

УДК 619.637.07

РАЗРАБОТКА СХЕМЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МАСТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Молофеева Н.И., кандидат биологических наук, доцент,
тел.: 88422559547, nadezhda.molofeeva.67@mail.ru

Мерчина С.В., кандидат биологических наук, доцент,
тел.: 88422559547, sv2309@yandex.ru

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

***Ключевые слова:** молоко, мастит, контаминация, бактерии, биохимические свойства, бактериофаги, идентификация.*

Работа посвящена выделению и изучению биологических свойств бактерий, выделенных из маститного молока, бактериологическим методом и их идентификация с использованием бактериофагов.

Введение. Молоко является одним из важнейших продуктов питания в рационе человека. Его состав и качество могут быть нарушены маститом крупного рогатого скота, который в настоящее время является наиболее серьезным заболеванием, поражающим молочных коров из-за его экономического и продуктивного воздействия. Субклинический мастит крупного рогатого скота (СБМ) особенно проблематичен из-за отсутствия очевидных видимых симптомов, что затрудняет текущую диагностику и приводит к недооценке его воздействия [1].

Традиционные диагностические методы культивирования возбудителей мастита имеют некоторые недостатки, в основном связанные с их длительным характером: предварительная идентификация микроорганизма может занять до 48 часов, учитывая транспортировку в лабораторию и последующее подтверждение вида.

Мастит крупного рогатого скота (БМ) определяется как воспаление молочных желез у коров и в настоящее время считается наиболее дорогостоящим и распространенным заболеванием в молочном скотоводстве из-за его влияния на благополучие животных и

здоровье населения, а также связанных с ним экономических и производственных потерь [2,3].

Цель исследования заключалась в разработке схемы индикации и идентификации возбудителей мастита крупного рогатого скота

Материалы и методы. Исследования проводились на кафедре микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ. Материалом для исследования послужили пробы молока, полученные от крупного рогатого скота.

В процессе выделения и изучения свойств микроорганизмов исследовали стандартные методики [4].

Результаты исследований и их обсуждение. Полученные образцы молока для культивирования были посеяны на МПА, Эндо, висмут сульфитный агар и солевой агар.

Был обнаружен рост различных по морфологии колоний. Нами были отобраны колонии для получения чистых культур. В результате по морфологии, культуральным и биохимическим свойствам были типированы бактерии разных видов, как грамположительные так и грамотрицательные.

Выделенные микроорганизмы при микроскопировании шаровидные, диаметром 0,5–1,5 мкм, встречаются одиночно, в парах, в тетрадах с образованием неправильной виноградной лозы кластеры, грамположительные, морфология клеток характерна для стафилококков.

Из выделенных культур стафилококков был дифференцирован *Staphylococcus aureus* по следующим признакам: они дают характерный рост на желатине: по истечении 24 часов наблюдали начальное разжижение желатины, на 4-5 дни образовывалась направленная вниз воронка, наполненная жидкостью. Выделенные из образцов стафилококки проверяли на коагулазу с использованием цитратной кроличьей плазмы. Для дифференцировки использовали коагулазный тест, на наличие свертывающего фактора, а также определяли способность ферментировать маннит и способность синтезировать термостабильную ДНК-азу.

Из образцов молока были выделены микроорганизмы, по изученным свойствам характерные для *E.coli*, которая на среде Эндо образует круглые, плоские, гладкие, блестящие колонии с

металлическим блеском с неровными краями, диаметром до 2 мм. На кровяном агаре данный микроорганизм не дает гемолиз. На мясо-пептонном агаре образует колонии сероватого цвета, диаметром до 2 мм, влажные. При микроскопировании обнаружили грамтрицательные палочки, расположенные одиночно и небольшими скоплениями. *E.coli* была выделена из 5 образцов, по свойствам все штаммы обладали одинаковыми свойствами.

По результатам исследования были выделены псевдомонады, характерной особенностью которых является образование слизи, что придает вязкость бульонным культурам, на поверхности которых образует серовато-серебристую пленку. Для псевдомонад оксидазный тест один из ведущих для дифференциации этой палочки, каталазоположительные.

Микроорганизмы были выделены в 3 образцах молока, а именно *Escherichia coli* в пробах молока №1, 4; *Pseudomonas aeruginosa* в пробе молока №2, *Staphylococcus aureus* в пробе молока №1.

Выделенные микроорганизмы обладали характерными свойствами для данных микроорганизмов.

Для идентификации искомым бактерии был применён метод Отто, также известный как метод «стекающая капля» с использованием имеющихся специфических бактериофагов в музее кафедры.

С помощью пастеровских пипеток на поверхность чашек Петри с питательной средой (мясо-пептонный агар) было нанесено по 3–4 капли 18-часовой бульонной культуры исследуемых микроорганизмов, равномерно распределили по поверхности среды с помощью стерильного шпателя. После этого на поверхность засеянной среды лёгким прикосновением пастеровских пипеток была нанесена капля фага. Чашки были наклонены, чтобы капля фага стекла [5].

Результат исследований считали положительным, так как на месте нанесения штамма фага на газоне сплошного роста культуры образовывалась прозрачная зона лизиса с вторичным ростом фагорезистентных микроорганизмов.

Отрицательным считали результат при отсутствии лизиса на газоне роста исследуемой культуры микроорганизмов и отсутствии лизиса в контроле [6].

Заключение. В результате исследований проб маститного молока были выделены микроорганизмы в 3 образцах молока, а именно *Escherichia coli* в пробах молока №1, 3; *Pseudomonas aeruginosa* в пробе молока №2; *Staphylococcus aureus* в пробе молока №1. Для ускоренной идентификации выделенных бактерий использовали специфические бактериофаги.

В последствии мы можем их рекомендовать лабораториям для индикации и идентификации бактерий, а животноводческим хозяйствам предложить биопрепарат из фагов для оздоровления хозяйства совместно с дезинфицирующими средствами.

Библиографический список:

1. Молофеева Н.И. Разработка схемы индикации бактерий *Aeromonas salmonicida* с использованием бактериофагов /Н.И.Молофеева, А.И. Калдыркаев, А.Г.Шестаков// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2020. - № 4 (52). - С. 184-190.

2. Молофеева Н.И. Проблема диагностики *escherihia coli* 0157:H7 /Н.И. Молофеева //В книге: Технологические и экологические основы земледелия и животноводства в условиях лесостепи Поволжья. Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции "Молодые ученые -агропромышленному комплексу". редколлегия: Б.И. Зотов, В.И. Морозов, А.Х. Куликова и др., 2001. - С. 79-80.

3. Золотухин, С.Н. Методические рекомендации по ускоренной индикации и идентификации энтерогемморагической кишечной палочки *E. coli* O 157:H7 И O 157:H-в патологическом материале, кормах, пищевом сырье и объектах внешней среды с применением специфических бактериофагов / С.Н.Золотухин, Н.И.Молофеева, Д.А.Васильев и др.// Научное издание. Москва. - 2005.

4. Мерчина С.В. Обоснование необходимости в разработке технологических параметров, исключающих контаминацию пищевых продуктов *Bacillus cereus* / С.В. Мерчина //автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Саратов, 2003.

5. Молофеева Н.И. Ветеринарно-санитарный контроль продуктов питания на наличие энтеропатогенных бактерий *Escherichia coli* серотипа O157 /Н.И.Молофеева, С.Н. Золотухин, Д.А.Васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. 2012. - Т. 1. - С. 299-303.

6. Феоктистова Н.А., Диагностическая эффективность новых препаратов для ускоренной идентификации *Bacillus cereus* методом фаготипирования/Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, М.А Лыдина др, // В книге: Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. 2015. С. 344.

DEVELOPMENT OF A SCHEME FOR ISOLATION AND IDENTIFICATION OF CATTLE MASTITIS AGENTS

Molofeeva N.I., Merchina S.V.

Keywords: *milk, mastitis, contamination, bacteria, biochemical properties, bacteriophages, identification.*

The work is devoted to the isolation and study of the biological properties of bacteria isolated from mastitis milk by the bacteriological method and their identification using bacteriophages.