

УДК 579.62

## ИЗУЧЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ МОЛОКА ПРИ МАСТИТЕ

*Ялалтдинова А.В., студентка 5 курса ФВМиБ,  
Домнин П.А., Аминов К.А., Уралов Х.Ф., студенты 1 курса, ФВМиБ  
Научные руководители: Золотухин С.Н., доктор  
биологических наук, профессор,  
Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор  
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

**Ключевые слова:** культура, окраска по Грамму, идентификация, биохимические свойства.

*В статье представлены результаты изучения микрофлоры молока КРС при мастите. Установлено, что из 16 проб молока от коров, являющихся носителями мастита, выделено 16 изолятов, из которых 5 штаммов отнесли к бактериям рода *Staphylococcus*, 3 штамма – *Streptococcus*, 4 штамма – *Proteus*, 4 штамма – *Escherichia*.*

Среди всех патологических процессов молочной железы особое место занимают маститы. Они наблюдаются у всех сельскохозяйственных животных и в любое время года [1-3, 23-25].

Маститы коров являются серьезной проблемой для молочного производства во всем мире. Данное заболевание принимает различные формы, каждая из которых имеет свои особенности на любой отдельно взятой молочной ферме. Причиной столь разнообразного проявления мастита является то, что он вызывается более 140 видами бактерий, степень патогенности и скорость распространения которых зависит от целого ряда факторов внешней среды, а также действующих в самом организме коровы [4-7].

Без ясного представления о сущности патологического процесса невозможно поставить точный диагноз, осуществить эффективную терапию и профилактику маститов у коров и других видов животных. Поэтому в каждом отдельном случае необходимо установить характер и степень проявления патологического процесса в молочной железе, для чего необходима четкая классификация [8, 14-16].

**Цель работы** – изучение некоторых биологических свойств бактерий выделенных из проб маститного молока КРС.

**Материал и методика исследований.** 16 проб молока от коров, являющихся носителями мастита. Питательный бульон ТУ 10-02-02-789-176-94 (ООО «БиоКомпас-С», РФ), питательный агар для культивирования ми-

кроорганизмов сухой (ГРМ-агар) ТУ 9398-020-78095326-2006 (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); Микро-ГРАМ-НИЦФ набор реагентов для окраски микроорганизмов по методу Грама ТУ 9398-002-39484474-2002 (ЗАО НИЦФ, РФ); среда Гисса с маннитом (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Гисса с глюкозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Гисса с арабинозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ), среда Гисса с мальтозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Гисса с сахарозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Эндо, среда Плоскирева, висмут-сульфит агар, среда Кларка (ООО «БиоКомпас-С», РФ), 0,6 % спиртовой раствор  $\alpha$ -нафтола, 40 % КОН, Phenylalanine Agar («HiMedia», Индия); 10%-ный раствор хлорида железа.

**Результаты исследований.** Из 16 проб молока от коров, являющихся носителями мастита были произведены посевы штрихом на среды: Эндо, Плоскирева, Висмут-сульфит агар, кровяной мясопептонный агар и желточно-солевой агар. Посевы культивировали в условиях термостата в течение 24-48 часов при 37°C [9,11].

Из однотипных колоний делали посев на «скошенный» агар для дальнейшего их изучения и выделения чистых культур, готовили мазки, окрашивали по Граму и микроскопировали [10, 12] (рис. 1, 2).

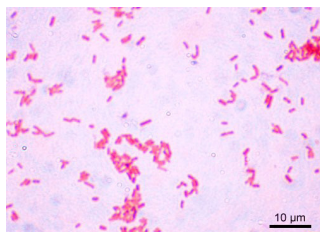
В ходе изучения тинкториальных и микробиологических исследований, мы предполагаем, что среди выделенных культур имеются бактерии рода *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Escherichia*.

Далее родовую принадлежность выделенных микроорганизмов мы устанавливали на основе определения биохимических свойств [9, 17]. Анализ специальной литературы позволил нам составить алгоритм первичной дифференциации бактерий рода *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Escherichia* [18, 21, 22].

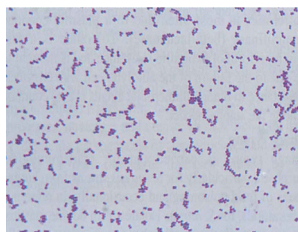
Подвижность микроорганизмов изучали при посеве культуры в полужидкий агар (0,45-0,75% агара) уколом. Определяли способность разжижать 12%-ый желатин. Для изучения продукции каталазы чашечную культуру заливали 10%  $H_2O_2$ .

Отличительной особенностью протеев от других представителей семейства *Enterobacteriaceae* – способность к окислительному дезаминированию аминокислоты фенилаланина в кетокислоты. Поэтому дифференциальным признаком, позволившим отнести выделенные нами штаммы бактерий к роду *Proteus*, была способность культур дезаминировать фенилаланин на специализированной коммерческой среде (применяли Phenylalanine Agar) [16, 18, 21].

С помощью реакции Фогес-Проскауэра устанавливали в среде ацетон, промежуточный продукт, образующийся при распаде глюкозы. Образование сероводорода, аммиака и индола определяли с помощью



**Рисунок 1 – В пробе № 3 обнаружены грамотрицательные палочки**



**Рисунок 2 – Обнаружены грамположительные кокки, располагающиеся скоплениями в виде «виноградных гроздьев», выделенные из пробы № 2**

**Таблица 1 – Биохимические свойства выделенных бактерий**

| Биохимический признак        | Номер культур |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |
|------------------------------|---------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|
|                              | 1             | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| Подвижность                  | +             | - | + | + | + | - | - | - | - | +  | +  | +  | +  | -  | -  | -  |
| Разжижение желатина          | +             | + | - | - | + | - | + | + | - | -  | +  | -  | +  | +  | -  | +  |
| Продукция каталазы           | +             | + | + | + | + | - | + | + | - | +  | +  | +  | +  | +  | -  | +  |
| Дезаминирование фенилаланина | +             | - | - | - | + | - | - | - | - | -  | +  | -  | +  | -  | -  | -  |
| Реакция Фогес-Проксауэра     | -             | + | - | - | - | - | + | + | - | -  | -  | -  | -  | +  | -  | +  |
| Образование сероводорода     | +             | + | + | + | + | - | + | + | - | +  | +  | +  | +  | +  | -  | +  |
| Образование аммиака          | +             | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  |
| Образование индола           | +             | - | + | + | + | - | - | - | - | +  | +  | +  | +  | -  | -  | -  |
| Ферментация                  |               |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |
| лактозы                      | +             | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  |
| глюкозы                      | +             | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  |
| сахарозы                     | +             | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  |
| маннита                      | +             | + | + | + | + | - | + | + | - | +  | +  | +  | +  | +  | -  | +  |
| мальтозы                     | +             | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  |
| арабинозы                    | -             | - | + | + | - | - | - | - | - | +  | -  | +  | -  | -  | -  | -  |

индикаторных бумажек, помещенных под пробку пробирок с МПБ [9].

Дополнительными тестами для дифференциации выделенных бактерий были биохимические тесты [11]. Результаты изучения биохимических свойств представлены в таблице 1.

Совокупность изученных тинкториальных, культурально-морфологических и биохимических позволила дифференцировать выделенные культуры, как бактерии рода *Staphylococcus* – 5 штаммов (пробы № 2, 7, 8, 14, 16), *Streptococcus* – 3 штамма (пробы № 6, 9, 15), *Proteus*– 4 штамма (пробы № 1, 5, 11, 13), *Escherichia*– 4 штамма (пробы № 3, 4, 10, 12).

Микробиологическое исследование проб молока от коров, являющихся носителями мастита позволило выделить 16 изолятов, из которых 5 штаммов отнесли к бактериям рода *Staphylococcus*, 3 штамма – *Streptococcus*, 4 штамма – *Proteus*, 4 штамма – *Escherichia*. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что среди возбудителей мастита чаще всего имеют значение стафилококки и протеи. Частота заболевания коров маститом связана как с состоянием общей резистентности животных, так и сопротивляемостью вымени и патогенностью возбудителя. Чаще мастит возникает при неудовлетворительных условиях гигиены содержания животных.

#### Библиографический список

1. Белова, К.В. Характеристика биологических свойств бактерий *Bacillus coagulans* / К.В. Белова, Н.А. Феоктистова // В сборнике: Материалы VIII-й Международной студенческой научной конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии». – Ульяновск: УГСХА, 2015. – Т.2. – С.197-202.
2. Васильев, Д.А. Выделение и изучение биологических свойств протейных бактериофагов, разработка метода фагоиндикации / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин // Проблемы профилактики и борьбы с особо опасными, экзотическими и малоизученными инфекционными болезнями животных: материалы международной научно-практической конференции. – Покров, 2008. - С. 253-256.
3. Васильев, Д.А. Биосенсорная детекция бактерий рода *Bacillus* в молоке и молочных продуктах для предупреждения их порчи / Д.А.Васильев, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, А.В. Алешкин / Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - № 4 (24). - С. 36-43.
4. Васильев, Д.А. Экспресс-метод определения качества молока и молочных продуктов с помощью бактериофагов рода *Bacillus* / Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Феоктистова Н.А. / Зоотехния. - 2014. - № 10. - С. 20-21.
5. Васильев, Д.А.Выделение и изучение биологических свойств бактерий рода *Proteus* / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин / Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2017. - № 2. - С. 70-75.

6. Золотухин, С.Н. Бактериофаги малоизученных энтеробактерий и перспективы их применения в ветеринарии / С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, А.С. Мелехин, Е.А. Бульканова, Н.А. Феоктистова, Е.Н. Пожарникова / Ветеринарная патология. - 2006. - № 3. - С. 79-84.
7. Золотухин, С.Н. Новый метод определения качества молока и молочных продуктов, загрязненных бактериями рода *Bacillus* / С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова / В сборнике: Фундаментальные и прикладные проблемы повышения продуктивности животных и конкурентоспособности продукции животноводства в современных экономических условиях АПК РФ Материалы Международной научно-практической конференции. 2015. - С. 288-290.
8. Золотухин, С.Н. Бактериофаги рода *Proteus* и их практическое применение в лабораторной практике / С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина, Д.А. Васильев, И.Г. Швиденко, А.В. Алешкин / В книге: Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием 2015. - С. 132.
9. Калдыркаев, А.И. Биохимические свойства бактерий *Bacillus cereus* / А.И. Калдыркаев, А.В. Алешкин, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев / В сборнике: Биотехнология: реальность и перспективы в сельском хозяйстве Материалы Международной научно-практической конференции. 2013. - С. 186-188.
10. Климушкин, Е.И. Биоиндикация содержания бактерий *Bacillus coagulans* в пищевых продуктах / Е.И. Климушкин, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев / В сборнике: Экология родного края: проблемы и пути их решения Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2014. С. 377-379.
11. Лабинская, А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологического исследования / А.С. Лабинская, Л.П. Ещина. - М.: Медицина, 2004. - с. 34-37.
12. Петрукова, Н.А. Биоиндикация содержания бактерий *Bacillus megaterium* в молоке и молочных продуктах / Петрукова Н.А., Феоктистова Н.А., Васильев Д.А., Лыдина М.А. / В сборнике: Экология родного края: проблемы и пути их решения Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2014. С. 375-377.
13. Феоктистова, Н.А. Биологические особенности бактерий рода *Proteus* и их роль в патологии животных // Региональные проблемы народного хозяйства: Матер. Всерос. науч.- практ. конф. молодых ученых, 8-9 апреля 2004 г. – Ульяновск, 2004. – Ч. 1 – С.329-336.
14. Феоктистова, Н.А. Методы лабораторной диагностики заболеваний, вызываемых бактериями рода *Proteus*, или протекающих с их участием / Н.А.

- Феокистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин / Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2004. - № 12. - С. 46-50.
15. Феокистова, Н.А. Выделение фагов бактерий рода *Proteus* из объектов внешней среды / Н.А. Феокистова, А.С. Мелехин, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев / В сборнике: Современное развитие АПК: региональный опыт, проблемы, перспективы Материалы Всероссийской научно-практической конференции. 2005. - С. 173-175.
16. Феокистова, Н.А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*, конструирование на их основе биопрепарата и разработка параметров практического применения/ Н.А. Феокистова / автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова. Саратов, 2006. – С.4-5.
17. Феокистова, Н.А. Выявление бацилл, вызывающих порчу продуктов питания (БВППП) бактериологическими методами / Н.А. Феокистова, Д.А. Васильев, Т.Г. Юдина, С.Н. Золотухин / В сборнике: Актуальные вопросы ветеринарной науки Материалы Международной научно-практической конференции. 2015. - С. 103-110.
18. Феокистова, Н.А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*, конструирование на их основе биопрепарата и разработка параметров практического применения/ Н.А. Феокистова / диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Ульяновск, 2006. – С. 24-25.
19. Феокистова, Н.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов бактерии рода *Proteus*/ Феокистова Н.А. / В книге: Бактериофаги микроорганизмов значимых для животных, растений и человека. - Ульяновск, 2013. - С. 171-185.
20. Феокистова, Н.А. Выделение бактерий *Bacillus cereus* из молочных продуктов / Н.А. Феокистова, К.Г. Трифонова, Э.Т. Гафурова, А.Н. Антонова, Д.А. Васильев / В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения:материалы VIII Международной научно-практической конференции. 2017. - С. 271-276.
21. Феокистова, Н.А. Биологические особенности бактерий рода *Proteus* и их роль в патологии животных / Н.А. Феокистова / В сборнике: Региональные проблемы народного хозяйства Материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых. 2004. - С. 329-336.
22. Феокистова, Н.А. Изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*/ Феокистова Н.А., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. / Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2017. - № 3 (39). - С. 99.

23. Ширманова, К.О. Схема детекции маститогенной микрофлоры / К.О. Ширманова, Е.Б. Мухин, Ю.Б. Васильева, Н.Г. Барт, Н.А. Феоктистова / В сборнике: Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны. Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. 2016. - С. 234-235.
24. Ширманова, К.О. Ветеринарно-санитарная экспертиза молока некоторых ульяновских производителей / К.О. Ширманова, В.В. Иванова, Н.А. Феоктистова / В сборнике: СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ - 2017 IX Международная студенческая электронная научная конференция. 2017.
25. Ялалтдинова, А.В. Изучение некоторых биологических свойств бактерий рода *Proteus*, выделенных из маститного молока КРС / А.В. Ялалтдинова, К.В. Мартынова, Н.А. Феоктистова / В сборнике: Фундаментальные научные исследования: теоретические и практические аспекты Сборник материалов V Международной научно-практической конференции. 2017. - С. 127-129.

## A STUDY OF THE MICROFLORA OF MILK AT MASTITIS

***Jalaltdinova A.V., Domnin P. A., Aminov K.A., Uralov H. F.***

**Key words:** *culture, Gram coloring, identification, biochemical properties.*

*The article presents the results of studying the microflora of cattle milk with mastitis. It was found that 16 milk samples from cows carrying mastitis were isolated 16 isolates, of which 5 strains were attributed to bacteria of the genus *Staphylococcus*, 3 strains - *Streptococcus*, 4 strains - *Proteus*, 4 strains – *Escherichia*.*