



Ранняя диагностика кетоза и мастита

Директор ООО «Бентли Инструментс Рус»

Фомина Полина

Селекционный контроль качества молока

Определение базовых показателей контроля качества молока



- ◇ Жир
- ◇ Белок общий
- ◇ Белок истинный
- ◇ Мочевина
- ◇ Сухие вещества
- ◇ СОМО
- ◇ Точка замерзания

} Выявление проблем кормления

- ◇ Соматические клетки

Современное состояние в России и странах СНГ

- ◇ Оценить уровень кормления животных
 - ◇ Корректировать системные изменения обмена веществ (кетоз, ацидоз);
 - ◇ Контролировать уровень соматических клеток в молоке коров (скрытые формы маститов, получение молока класса Экстра, экономическая эффективность);
 - ◇ Оценить вероятность фальсификации молока (точка замерзания, сухое вещество, pH);
 - ◇ Проверить технологические свойства молока (казеин, pH, истинный белок, лактоза).
- ◇ Развитие коммерческих лабораторий
 - ◇ Закрепление на гос. уровне требования к контролю сырого молока. Расширение списка обязательных показателей
 - ◇ Реальная практика. Использование для оценки эффективности стада.

Кетоз

- это заболевание, вызываемое нарушением баланса между энергией, поступающей в организм, и потребностью в энергии
- обнаруживается в послеродовом периоде – наиболее критичен в первые 100 дней лактации (40 дней)
- вызывается значительным увеличением выработки молока после отела: потребление большого количества энергии
- приводит к расстройствам репродуктивной функции, смещению сычуга и т.п.
- имеет клиническую и субклиническую стадии
- кетоз наблюдается примерно у 41 % молочных коров в первые 9 недель лактации: кетоз – вторая по значимости проблема продуктивности молочных коров

Причины кетоза

Генетические факторы

- Родители
- Специфический генотип - ДНК

+ Состояние обмена веществ коровы

- Скрининг и выявление на ферме - KetoTest

+ Связь с лактацией и надоями

- День лактации, № лактации

+ Влияние условий на ферме

- Проблемы и решения, связанные с организацией работы фермы
- Кормление

+ Влияние сезонных факторов/особых условий

+ Ошибка

Выявление кетоза на основе нового вероятностного подхода с использованием

- приборов для ИК-спектрометрии с преобразованием Фурье и
- данных учета состояния животных и результатов анализа проб

Подходы к выявлению кетоза

– отслеживание показателей БГБ, ацетона в молоке

Složka	75%	95%
OA	0.82	1.26
F/P	1.33	1.64
F/S	0.334	0.3848
F/SNF	0.45829	0.5969
F/L	0.8554	1.0726
Aceton 1	4.067	6.972
Aceton 2	8.079264	17.7207
Aceton 3	7.0168	15.45144
BHB A	4.164	7.287
BHB B	218.61	307.095
BHB GC	19.817	23.4759

- ◇ Предельный лимит по ацетону составляет 0.30-0.35 ммоль/л.
- ◇ Предельный лимит по БГБ составляет 0.25 ммоль/л.
- ◇ Достижение одного из лимитов достаточно!
- ◇ При достижении лимита необходима консультация специалиста.

Подходы к выявлению кетоза

- вероятностный подход к выявлению кетоза

- **Использование анализа проб молока и автоматизированного программного решения**
 - обзор состояния в стаде по времени, ежемесячный отчет, данные учета состояния животных, без дополнительных анализов проб/затрат – новый инструмент для организации работы фермы
- **Объединение различных групп параметров для повышения вероятности выявления**
 - данные учета состояния животных, результаты, связанные с кетозом, пропорциональное соотношение содержания ингредиентов молока
- **Определение содержания микрокомпонентов молока, связанных с кетозом**
 - ацетон, БГБ, БГБ в крови, ОК, ЛК, определение содержания в связи с частотой взятия проб

Подходы к выявлению кетоза

- вероятностный подход к выявлению кетоза

Сводная таблица – Группа лактации < 100 дней – период времени

Месяц	Средние значения										
	Кол-во	Надой молока (л)	ОК %	ЖБ	ЖТ	ЖНТО	ЖП	Ац1 (мг/мл)	Ац2 (мг/мл)	Ац3 (мг/мл)	БГБК (мг/мл)
3-2013	118	32.88	0.88	1.29	0.31	0.48	0.85	3.71	6.00	4.79	4.46
4-2013	102	32.96	0.74	1.16	0.28	0.42	0.74	2.81	5.26	3.82	3.44
5-2013	105	30.25	0.91	1.28	0.31	0.47	0.84	3.86	4.54	4.45	4.61
6-2013	84	31.06	0.88	1.25	0.30	0.46	0.82	4.27	9.90	8.61	4.15
7-2013	99	34.00	0.77	1.15	0.29	0.43	0.76	4.78	13.73	13.15	3.56
8-2013	128	30.98	0.84	1.28	0.31	0.47	0.84	4.75	10.97	11.57	4.09
9-2013	13	33.92	0.83	1.31	0.36	0.50	0.91	4.47	5.86	6.15	4.48
10-2013	7	37.36	0.81	1.24	0.34	0.47	0.84	4.23	7.76	6.42	3.72
11-2013	126	34.89	0.71	1.15	0.33	0.45	0.82	4.50	6.00	5.96	3.80
12-2013	119	34.93	0.72	1.17	0.30	0.45	0.83	4.11	3.16	2.17	3.58
1-2014	109	34.87	0.72	1.20	0.34	0.47	0.86	3.86	5.70	6.01	3.95
2-2014	96	32.55	0.86	1.25	0.32	0.46	0.87	4.68	4.22	5.67	4.71
3-2015	104	33.17	0.66	1.04	0.29	0.40	0.73	3.47	4.93	5.22	4.14
4-2015	96	35.31	0.70	1.13	0.30	0.42	0.74	3.36	4.88	5.30	3.64
5-2015	136	35.06	0.66	1.11	0.29	0.39	0.69	4.13	4.55	4.44	3.93
Всего в среднем	1442	33.60	0.78	1.26	0.31	0.45	0.81	4.67	6.54	6.25	4.02

Сводная таблица – Группа лактации > 100 дней – период времени

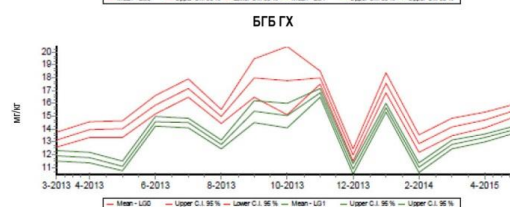
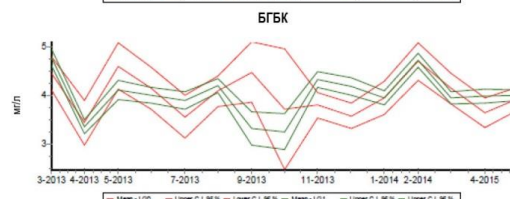
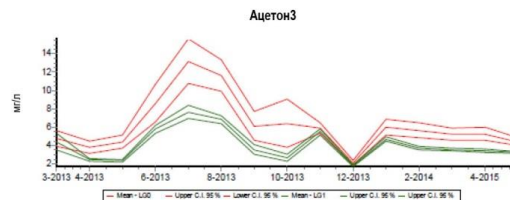
Месяц	Средние значения										
	Кол-во	Надой молока (л)	ОК %	ЖБ	ЖТ	ЖНТО	ЖП	Ац1 (мг/мл)	Ац2 (мг/мл)	Ац3 (мг/мл)	БГБК (мг/мл)
3-2013	311	23.74	0.81	1.19	0.31	0.47	0.87	2.99	5.93	4.44	4.79
4-2013	304	25.22	0.71	1.11	0.29	0.43	0.80	1.57	3.08	2.51	3.36
5-2013	304	25.66	0.78	1.13	0.29	0.44	0.81	2.39	2.56	2.39	4.11
6-2013	317	25.70	0.75	1.12	0.29	0.43	0.79	3.31	7.12	5.82	4.01
7-2013	294	24.69	0.74	1.06	0.29	0.42	0.78	3.81	8.67	7.67	3.90
8-2013	285	24.94	0.78	1.13	0.30	0.45	0.85	3.21	6.84	6.84	4.21
9-2013	32	26.52	0.69	1.14	0.34	0.46	0.88	1.94	4.21	3.58	3.32
10-2013	24	23.76	0.68	1.14	0.34	0.47	0.90	1.05	3.23	2.69	3.25
11-2013	303	25.40	0.74	1.12	0.34	0.46	0.89	3.51	6.52	5.54	4.33
12-2013	305	25.56	0.72	1.11	0.30	0.46	0.89	3.00	2.78	1.87	4.19
1-2014	325	26.44	0.72	1.14	0.35	0.47	0.90	2.56	4.62	4.71	3.96
2-2014	347	25.89	0.79	1.13	0.31	0.46	0.87	3.51	3.00	3.76	4.73
3-2015	357	26.00	0.66	1.07	0.30	0.42	0.79	2.07	3.82	3.59	3.85
4-2015	365	25.95	0.69	1.11	0.31	0.44	0.82	2.11	3.44	3.49	4.00
5-2015	470	28.90	0.68	1.10	0.30	0.42	0.76	3.29	3.78	3.27	4.01
Всего в среднем	4343	25.67	0.73	1.12	0.31	0.45	0.84	2.73	4.64	4.14	4.01

◇ показывает средние результаты по ферме за каждый месяц

◇ разбивает на две группы – до 100 дней лактации и после.

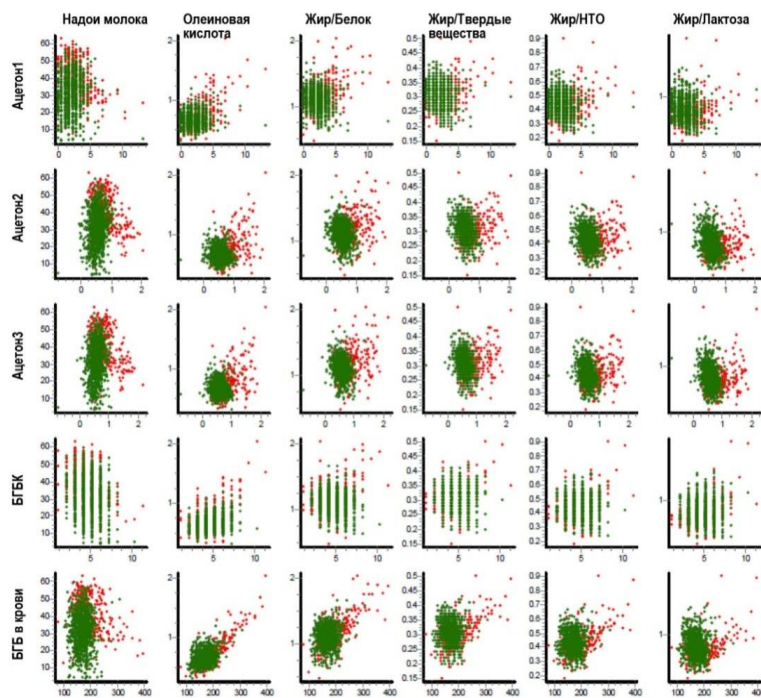


можно наблюдать динамику изменений показателей в течение длительного периода



Подходы к выявлению кетоза

- вероятностный подход к выявлению кетоза



Result under 95 % quantile											Result above 95 % quantile												
F/P	F/S	F/SNF	F/L	Ac1	Ac2	Ac3	BHBA	BHBB	BHBGC	Lact. Day	F/P	F/S	F/SNF	F/L	Ac1	Ac2	Ac3	BHBA	BHBB	BHBGC	Lact. Day		
I.16	0.30	0.41	0.73	1.74	3.12	3.00	3.12	133.25	18.25	71	I.16	0.28	0.37	0.65	0.00	4.58	3.96	3.12	170.72	19.04	84		
I.03	0.27	0.36	0.63	0.58	4.16	4.34	2.08	131.17	18.02	51	I.21	0.30	0.41	0.70	1.74	4.24	4.83	3.12	184.26	18.07	58		
I.05	0.28	0.37	0.65	0.00	4.58	3.96	3.12	170.72	19.04	84	I.03	0.27	0.36	0.63	1.74	49.03	3.13	2.08	138.45	18.22	58		
I.21	0.30	0.41	0.70	1.74	4.24	4.83	3.12	184.26	18.07	58	I.34	0.33	0.47	0.82	0.00	7.14	2.01	0.00	140.54	13.48	80		
I.03	0.27	0.36	0.63	1.74	49.03	3.13	2.08	138.45	18.22	58	I.43	0.33	0.47	0.77	2.90	2.09	3.77	2.08	191.54	13.51	44		
I.34	0.33	0.47	0.82	0.00	7.14	2.01	0.00	140.54	13.48	80	I.16	0.28	0.38	0.64	0.00	27.41	2.20	1.04	140.54	15.79	74		
I.43	0.33	0.47	0.77	2.90	2.09	3.77	2.08	191.54	13.51	44	I.14	0.29	0.39	0.67	0.58	2.85	3.43	2.08	179.05	17.61	97		
I.16	0.28	0.38	0.64	0.00	27.41	2.20	1.04	140.54	15.79	74	I.24	0.29	0.39	0.64	1.16	6.34	2.89	4.16	203.00	19.89	78		
I.14	0.29	0.39	0.67	0.58	2.85	3.43	2.08	179.05	17.61	97	I.27	0.30	0.41	0.67	0.58	4.82	1.68	1.04	171.76	15.94	50		
I.24	0.29	0.39	0.64	1.16	6.34	2.89	4.16	203.00	19.89	78	I.13	0.30	0.41	0.71	1.74	2.82	4.38	3.12	180.09	16.13	86		
I.27	0.30	0.41	0.67	0.58	4.82	1.68	1.04	171.76	15.94	50	I.94	0.24	0.31	0.52	0.58	3.46	10.85	5.20	218.61	22.10	69		
I.13	0.30	0.41	0.71	1.74	2.82	4.38	3.12	180.09	16.13	86	I.00	0.26	0.34	0.59	2.32	5.31	6.21	3.12	171.76	18.80	81		
I.94	0.24	0.31	0.52	0.58	3.46	10.85	5.20	218.61	22.10	69	I.20	0.31	0.42	0.74	5.23	5.42	2.69	5.20	169.68	19.08	93		
I.00	0.26	0.34	0.59	2.32	5.31	6.21	3.12	171.76	18.80	81	I.08	0.27	0.35	0.59	1.16	3.16	4.96	2.08	176.97	19.09	76		
I.20	0.31	0.42	0.74	5.23	5.42	2.69	5.20	169.68	19.08	93	I.60	0.40	0.63	1.18	5.23	4.29	15.68	8.33	291.46	20.92	12		
I.08	0.27	0.35	0.59	1.16	3.16	4.96	2.08	176.97	19.09	76	I.99	0.27	0.37	0.66	0.00	3.69	2.17	2.08	142.62	16.58	93		
I.60	0.40	0.63	1.18	5.23	4.29	15.68	8.33	291.46	20.92	12	I.53	0.36	0.54	0.93	4.07	0.07	4.55	3.12	238.39	14.53	35		
I.99	0.27	0.37	0.66	0.00	3.69	2.17	2.08	142.62	16.58	93	I.17	0.29	0.39	0.67	1.16	1.41	3.64	2.08	172.81	17.22	39		
I.53	0.36	0.54	0.93	4.07	0.07	4.55	3.12	238.39	14.53	35	I.24	0.32	0.46	0.82	0.00	2.17	1.23	2.08	120.76	12.49	97		
I.17	0.29	0.39	0.67	1.16	1.41	3.64	2.08	172.81	17.22	39	I.31	0.32	0.44	0.75	1.74	3.38	4.39	3.12	190.50	18.71	40		
I.24	0.32	0.46	0.82	0.00	2.17	1.23	2.08	120.76	12.49	97	I.13	0.33	0.47	0.90	2.90	5.07	1.14	2.08	113.47	9.74	36		
I.31	0.32	0.44	0.75	1.74	3.38	4.39	3.12	190.50	18.71	40	CZ0001562799	0.93	1.64	0.37	0.56	0.96	4.65	4.18	4.98	5.20	229.02	20.47	44
I.13	0.33	0.47	0.90	2.90	5.07	1.14	2.08	113.47	9.74	36	CZ0001631329	0.94	1.45	0.34	0.49	0.82	3.49	3.20	6.00	3.12	237.35	16.69	26
I.64	0.37	0.56	0.96	4.65	4.18	4.98	5.20	229.02	20.47	44	CZ0001631339	0.60	1.14	0.30	0.41	0.71	1.74	2.74	2.14	2.08	148.86	14.71	63
I.45	0.34	0.49	0.82	3.49	3.20	6.00	3.12	237.35	16.69	26	CZ0001631439	0.68	1.43	0.34	0.50	0.86	1.16	4.10	2.16	2.08	162.40	13.44	70
I.14	0.30	0.41	0.71	1.74	2.74	2.14	2.08	148.86	14.71	63	CZ0001631459	0.66	1.25	0.30	0.42	0.70	0.58	3.68	4.52	2.08	185.30	17.57	40
I.43	0.34	0.50	0.86	1.16	4.10	2.16	2.08	162.40	13.44	70	CZ0001631889	0.60	1.15	0.29	0.40	0.70	2.32	3.81	5.20	5.20	174.89	19.91	81
1.25	0.30	0.42	0.70	0.58	3.68	4.52	2.08	185.30	17.57	40	CZ0001632129	0.87	1.32	0.32	0.46	0.78	2.32	3.10	5.04	3.12	214.45	13.49	15
1.15	0.29	0.40	0.70	2.32	3.81	5.20	5.20	174.89	19.91	81	CZ0001632159	0.59	1.13	0.29	0.41	0.71	1.16	0.13	3.12	2.08	142.62	16.69	76
1.32	0.32	0.46	0.78	2.32	3.10	5.04	3.12	214.45	13.49	15	CZ0001632829	0.66	1.25	0.32	0.46	0.81	2.32	4.79	4.26	4.16	157.19	19.04	78
1.13	0.29	0.41	0.71	1.16	0.13	3.12	2.08	142.62	16.69	76	CZ0001632929	0.76	1.21	0.32	0.45	0.80	4.65	2.93	7.94	5.20	174.89	16.45	12
1.25	0.32	0.46	0.81	2.32	4.79	4.26	4.16	157.19	19.04	78	CZ0001633129	0.53	1.03	0.28	0.39	0.70	0.58	6.01	4.28	2.08	123.88	18.26	73
1.21	0.32	0.45	0.80	4.65	2.93	7.94	5.20	174.89	16.45	12	CZ0001633419	1.20	1.33	0.36	0.54	1.02	6.39	3.51	17.03	8.33	262.33	18.79	9
1.03	0.28	0.39	0.70	0.58	6.01	4.28	2.08	123.88	18.26	73	CZ0001633839	0.59	1.15	0.28	0.38	0.64	2.32	5.54	4.86	3.12	189.46	18.92	98
1.33	0.36	0.54	1.02	6.39	3.51	17.03	8.33	262.33	18.79	9	CZ0001633869	0.28	0.71	0.21	0.26	0.46	1.16	5.30	5.28	2.08	106.18	16.72	83
1.15	0.28	0.38	0.64	2.32	5.54	4.86	3.12	189.46	18.92	98													
0.71	0.21	0.26	0.46	1.16	5.30	5.28	2.08	106.18	16.72	83													

Детализированные результаты по ферме

- ◇ 0 % случаев ложной отрицательной идентификации животных
- ◇ менее 1 % ложной положительной идентификации животных
- ◇ 100 % истинной положительной идентификации животных

Мастит

– это заболевание, при котором происходит инфицирование и воспаление молочной железы коров. Заболевание возникает при попадании инфекции через сосок в вымя животного.

- **Клинический мастит**

При клинической форме мастита вымя твердеет и набухает, в месте поражения оно становится горячим. Симптомы зависят от степени тяжести заболевания: при легкой форме – в молоке есть хлопья и комки; при умеренной форме – вымя отекает, твердеет, краснеет и становится болезненным; при тяжелой форме – интоксикация, состояние животного критическое.

- **Субклинический мастит**

Эта форма заболевания опасна скрытым протеканием. Она долгое время не проходит бессимптомно. Определить ее можно путем лабораторных исследований – путем подсчета соматических клеток и анализа микрофлоры. Если вовремя не выявить субклинический мастит, он перейдет в клиническую форму.

- **Хронический мастит**

Как и при субклиническом мастите, форма заболевания носит скрытый характер.

Мастит

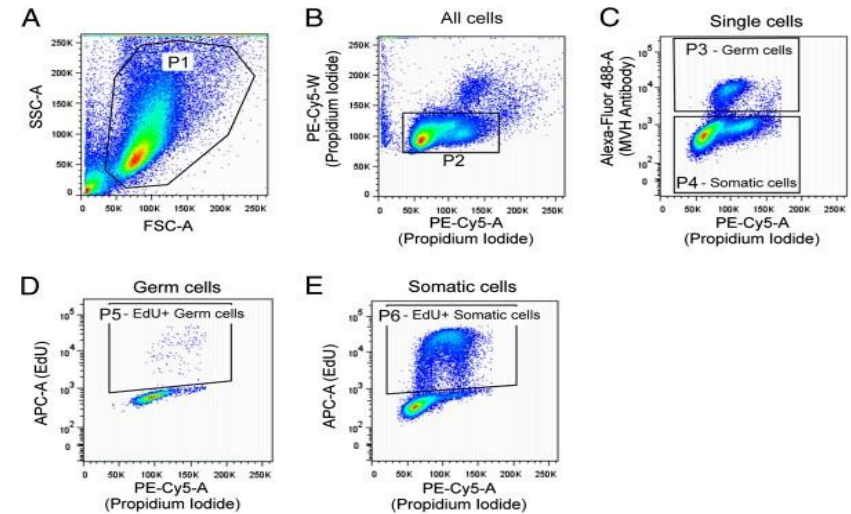
- это заболевание, при котором происходит инфицирование и воспаление молочной железы коров. Заболевание возникает при попадании инфекции через сосок в вымя животного.

◇ Сотни типов

- клетки крови, клетки тканей, лимфоциты, ... ВСЕ клетки тела млекопитающих, кроме гамет

◇ Соматические клетки в молоке

- макрофаги,
- лимфоциты,
- полиморфноядерные нейтрофилы (PMN) ,
- клетки тканей,
- клетки крови



Мастит

- это заболевание, при котором происходит инфицирование и воспаление молочной железы коров. Заболевание возникает при попадании инфекции через сосок в вымя животного.

- макрофаги - распознают вторгшиеся бактерии и инициируют приток PMN, поглощают бактерии, восстанавливают ткани
 - лимфоциты - инициация и подавление иммунного ответа
 - полиморфноядерные нейтрофилы (PMN) - связывают бактерии в начале мастита, могут быть маркером мастита,
 - ничего больше
- ◇ Обычно в молоке присутствуют лимфоциты и макрофаги
 - ◇ Возможно распознавать только макрофаги

Мастит

Клеточные характеристики молока, полученного от групп здоровых коров, коров с маститом в хронической и острой фазе

	Healthy (n = 25)	Chronic (n = 40)	Acute (n = 8)
SCC × 1000/ml	40.0 ± 4.5†	2019.8 ± 350.1*†	>9999*
Macrophages, %	35.2 ± 4.7†	19.3 ± 1.9*	10.0 ± 3.6*
Lymphocytes, %	18.4 ± 3.6†	1.4 ± 0.8*	0.3 ± 0.3*
Neutrophils, %	34.2 ± 7.5†	71.1 ± 2.8*†	88.5 ± 3.2*
Epithelial cells, %	12.2 ± 3.0†	8.2 ± 1.1	1.2 ± 1.2*

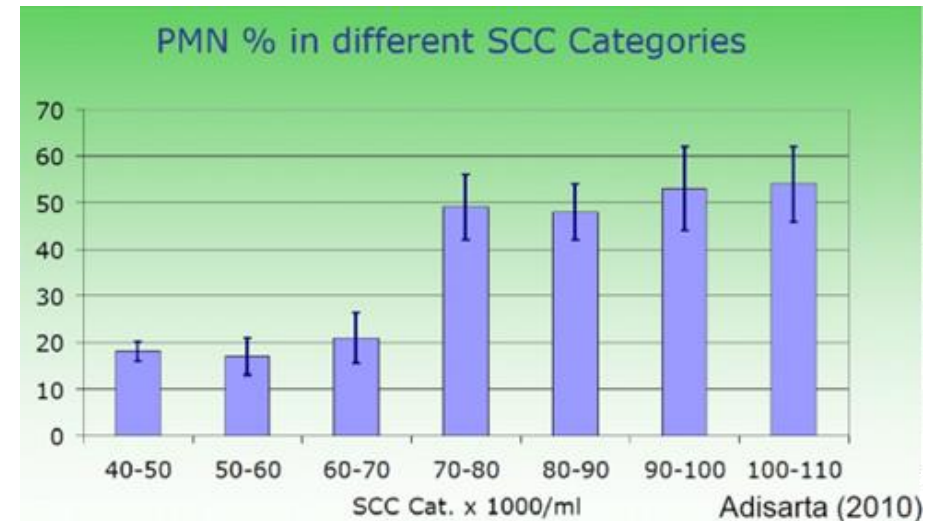
Мастит: увеличение SCC из-за PMN, лимфоцитов и макрофагов

Острый мастит:

- ◇ Увеличение SCC
- ◇ PMN составляет до 95% SCC

Хронический мастит:

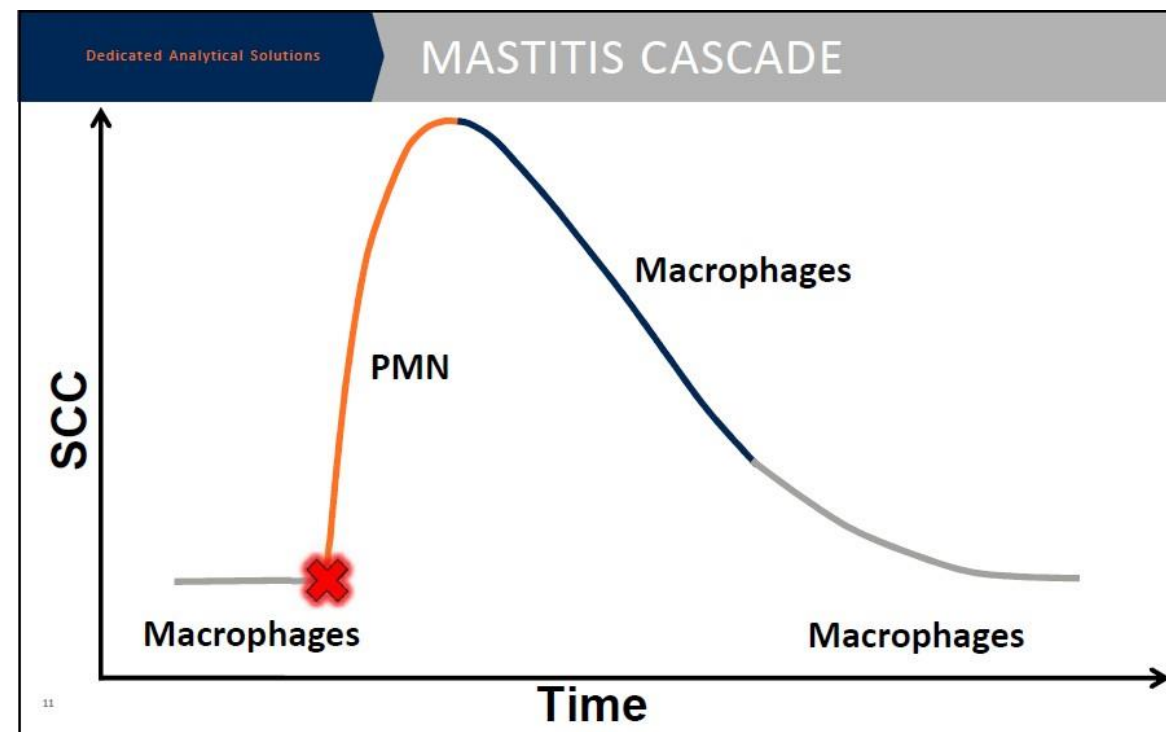
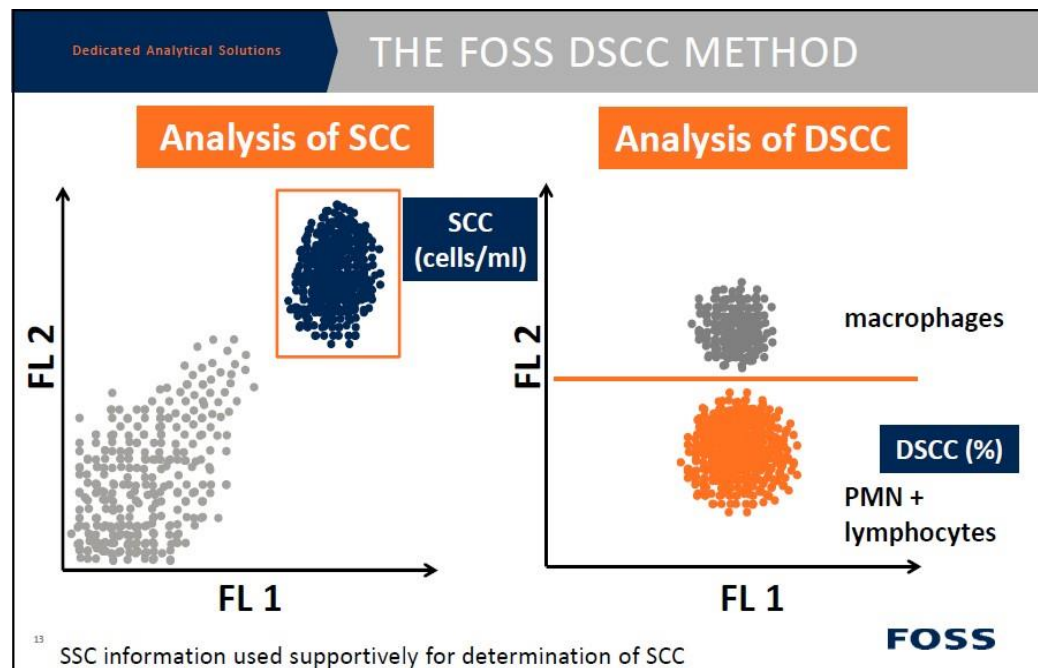
- ◇ Наблюдается через 7 дней после заражения
- ◇ Высокий SCC, макрофаги+++, PMN---
- ◇ Воспринимается только 40% терапии антибиотиками
- ◇ Часто невозможно вылечить применение антибиотиков



Обнаружение и прекращение лечения антибиотиками

Подходы к выявлению мастита

– дифференциация соматических клеток



Подходы к выявлению мастита

– дифференциация соматических клеток

■ SCC - 300 тыс/мл

- 50 тыс/мл - макрофаги
- 250 тыс/мл - PMN и лимфоциты
- DSCC = 5.0

Сложно выявить мастит, так как нам необходимо знать количество PMN!

■ SCC - 500 тыс/мл

- 100 тыс/мл - макрофаги
- 400 тыс/мл - PMN и лимфоциты
- DSCC = 4.0

– Уже острая фаза! К тому же сам SCC показывает мастит

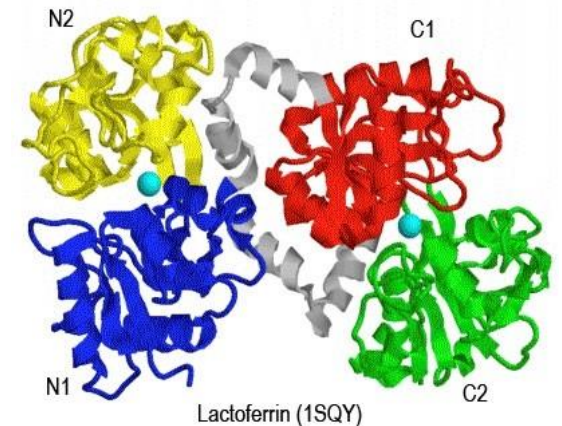
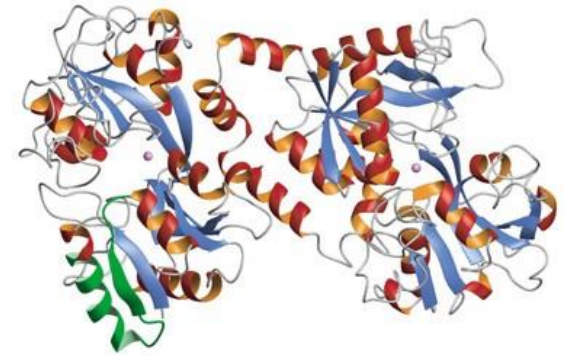
? Частота отбора проб

Подходы к выявлению мастита

– определение лактоферина как маркера мастита

Функциональный протеин из группы трансферринов

- ◇ глобулярный гликопротеин присутствует в секреторных жидкостях молоке, слюне, слезах, назальном секрете, крови, плазме и т. д., ..
- ◇ обычно выделяется из молока/молозива; рекомбинантный синтез
- ◇ самое большое содержание в молозиве и молоке (Hagiwara et al., 2003)
 - грудное молозиво - 3100 - 6700 мг/л;
 - грудное молоко - 1000 - 3200 мг/л;
 - коровье молоко – 1.15-485.63 мг/л.



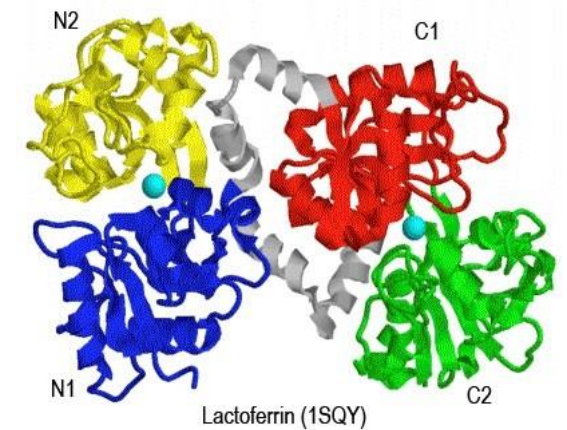
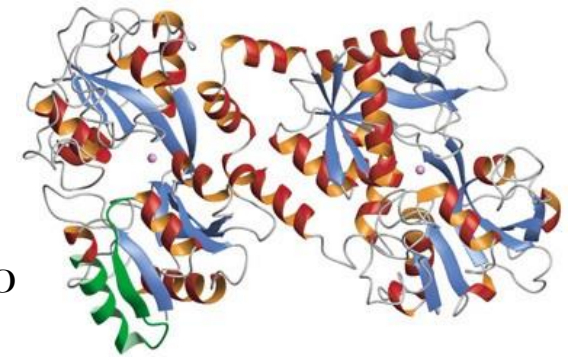
Подходы к выявлению мастита

– определение лактоферина как маркера мастита

Функциональность

- ◇ Часть естественной иммунной системы – запускает иммунную реакцию организма
- ◇ Благодаря связыванию железа и способности его транспортировки
 - противо– бактериальное, вирусное, грибковое действие;
 - каталитическое воздействие на метаболизм жиров;
 - противорадиационный и противораковый эффект;
 - противодействие ожирению, проблемам с кожей; построение костей;

Adlerová, Bartošková, Faldyna. Lactoferrin: A review, 2008.



Подходы к выявлению мастита

– определение лактоферина как маркера мастита

- Высокое содержание соматических клеток является индикатором мастита
- Высокое содержание лактоферина – это реакция иммунной системы
- Реакция иммунной системы быстрее чем клинические признаки

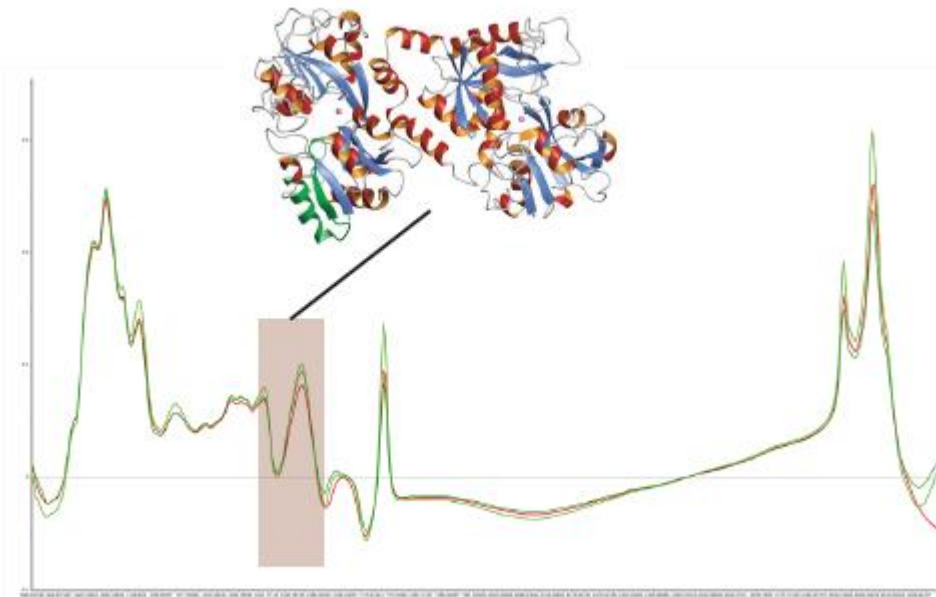


лактоферрин можно использовать в качестве маркера мастита
на суб- или клинической стадии.

Подходы к выявлению мастита

– определение лактоферина как маркера мастита

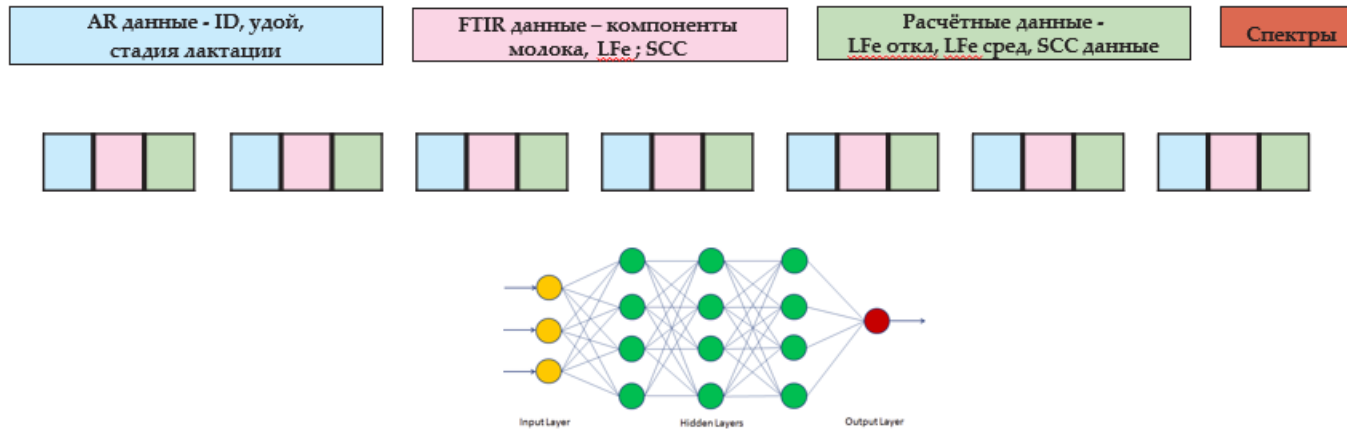
Лактоферрин в FT-IR спектроскопии



Наличие пиков функциональных групп лактоферина в ИК-спектроскопии делает возможным его количественное определение в молоке

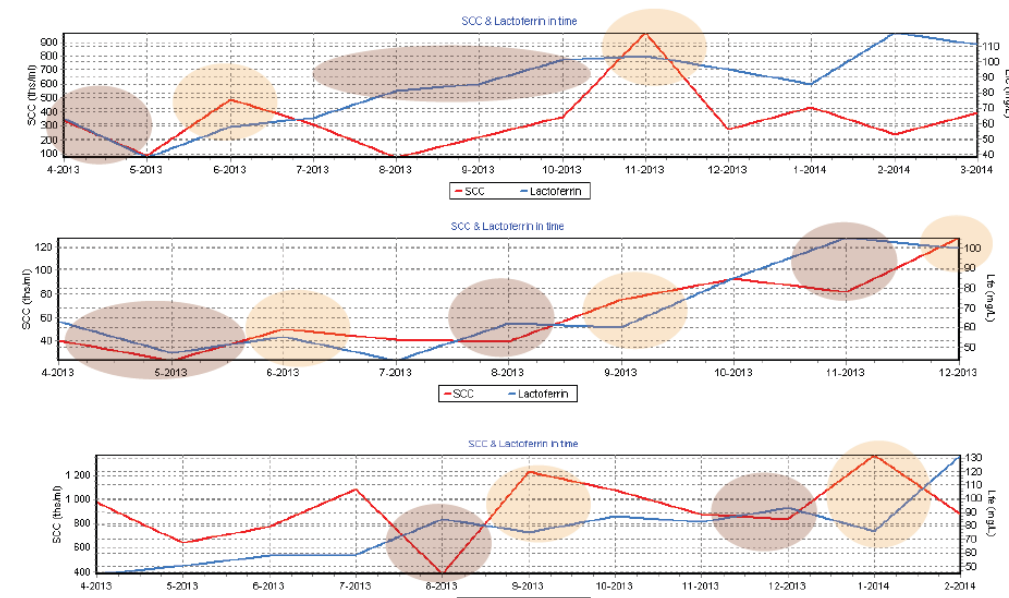
Подходы к выявлению мастита

– определение лактоферина как маркера мастита



Создание отчета
на базе полученных данных

Лактоферин повышается раньше, чем соматические клетки





**Спасибо за
внимание**