

УДК 579.26

ИЗУЧЕНИЕ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МАСТИТА

*Н.Г. Барт, кандидат биологических наук, доцент,
Тел.8(8422) 55-95-47, bart1967@mail.ru*
*С.Н. Золотухин, доктор биологических наук, профессор,
Тел.8(8422) 55-95-47, fvm.zol@yandex.ru*
*Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор,
Тел.8(8422) 55-95-47, dav_ul@mail.ru*
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: *Маститное молоко, казеин, глобулин, возбудитель, культивирование, культуры.*

Большое значение среди заболеваний сельскохозяйственных животных имеют маститы, они снижают развитие воспроизводства и соответственно, увеличения производства и высокого качества молока. Основными возбудителями маститов являются: Enterobacter aerogenes, Serratia sp., Streptococcus uberis, Streptococcus agalactiae, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Streptococcus dysgalactiae, Staphylococcus aureus, Proteus sp.

Введение. В хозяйствах Ульяновской области наиболее распространены породы скота молочного направления. Из молочных пород разведены красная степная, черно-пестрая породы [1].

В связи с высокой удойностью молочного стада, все виды маститов занимают огромное место по распространенности из всех обнаруженных в хозяйствах заболеваний, которые встречаются в ветеринарной практике. Важное значение имеет своевременная диагностика и разработка различных профилактических мероприятий, это позволяет снизить потери экономического характера [2].

Контаминация бактериальной микрофлорой молочных желез коров изучена, но недостаточно. Это связано с тем, что широкое и не всегда рациональное применение препаратов различных антимикробных действий нарушают свойства бактерий в существующих системах микробных сообществ, что позволяет появление устойчивых к антибиотикам штаммов различных бактерий, которые изменяют микробные картины в молочной железе коров и состав микрофлоры [3].

Основными возбудителями маститов являются: *Streptococcus dysgalactiae, Staphylococcus aureus* (до 95 % случаев), *Streptococcus uberis, Streptococcus agalactiae, Enterobacter aerogenes, Serratia sp., Proteus sp,*

Klebsiella pneumoniae, *Escherichia coli* (2-3%). Отмечено, что микроорганизмы *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* - возбудители, которые передаются от коровы к корове, во время доения через доильный аппарат, руки дояра, ткани (при мытье вымени); а *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus uberis*, *Klebsiella pneumoniae* - при нарушении содержания животных, при падении иммунитета в результате отелов; *Serratia sp.*, *Proteus sp.* - при мытье вымени через воду [4].

Материалы и методы исследований. Объектами исследования были пробы молока, которые были взяты от коров, в четырех хозяйствах Ульяновской области (различного вида собственности).

Маститных возбудителей в исследуемых пробах молока выделяли в условиях лаборатории кафедры МВЭ и ВСЭ ФГБОУ ВО УлГАУ. При взятии проб, коров подвергали осмотру и пальпации, а молоко проверялось по органолептическим показателям. Пробы отбирались в стерильных условиях, в стерильные пробирки. Предварительно проводилась чистка и дезинфекция вымени при помощи спиртовых тампонов, пробирки при взятии проб открывали в резиновых перчатках для соблюдения антисептики, пробирки заполняли 2-3 нажимами сосков. Отобранные нами пробы в специальных контейнерах доставлялись в лабораторию в течение 1-5 часов [5].

Каждая проба делилась на две части. Первая часть разливалась в центрифужные пробирки и центрифугировалась при 3000 об/мин в течение 15 минут. Надосадочная жидкость убиралась, а полученный осадок мы окрашивали по Граму и микроскопировали [1]. Вторая часть молока предположительно маститного молока высевалась на 5%-ый кровяной агар (с освобожденной от белков кровью барана), МПБ, МПА и среду Эндо [6].

МПА, МПБ и среда Эндо готовились по прописи. Кровяной агар готовился следующим образом: к МПА добавили 5 г/л хлорида натрия, проавтоклавировали при 121°C, охладили до 45±1°C и в стерильных условиях внесли 5%-ую свежую дефибринированную кровь барана. Готовая среда осторожно разливалась по чашкам Петри [7].

Посевы культивировались в термостате при 37±1°C, в течение 24 часов. Затем отобранные колонии микроорганизмов окрашивали по Граму и микроскопировали [8].

Результаты исследований и их обсуждение. При микроскопировании первой части каждой из проб: в 10 пробах исследуемого молока было отмечено наличие различных скоплений (в виде виноградской

лозы) грамположительных кокков. На МПА эти же культуры были представлены мелкими (1-2 мм), слегка мутными колониями правильной формы, лимонно-желтого цвета. На кровяном агаре - колонии окружались зоной β-гемолиза. На МПБ – наблюдалось помутнение среды и образовался хлопьевидный осадок на дне пробирок [9].

В 3-х пробах при посеве на среду Эндо наблюдался рост лактозоположительной микрофлоры. Имелись колонии ярко-малинового цвета с выраженным металлическим блеском, правильной округлой формы с ровными краями, диаметром 2-3 мм. На МПА – видны колонии бежеватого цвета, правильной округлой формы, диаметром 2-3 мм. На кровяном агаре - выпуклые колонии правильной формы, гемолиз не наблюдался. При проведении микроскопирования – были видны граммотрицательные палочки с закругленными концами. На МПБ - равномерное помутнение по всей пробирке. В 1-ой из проб на среде Эндо мы наблюдали образование лактозоположительных колоний без выраженного металлического блеска, диаметром 2-3 мм. На МПА - выпуклые колонии правильной формы, бежеватого цвета, диаметром 2 мм. На кровяном агаре - выпуклые колонии правильной формы, гемолиз не наблюдался. При микроскопировании - короткие граммотрицательные палочки с закругленными концами. На МПБ - помутнение среды по всей пробирке, с формированием пристеночных колец и пленок [10].

Посевы на питательные среды и проведение микроскопирования не дает окончательных результатов, то мы провели исследования по изучению биохимических свойств выделенных нами культур. По результатам биохимических тестов мы сделано заключение о видовых принадлежностях к природе возбудителя [11].

Результаты исследований, связанные с идентификацией микроорганизмов в исследуемых пробах молока представлены в таблице 1.

При анализе полученных результатов позволило нам провести видовую дифференциацию выделенных культур из проб молока: *St.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae* (табл.2).

Из проб подвергнутых исследованию, 10 проб были положительны на присутствие *St.aureus*, 3 пробы- *E.coli*, 1 проба-*K.pneumoniae*.

Заключение. В результате проведенных исследований было выявлено, что основными возбудителями мастита являлись: *St.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*.

При профилактике нами рекомендуется: организация правильного содержания и кормления животных; соблюдение правил и гигиены при доении и уходе за животными; содержание в санитарном

Таблица 1 – Исследуемые пробы молока на присутствие микроорганизмов

Проба	Биохимические тесты								Подвижность	Вид мик-ры
	1	2	3	4	5	6	7	8		
№1	-	-	+	+	+	+	+	-	-	<i>E.coli</i>
№2	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>St.aureus</i>
№3	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>St.aureus</i>
№4	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>K.pn.</i>
№5	-	-	+	+	+	+	+	-	-	<i>E.coli</i>
№6	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>St.aureus</i>
№7	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>St.aureus</i>
№8	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>St.aureus</i>
№9	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>St.aureus</i>
№10	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>St.aureus</i>
№11	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>St.aureus</i>
№12	-	-	+	+	+	+	+	-	-	<i>E.coli</i>
№13	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>St.aureus</i>
№14	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>St.aureus</i>
«+» положительная реакция										
«-» отрицательная реакция										

Таблица 2 – Результаты исследований на присутствие бактериальных агентов

Вид выделенной микрофлоры	Количество проб	% от общего числа проб
<i>St.aureus</i>	10	71,4
<i>E.coli</i>	3	21,4
<i>K.pneumoniae</i>	1	7,1
Общее количество проб	14	100

соответствии коровников и своевременную уборку территорий ферм; регулярный контроль коров ветеринарными специалистами; своевременное выявление болезней заразной и не заразной этиологии, а также их своевременное лечение, направленное на повышение иммунитета животных к маститам; соблюдение обслуживающим персоналом правил личной гигиены.

Библиографический список

1. Ширманова, К.О. Схема детекции маститогенной микрофлоры. / К.О. Ширманова, Ю.Б. Васильева, Н.Г. Барт, Н.А. Феоктистова и др. // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. –2016. – С. 234-235.
2. Васильев, Д.А. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов протейных бактериофагов // Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, Е.В. Сульдина, А.В. Мاستиленко // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2018. - № 1 (41). - С. 124-130.
3. Барт, Н.Г. Исследование бактерий рода *Providencia* на наличие в составе их генетического аппарата профага / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы VII Международной научно-практической конференции. – 2016. – С.170-173.
4. Ширманова К.О. Определение общего количества бактерий в молоке / К.О. Ширманова, Ю.Б. Васильева, Н.Г. Барт, Н.Ю. Терентьева и др. // Студенческий научный форум – 2016: VIII Международная студенческая электронная научная конференция, электронное издание. – 2016.
5. Барт, Н.Г. Разработка схемы исследования материала с целью выделения и ускоренной идентификации бактерий рода *Providencia* / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Актуальные вопросы аграрной науки и образования: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию Ульяновской ГСХА. – Ульяновск, 2008. – С. 22-24.
6. Сульдина, Е.В. Характеристика бактериофагов бактерий *Enterobacter spp.* для оценки возможностей их использования в составе терапевтического биопрепарата / Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, А.В. Мастиленко // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2018. - № 1 (41). - С. 109-116.
7. Феоктистова, Н.А. Изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus* / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. - № 3 (39). – С. 99-105.
8. Мухин, Е.Б. Определение бактерий группы кишечной палочки в молоке / Е.Б. Мухин, Ю.Б. Васильева, Н.Г. Барт, Н.Ю. Терентьева и др. // Студенческий научный форум – 2016: VIII Международная студенческая электронная научная конференция, электронное издание. – 2016.
9. Барт, Н.Г. Спектр литической активности бактериофагов *Providencia*, используемых для создания биопрепарата по деконтаминации пищевых про-

- дуктов. / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Актуальные проблемы биологии, биотехнологии, экологии и биобезопасности. Материалы Международной научно-практической конференции посвященной 80-летию заслуженного ученого, профессора В.А. Зайцева. – 2015. – С.69-73.
10. Барт, Н.Г. Выделение бактериофагов рода *Providencia* / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы VII Международной научно-практической конференции. – 2012. Т.1.– С.236-239.
11. Барт, Н.Г.Определение устойчивости бактериофагов бактерий рода *Providencia* к воздействию хлороформа / Н.Г. Барт, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Молодежь и наука XXI века: Материалы II Открытой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых. –2007. – С. 34-35.

STUDYING OF THE MAIN CAUSATIVE AGENTS OF MASTITIS

Bart N. G., Zolotukhin S. N., Vasilyev D. A.

Keywords: *Mastitis milk, casein, globulin, activator, cultivation, cultures.*

Among diseases of farm animals mastitis is of great importance, they reduce development of reproduction and respectively, increases in production and quality milk. The main causative agents of mastitis are: Enterobacter aerogenes, Serratia sp., Streptococcus uberis, Streptococcus agalactiae, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Streptococcus dysgalactiae, Staphylococcus aureus, Proteus sp.