження показали (табл. 3), що простіші після використання кормової добавки з хелатними металами мали більшу чисельність до $753,3 \pm 41,0$ ($p \leq 0,05$). У них спостерігається активний, прямолінійний рух, як великих так і малих форм (рис. 9, 10).

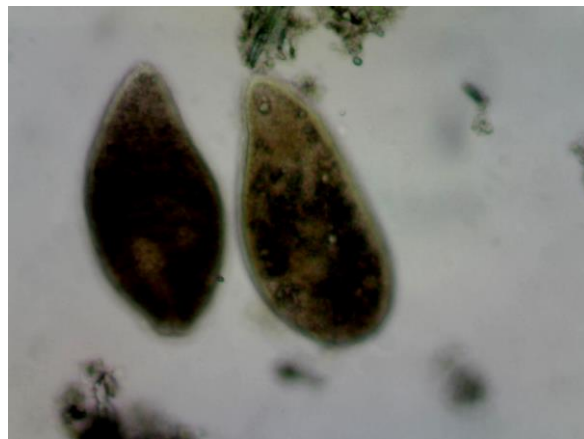


Рис. 9. Інфузорія (Holotricha) ($\times 400$)

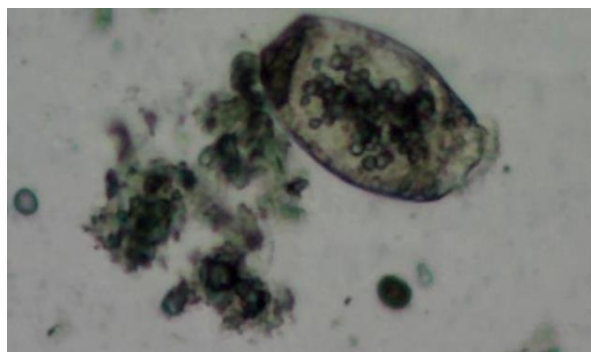


Рис. 10. Інфузорія (Spirotricha) ($\times 400$)

На рис. 9 при уважному розгляді можна побачити, що внутрішні органи інфузорій мають синюватий відтінок. Це свідчить про те, що інфузорії інактивують метиленовий синій. Отже, по кількості інфузорій та їх активності

можна судити про рівень обмінних процесів в організмі корів. Разом з тим, для повного розуміння впливу кормової добавки на основі хелатних металів на корів були проведені дослідження морфологічного та біохімічного складу венозної крові (табл. 8).

Таблиця 8
Морфологічний та біохімічний склад венозної крові корів

Показники	Групи тварин (2–5 доба після розселення)			
	здорові (контроль)	хворі (контроль)	період дослідження	
			початок 2–4 доба	закінчення (30 діб)
Еритроцити, Т/л	5,7±0,3	5,6±0,3	5,6±0,2	5,9±0,3
Лейкоцити, Г/л	8,9±0,3	5,6±0,5	5,3±0,4	8,4±0,5*
Загальний білок, г/л	84,2±4,4	97,2±4,1	96,7±3,1	82,7±4,2*
Глюкоза, ммоль/л	2,5±0,2	1,6±0,2	1,5±0,3	2,6±0,3*
Гемоглобін, г/л	99,1±3,1	98,1±4,1	99,1±3,5	102,2±3,7
Резервна лужність (%)	50,1±4,2	30,8±3,4	31,4±2,8	50,1±5,1*
Кетонові тіла, ммоль/л	2,1±0,2	6,2±0,7	5,9±0,5	1,1±0,2*

Примітка: * – $p \leq 0,05$ по відношенню до даних на початку досліду. При $p \leq 0,05$ зміни вважали вірогідними

Аналіз даних табл. 6 показує позитивні зміни у організмі корів. Відомо, що в перші дні після розселення кількість лейкоцитів зростає, а при захворюванні на кетоз, навпаки виявили зменшення – лейкопенія. Так, кількість лейкоцитів, порівняно до здорових корів була менше на 3,6 Т/л. Після використання кормової добавки на основі хелатів металів кількість лейкоцитів збільшилась на 3,1 Т/л ($p \leq 0,05$). Кількість загального білку зменшилась на 14 Г/л ($p \leq 0,05$). Разом з тим, збільшилась кількість глюкози на 1,1 ммоль/л ($p \leq 0,05$), що відповідає мінімальному показнику здорових тварин. Гемоглобін практично не відрізнявся показниками. Резервна лужність крові підвищилась на 18,8 % і відповідала фізіологічній нормі ($p \leq 0,05$). Кількість кетонових тіл зменшилась на 4,8 ммоль/л ($p \leq 0,05$).

6. Обговорення результатів дослідження та розробка заходів покращення якості молока на виробництві

Експериментальними дослідженнями в молоці корів виявлено видовий склад соматичних клітин та їх кількість в залежності від здоров'я вимені. Тобто визначено, що при появі субклінічного маститу у молоці збільшується поступово КСК у десятки, і навіть сотні разів, що може виражатися до 25000–30000 тис/см³. Встановлено, що це відбувається за рахунок лейкоцитів (паличкоядерних нейтрофілів). Експериментальним шляхом доведено, що найбільш точним є метод прямого підрахунку кількості соматичних клітин у мазках молока сирого – мікроскопічний метод Прескотта-Бріда. Недоліком цього дослідження є його трудомісткість для використання на молочних фермах. Цей метод також дає можливість найбільш ранньої діагностики, але є

доволі трудомістким для використання на молочних фермах. Тому в якості альтернативи на виробництві-використовували каліфорнійський маститний тест (тест Шалма), який з усіх перерахованих дає максимально наближений результат, у порівнянні із методом Прескотта-Бріда. Встановлено, що він виявляє уражених тварин уже при збільшенні КСК в межах 500 тис/см³. Перспективою подальших досліджень є створення більш універсального маститного тесту, який буде менш трудомістким і з меншою похибкою для використання на виробництві.

Удосконалений спосіб фіксації мазків крові, з урахуванням жирності молока, що дає можливість визначенню видового складу соматичних клітин. Потрібно відмітити, що методи діагностики субклінічного маститу мають різну чутливість. Дослідники вважають пробу відстоювання малоефективною для виявлення хворих на субклінічний мастит корів. Використання димастину і мастидину, за даними окремих авторів, не завжди ефективно, в результаті чого дослідники отримують завищену кількість хворих тварин [24, 25].

Отже, якщо на першому етапі доїння потрапляє корова, уражена субклінічним маститом, то є велика ймовірність, що збудник маститу буде перенесений на шкіру вим'я інших тварин. Тому при незадовільному стані шкіри вим'я (мікротріщини, садни та ін.), зниженні резистентності організму тварин може виникнути захворювання на субклінічний мастит [26].

Експериментально розроблений метод математичного розрахунку коефіцієнту переводу визначення кількості соматичних клітин для мікроскопу SX 2610. Таким чином визначаємо КСК у см³ молока. За рахунок цього встановлюємо фізіологічний стан вим'я.

Визначений видовий склад збудників маститу та доведений їх шлях передачі через гуму молочних стаканів під час доїння з динамічним зростанням кількості мікроорганізмів. Тому запропонований спосіб дезінфекції озоноповітряною сумішшю (ОПС).

Виробництво безпечного та якісного молока на молочних фермах можливе лише за системного управління, що гуртується на контролі КСК.

Система управління отримання якісного молока базується на двох програмах та прогнозуванні захворювання корів на приховану форму маститу. Запропонований *Scor* можна використовувати як в індивідуальних господарствах, так і на виробництві. Розроблена спрощена система *Scor*, яка дозволяє визначати відсоток захворювання у стаді уражених маститом за вмістом у збірному молоці соматичних клітин та прогнозування зниження молочної продуктивності.

Значну частину необхідних речовин для потреб власного організму та утворення молока тварина отримує від перетравлення мікроорганізмів що знаходяться у рубці. Для розмноження мікроорганізмів у рубці їм необхідні задовільні умови. Молочні корови здатні до 30 % перетворити рослинний білок у тваринний [27–29].

При захворюваннях на кетоз у корів погіршується фізіологічний стан в наслідок порушення обміну речовин. У молоко потрапляють кетонову тіла та токсини. Експериментальним шляхом було доведено, що використання тваринами хелатних металів нормалізує обмінні процеси в організмі тварин за

рахунок вирівнювання цукро-протеїнового співвідношення. В рубці створюються сприятливі умови для росту та розмноження мікрофлори рубця та знижується рівень кетонів у молоці. Додаток до корму тварин на основі хелатних металів дає можливість профілакувати виникнення кетозу. В плані застосування засобу як терапевтичного є обмеження в залежності від тяжкості перебігу кетозу у тварини.

Порівняно з іншими методами боротьби з кетозом застосовують пропіленгліколь, який необхідно задавати кожній тварині у вигляді ін'єкції. Цей спосіб є трудомістким та затратним [30].

Додаток на основі хелатних металів можна застосовувати разом із кормами для лікування або попередження виникнення кетозу у корів. Хелатні метали (залізо, мідь, цинк та марганець) є активаторами функцій ферментів, гормонів і вітамінів. Вони приймають участь у процесі кровотворення, росту, розмноженні, та мають антиоксидантні властивості [31, 32].

Дослідження активності інфузорій дає можливість визначити не тільки функціональний стан рубця, а також стан організму тварин. Простіші є індикатором здоров'я корів. Зазвичай при порушенні обміну речовин у жуйних тварин застосовують тривалі та матеріально затратні дослідження крові, сечі та молока. Тому запропонований метод дослідження інфузорій рубця для визначення змін в організмі жуйних тварин.

Необхідно відмітити, що запропоновані заходи, впроваджені на виробництві, дають змогу покращити якість та безпечності молока та підвищити його сортності до класу «Екстра». Цього можна досягти шляхом зменшення кількості соматичних клітин та мікроорганізмів у молоці, зниження захворюваності корів на мастит. Зменшення кислотності молока – за рахунок профілактики та лікування кетозу корів.

7. Висновки

1. Встановлено, що при захворюванні корів на субклінічний мастит в молоці збільшується кількість соматичних клітин та змінюється їх видовий склад. Для ранньої діагностики маститу на виробництві рекомендується використовувати тест Шалма та для підтвердження діагнозу метод Прескотта-Бріда. Для попередження інфікування корів збудниками маститу (*S. aureus* і *Str. agalactiae*) під час доїння необхідно після кожної видоєної корови проводити дезінфекцію гуми доїльних стаканів озоноповітряною сумішшю (ОПС)..

2. Доведено ефективність застосування добавки на основі хелатних металів для зменшення кетонів у молоці на 4,8 ммоль/л, кислотності молока на 4,4 °Т, кислотність вмісту рубця та збільшенню кількості інфузорій порівняно до фізіологічної норми ($p \leq 0,05$). Розроблена система заходів дозволяє виробнику вчасно реагувати на зміни здоров'я тварин за показниками КСК і, як наслідок, впливати на показники якості та безпечності молока.

Література

1. Agricultural interventions and nutrition: lessons from the past and new evidence / Arimond M., Hawkes C., Ruel M. T., Sifri Z., Berti P. R., Leroy J. L.

et. al. // Combating micronutrient deficiencies: food-based approaches. 2011. P. 41–75. doi: <https://doi.org/10.1079/9781845937140.0041>

2. Petrov P., Zhukova Y., Yuriy D. The Effects of Dairy Management on Milk Quality Characteristics // Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology. 2016. Vol. 4, Issue 9. P. 782. doi: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v4i9.782-786.745>

3. Палій А. П. Інноваційні основи одержання високоякісного молока: монографія. Харків: Міськдрук, 2016. 270 с.

4. Influence of dust content in milking rooms on operation modes of milking machine pulsators / Paliy A. P., Nanka O. V., Lutcenko M. M., Naumenko O. A., Paliy A. P. // Ukrainian Journal of Ecology. 2018. Vol. 8, Issue 3. P. 66–70.

5. Management practices associated with the bulk-milk prevalence of *Staphylococcus aureus* in Canadian dairy farms / Olde Riekerink R. G. M., Barkema H. W., Scholl D. T., Poole D. E., Kelton D. F. // Preventive Veterinary Medicine. 2010. Vol. 97, Issue 1. P. 20–28. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.07.002>

6. The genetic background of clinical mastitis in Holstein-Friesian cattle / Szyda J., Mielczarek M., Frąszczak M., Minozzi G., Williams J. L., Wojdak-Maksymiec K. // Animal. 2019. P. 1–8. doi: <https://doi.org/10.1017/s1751731119000338>

7. The effect of out-wintering pad design on dirtiness score, somatic cell score and mastitis incidence in dairy cows / O'Driscoll K., Boyle L., French P., Meaney B., Hanlon A. // Animal. 2008. Vol. 2, Issue 6. P. 912–920. doi: <https://doi.org/10.1017/s1751731108001882>

8. Санітарно-гігієнічна оцінка якості та безпечності молока корів отриманого за новітніх технологій / Скляр О. І., Шкромада О. І., Герун І. В., Паращенко В. В. // Вісник Сумського НАУ. 2017. № 11 (41). С. 74–77.

9. Hussain R., Javed M. T., Khan A. Changes in some biochemical parameters and somatic cell counts in the milk of buffalo and cattle suffering from mastitis // Pakistan Veterinary Journal. 2012. Vol. 32, Issue 3. P. 418–421.

10. Joshi S., Gokhale S. Status of Mastitis as an Emerging Disease in Improved and Periurban Dairy Farms in India // Annals of the New York Academy of Sciences. 2006. Vol. 1081, Issue 1. P. 74–83. doi: <https://doi.org/10.1196/annals.1373.007>

11. Effects of Somatic Cell Count on Quality and Shelf-Life of Pasteurized Fluid Milk / Ma Y., Ryan C., Barbano D. M., Galton D. M., Rudan M. A., Boor K. J. // Journal of Dairy Science. 2000. Vol. 83, Issue 2. P. 264–274. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(00\)74873-9](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(00)74873-9)

12. Скляр О. І. Діагностика субклінічного маститу корів // Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина. 2014. Вип. 6. С. 187–189.

13. Палій А. П., Палій А. П. Техніко-технологічні інновації у молочному скотарстві: монографія. Харків: Міськдрук, 2019. 324 с.

14. Prevalence of subclinical ketosis and production diseases in dairy cows in Central and South America, Africa, Asia, Australia, New Zealand, and Eastern

Europe / Brunner N., Groeger S., Canelas Raposo J., Bruckmaier R. M., Gross J. J. // *Translational Animal Science*. 2019. Vol. 3, Issue 1. P. 84–92. doi: <https://doi.org/10.1093/tas/txy102>

15. Herdt T. H. Ruminant Adaptation to Negative Energy Balance // *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2000. Vol. 16, Issue 2. P. 215–230. doi: [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30102-x](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30102-x)

16. Gordon J. L., LeBlanc S. J., Duffield T. F. Ketosis Treatment in Lactating Dairy Cattle // *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2013. Vol. 29, Issue 2. P. 433–445. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.03.001>

17. Bhutto A. L., Murray R. D., Woldehiwet Z. California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows // *Research in Veterinary Science*. 2012. Vol. 92, Issue 1. P. 13–17. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.10.006>

18. Системи управління якістю. Молоко. Підрахунок соматичних клітин. Частина 1. Метод із застосуванням мікроскопу (контрольний метод) (ISO 13366-1:2008 IDF 148-1:2008): ДСТУ ISO 13366-1:2008 / Андрієвський В. Є., Костенко О. І., Остапюк М. П., Касянчук В. В., Скляр О. І. К.: Держспожив стандарт України, 2013. 12 с.

19. Prescott S. C., Breed R. S. The Determination of the Number of Body Cells in Milk by a Direct Method // *American Journal of Public Hygiene*. 1910. Vol. 20, Issue 3. P. 663–664. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2543863/pdf/amjphygiene00003-0209.pdf>

20. Lee C.-S., Wooding F. B. P., Kemp P. Identification, properties, and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cows secretions, colostrum and milk from normal cows // *Journal of Dairy Research*. 1980. Vol. 47, Issue 1. P. 39–50. doi: <https://doi.org/10.1017/s0022029900020860>

21. Murphy S. C., Boor K. J. Trouble-shooting sources and causes of high bacteria counts in raw milk // *Dairy, Food and Environmental Sanitation*. 2000. Vol. 20, Issue 8. P. 606–611.

22. Development of the system to control milk acidity in the milk pipeline of a milking robot / Nanka O., Shigimaga V., Paliy A., Sementsov V., Paliy A. // *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. 2018. Vol. 3, Issue 9 (83). P. 27–33. doi: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2018.133159>

23. ДСТУ 3662-97. Молоко коров'яче незбиране. Вимоги при закупівлі. Київ, 1997. 13 с.

24. Laurs A., Priekulis J., Purins M. Studies of operating parameters in milking robots // 8th International Scientific Conference “Engineering for rural development”. Jelgava, 2009. P. 38–42.

25. Flow cytometric differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands / Schwarz D., Diesterbeck U. S., König S., Brügemann K., Schlez K., Zschöck M. et. al. // *Journal of Dairy Science*. 2011. Vol. 94, Issue 10. P. 5033–5044. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4348>

26. Preconditions for eco-friendly milk production on the modern dairy complexes / Palii A. P., Nanka O. V., Naumenko O. A., Prudnikov V. G., Paliy A. P. // *Ukrainian Journal of Ecology*. 2019. Vol. 9, Issue 1. P. 56–62.

27. Identification and Characterization of Elevated Microbial Counts in Bulk Tank Raw Milk / Hayes M. C., Ralyea R. D., Murphy S. C., Carey N. R., Scarlett J. M., Boor K. J. // *Journal of Dairy Science*. 2001. Vol. 84, Issue 1. P. 292–298. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(01\)74479-7](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(01)74479-7)

28. Peinhopf W., Prunner I. Dietary measures to prevent milk fever and ketosis in dairy cows // *Tieraerztliche Umschau*. 2016. Vol. 71, Issue 5. P. 147–156.

29. Estimation of Energy Balance at the Individual and Herd Level Using Blood and Milk Traits in High-Yielding Dairy Cows / Reist M., Erdin D., von Euw D., Tschuemperlin K., Leuenberger H., Chilliard Y. // *Journal of Dairy Science*. 2002. Vol. 85, Issue 12. P. 3314–3327. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(02\)74420-2](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(02)74420-2)

30. Monitoring for subclinical ketosis in dairy herds / Geishauser T., Leslie K., Kelton D., Duffield T. // *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 2001. Vol. 23, Issue 5. P. S65–S71.

31. Застосування неорганічних та органічних сполук Co, Cu та Zn за їх недостатності у дійних корів / Слівінська Л. Г., Русин В. І., Максимович І. А., Леню М. І., Чернушкін Б. О., Приступа О. І. // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С. З. Ґжицького*. 2017. Т. 19, № 78. С. 177–181. doi: <https://doi.org/10.15421/nvlvet7836>

32. Influence of the level feeding high-productive cows on obtaining biosafety products / Osipenko T. L., Admina N. G., Palii A. P., Chechui H. F., Mihalchenko S. A. // *Ukrainian Journal of Ecology*. 2018. Vol. 8, Issue 4. P. 189–194.