

Y., Kuzmin V., Belkina I.//Reproduction in Domestic Animals.- 2019. -Т. 54. - № S3.- P. 98.  
13. Smirnova, L.I. Bacteriological monitoring of the pathogens of mastitis in dairy complex of the North-West region of the Russian Federation/Smirnova L.I., Makavchik S.A., Sukhinin A.A., Prikhodko E.I., Zabrovskaya A.V.// Research Journal of Pharmaceutical, Biological and

Chemical Sciences.- 2019.- Т. 10.- № 1.-P. 2013-2020.  
14. Nocera, FP. Occurrence and Antimicrobial Susceptibility Profiles of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* Strains Isolated from Mares with Fertility Problems. / Nocera FP, D'Eletto E, Ambrosio M, Fiorito F, Pagnini U, De Martino L. // Antibiotics (Basel).- 2021 - Dec 27-11(1)-p25. doi: 10.3390/antibiotics11010025.

УДК 619:636.2

DOI: 10.52419/issn2782-6252.2022.4.63

## МИКРОФЛОРА МОЛОКА ПРИ МАСТИТЕ У КОРОВ

Ладанова Мария Александровна, канд.ветеринар.наук, доц., [orcid.org/0000-0002-2195-6752](https://orcid.org/0000-0002-2195-6752)  
Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

### РЕФЕРАТ

В результате возникновения мастита у коров животноводческие хозяйства несут значительные экономические потери как от снижения количественных, так и качественных показателей молока. Профилактические и терапевтические мероприятия, направленные на снижение распространения мастита у коров это одни из основных задач, требующих решения ветеринарными врачами. Для достижения поставленных целей необходимо понимать причину возникновения мастита, особенно при бактериальном факторе. Для определения патогенной микрофлоры, которая вызывает воспаление молочной железы у коров, проводили бактериологическое исследование 10 проб молока от коров с воспалением молочной железы в одном из животноводческих хозяйств Северо-Западного региона. Для бактериологического исследования молока проводился отбор каждой пробы в стерильный одноразовый пластиковый контейнер, предварительно сдаивались первые струйки молока. В результате проведенных исследований наблюдается мастит у коров, вызванный разными микроорганизмами, из этого следует что не только хозяйство имеет свой микробный пейзаж, но и в каждом случае вызывают мастит разные микроорганизмы. Из материала выделены культуры условно-патогенной микрофлоры – энтеробактерии, кокковая микрофлора. Культуры сальмонелл, синегнойной палочки, золотистого стафилококка и другой патогенной микрофлоры не выделены ни в одной пробе. Выявлена высокая резистентность стафилококков к антибактериальным препаратам разных групп. Исходя из полученных данных стоит отметить необходимость проведения бактериологического исследования в каждом случае возникновения мастита перед началом лечения, особенно при проведении антибактериальной терапии. Необходимо учитывать развивающуюся резистентность у патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Также важно отметить актуальность создания препарата специфической профилактики маститов коров бактериальной этиологии.

**Ключевые слова:** мастит, микрофлора, бактериологическое исследование, стафилококки, стрептококки.

### ВВЕДЕНИЕ

В современном животноводстве проблема воспаления молочной железы у коров является актуальной проблемой на сегодняшний день. Стоит отметить, что во всем мире в странах с развитым животноводством действуют национальные программы, направленные на сокращение патологий молочной железы. Планирование диагностических, профилактических и лечебных мероприятий с заболеваниями молочной железы воспалительного характера у коров является основной задачей для ветеринарной службы. Отмечается ведущая роль в этиологии воспаления молочной железы микробного фактора, при этом наиболее чаще встречаются стрептококки и стафилококки [1, 3, 6].

Мастит – это воспаление молочных желез в результате инвазии каким-либо патогеном, аллергии или физической травмы [9].

Точная диагностика заболевания является важным шагом между причинами и лечением болезни. Экономичный и надежный инструмент быстрой диагностики имеет основополагающее значение для контроля над состоянием и здоровьем вымени у коров. Чем раньше заболевание диагностируется, тем меньше будет экономиче-

ский ущерб [8].

Чаще встречается субклиническая форма мастита у коров, основной причиной которой является бактериальный фактор, при этом отмечается снижение качества и количества молока [7].

Из молока здоровых коров чаще выделяют следующие культуры: *S.epidermidis*, *S.auricularis*, *S.hominis*, *S.haemolyticus* (28,8% случаев); *Streptococcus* (19,2%); а также ассоциации *E.coli* и *S.epidermidis* в 5,8% и *E.coli* – в 3,9% случаев. Проводимое бактериологическое исследование проб маститного молока показало наличие патогенных микроорганизмов в 100% случаев [6].

В каждом отдельном бактериологическом исследовании выделенная культура может отличаться, в том числе доминирующая, что связано с эпизоотической ситуацией конкретного хозяйства. Проводя бактериологическое исследование молока, чаще выделяют смешанные инфекции и ассоциативное влияние разных видов патогенов на организм [5].

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С целью определения патогенной микрофлоры, вызывающей мастит у крупного рогатого скота, был проведен бактериологический посев

маститного молока от 10 коров. Важным условием отбора проб для бактериологического исследования является использование стерильных одноразовых пластиковых контейнеров.

Посевы первичных проб маститного молока делали на простые питательные среды – МПБ, с последующим инкубированием в термостате при  $t +37,5^{\circ}\text{C}$  в течение суток. Через сутки проводили пересев на МПА в пробирках или на чашках Петри; на чашки Петри с элективными и дифференциально-диагностическими питательными средами. С целью определения наличия гемолиза делали посевы на колумбийский кровяной агар с бараньей кровью.

В последующем пробирки и чашки с посевами инкубировали в термостате при температуре  $t +37,5^{\circ}\text{C}$  на протяжении 18-24 часов, стафилококковый агар – на протяжении 24-48 часов, с дальнейшим проведением учёта всех выросших колоний. Были изучены морфологические, культуральные, тинкториальные, биохимические свойства у всех выросших колоний. После окрашивания мазков по Грамму изучали морфологические свойства колоний. Межродовая и видовая дифференциация и идентификация энтеробактерий проводилась, изучая ферментативные и биохимические свойства культур микроорганизмов. После изучения культур, выросших на дифференциально-диагностических средах, проводили пересев отдельных колоний на комбинированные среды – трёхсахарный агар Олькеницкого, среду Клингера, среду Ресселя, что необходимо при определении ферментации сахаров, образования сероводорода и наличия уреазы. Изучение ферментации сахаров возможно путём посева культур на короткий цветной ряд с поплавками или среды Гисса. С помощью среды Симмонса обнаружили ассимиляцию цитрата. Используя тест-систему для биохимической идентификации энтеробактерий определяются их ферментативные свойства, а родовая и видовая принадлежность проводится по показателям отображенных в наборах таблиц. С помощью тестов, определяющих присутствие каталазы с перекисью водорода  $\text{H}_2\text{O}_2$ , плазмокоагулазы с плазмой кролика проводилась идентификация кокков.

Чувствительность выделенной культуры микроорганизмов к антибактериальным препаратам определялась диско-диффузионным методом, который основан на диффузии антибактериального препарата в питательную среду [4,5]. С этой целью необходимо использовать диски с антибактериальными препаратами с известной его концентрацией и плотную среду Мюллера-Хинтона в чашках Петри. Инокулят готовили из чистой культуры микроорганизма, которую предварительно вырастили на МПА, после чистые колонии суспендировали в физрастворе для установления концентрации по стандарту мутности 0,5 по Мак-Фарланду, что соответствует  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл. Нанесение инокулята проводили на поверхность чашки Петри используя стерильный ватный зонд-тампон, а следующий этап требовалось разложить диски с антибиотиками. Необходимо провести инкубирование в термостате в течение 18–20 ч при  $t 37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

Учет чувствительности к антибактериальным препаратам проводился измерением диаметра зоны задержки роста культуры, для этого необходимо использовать прозрачную линейку со скошенным краем. Определяется размер диаметра на темном фоне под отраженным светом. Оценка результатов проводится в соответствии с данными таблиц, которые прилагаются к наборам с дисками. Интерпретация размера зоны задержки роста зависела от вида микроорганизма и наименования антибактериального препарата.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Из проб молока выделены 5 культур кишечной палочки *Escherichia coli* (пробы №№ 5-9), 1 культура клебсиеллы *Klebsiella spp.* (рисунок 1); 5 культур энтерококков (пробы №№ 5, 6, 8-10); 2 культуры белого стафилококка *Staphylococcus epidermidis* (пробы №№ 5, 8); 3 культуры негемолитического стафилококка *Staphylococcus spp.* (рис. 3) (пробы №№ 4, 6-7); 3 культуры гемолитического стафилококка *Staphylococcus spp.* (пробы №№ 2, 8-9); 1 культура гемолитического стрептококка *Streptococcus spp.*

Из энтерококков были выделены *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*. Их дифференциацию проводили по биохимическим свойствам: *E. faecium* сбраживает арабинозу и сорбит, а *E. faecalis* – только арабинозу. Антибактериальная чувствительность у данных культур не определяли на данном этапе исследований.

С целью подбора эффективной терапии мы изучили методом дисков чувствительность доминирующих культур: к антимикробным препаратам разных групп: пенициллины (амоксциллин, ампициллин, оксациллин), цефалоспорины (цефоперазон, цефтазидим), макролидам (азитромицин, тилмиколин, тилозин), тетрациклины (доксицилин, тетрациклин), аминогликозиды (гентамицин, неомицин, стрептомицин), амфениколы (левомецетин, флорфеникол), линкозамиды (линкомицин), фторхинолоны (левофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин, цiproфлоксацин, энрофлоксацин), полипептиды (бацитрацин 0,04 и 10 ЕД, колистин), плевомутилины (тиамулин), ансамицины (рифампицин), оксихинолины (нитроксилин), сульфаниламиды (триметроприм).

В результате исследований установлено, что культуры кишечной палочки и клебсиеллы чувствительны к левофлоксацину, цiproфлоксацину, энрофлоксацину, норфлоксацину, офлоксацину, ампициллину, гентамицину, тетрациклину, флорфениколу, доксицилину, левомецетину, неомицину, азитромицину, стрептомицину, цефоперазону, цефтазидиму, триметропирму; резистентны к амоксициллину, тилозину, колистину, рифампицину, тиамулину, тилмиколину, линкомицину, оксациллину, нитроксилину, бацитрацину.

Культуры стафилококков были чувствительны к цефоперазону, флорфениколу, амоксициллину, рифампицину, тиамулину, левофлоксацину, гентамицину, стрептомицину; резистентны к большинству фторхинолонов (энрофлоксацину, цiproфлоксацину, офлоксацину, норфлоксацину), левомецетину, неомицину, колистину, ампи-

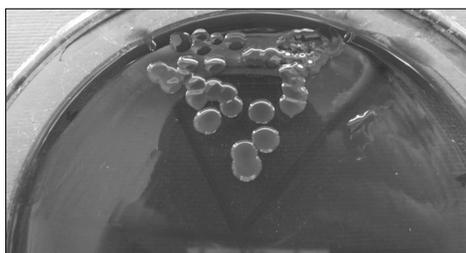


Рисунок 1. Рост культуры *Klebsiella spp.* в пробе молока на среде Эндо



Рисунок 2. Рост культур *Escherichia coli* с выраженным металлическим блеском на среде Эндо

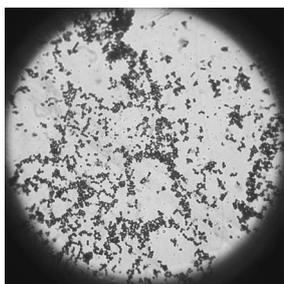


Рисунок 3. Культура *Staphylococcus spp.* под микроскопом.

циллину, триметроприму, доксицилину, оксациллину, линкомицину, тетрацилину, тилозину, тилмикозину, нитроксолину, азитромицину, бацитрацину, цефтазидиму.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований наблюдается мастит у коров, вызванный разными микроорганизмами, из этого следует, что не только хозяйство имеет свой микробный пейзаж, но и в каждом случае вызывают мастит разные микроорганизмы. Из материала выделены культуры условно-патогенной микрофлоры – энтеробактерии, кокковая микрофлора. Культуры сальмонелл, синегнойной палочки, золотистого стафилококка и другой патогенной микрофлоры не выделены ни в одной пробе. Выявлена высокая резистентность стафилококков к антибактериальным препаратам разных групп. Исходя из полученных данных стоит отметить необходимость и важность проведения бактериологического исследования перед каждым назначением антибактериальных препаратов при лечении мастита у коров. Необходимо учитывать развивающуюся резистентность у патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Также важно отметить актуальность создания препарата специфической профилактики маститов у коров бакте-

риальной этиологии.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Багманов М.А. Никульшина Ю.Б. Этиологические факторы мастита у коров / М.А. Багманов, Ю.Б. Никульшина // Вестник РАСХН. - 2003. - № 2. - С. 75–76.
2. Бала С.С. Биологические свойства микрофлоры, выделенной из молока коров с клинической и субклинической формами мастита // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - 2010 - С.287-289.
3. Васильев В.Г. Шприц для лечения коров с маститом / В.Г. Васильев, Т.Н. Васильева, В.В. Васильев // Ветеринария. - 2005. - № 4. - С. 34–36.
4. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.
5. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: Клинические рекомендации: Утверждены на расширенном совещании Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (Москва, 15.05.2017 г.) и экспертном совещании профильной комиссии по специальности «Клиническая микробиология и антимикробная резистентность» (г. Сочи, 18.10.2017 г.)
6. Татарчук О.П. Новые подходы к лечению коров при мастите // Ветеринария. - 2004. - № 11. - С. 8–9.
7. Shook, G. Genetic improvement in mastitis resistance thorough selection against somatic cell count / G. Shook // Kielermilchw. Forsch. Ber. – 2006. - №4.
8. Mahmmod, Y., 2013. The future of PCR technologies in diagnosis of bovine mastitis pathogens, Advances in Dairy Research, 2, e106
9. Zhao, C.H., Wang, Y.L., He, G.M. and Zhang, Z.X., 2008. Polymorphism analysis of the promoter of cow lactoferrin gene with PCR-RFLP and its correlation with subclinical mastitis, Acta Agriculturae Slovenica [online], 2, 185–187

### MILK MICROFLORA FOR MASTITIS IN COWS

Maria A. Ladanova, PhD of Veterinary Sciences, Docent, [orcid.org/0000-0002-2195-6752](https://orcid.org/0000-0002-2195-6752)  
St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Russia

Mastitis in cows is currently a pathology that causes great economic damage to livestock farms around the world. The quantitative and qualitative indicators of milk are decreasing. Prevention and treatment of breast inflammation in cows is one of the main tasks of veterinarians. For successful treatment, it is necessary to understand the etiology, especially in infectious mastitis. In order to determine the pathogenic microflora that causes mastitis in cattle, we conducted a bacteriological study of 10 milk samples from cows with breast inflammation in one of the livestock farms of the North-Western region. For the bacteriological study of milk, each sample was taken into a sterile disposable plastic container, the first trickles of milk were pre-deposited. As a result of the conducted studies, mastitis in cows caused by different microorganisms is observed, it follows that not only the farm has its own microbial landscape, but in each case different microorganisms cause mastitis. Cultures of conditionally pathogenic microflora - enterobacteria, coccoid microflora – were isolated from the material. Cultures of *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and other pathogenic micro-

flora were not isolated in any sample. High resistance of staphylococci to antibacterial drugs of different groups was revealed. Based on the data obtained, it is worth noting the need for a bacteriological study before each appointment of mastitis treatment in cattle, especially during antibacterial therapy. It is necessary to take into account the developing resistance in pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms. It is also important to note the relevance of creating a drug for the specific prevention of mastitis of cows of bacterial etiology.

**Key words:** mastitis, microflora, bacteriological research, staphylococci, streptococci.

#### REFERENCES

1. Bagmanov M.A. Nikulshina Yu.B. Etiological factors of mastitis in cows / M.A. Bagmanov, Yu.B. Nikulshina // Bulletin of the Russian Academy of Agricultural Sciences. - 2003. - No. 2. - S. 75–76.
2. Bala S.S. Biological properties of the microflora isolated from the milk of cows with clinical and subclinical forms of mastitis // Proceedings of the Orenburg State Agrarian University. - 2010 - S.287-289.
3. Vasiliev V.G. Syringe for the treatment of cows with mastitis / V.G. Vasiliev, T.N. Vasilyeva, V.V. Vasiliev // Veterinary. - 2005. - No. 4. - S. 34–36.
4. MUK 4.2.1890-04. Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. - M.: Federal Cen-

- ter for State Sanitary and Epidemiological Surveillance of the Ministry of Health of Russia, 2004. - 91 p.
5. Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs: Clinical recommendations: Approved at an expanded meeting of the Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy (Moscow, May 15, 2017) and an expert meeting of the profile commission in the specialty "Clinical microbiology and antimicrobial resistance" (Sochi, 10/18/2017)
6. Tatarchuk O.P. New approaches to the treatment of cows with mastitis // Veterinary. - 2004. - No. 11. - S. 8–9.
7. Shook, G. Genetic improvement in mastitis resistance thorough selection against somatic cell count / G. Shook // Kielemilchw. Forsch. Ber. – 2006. - №4.

УДК: 582.282.232

DOI: 10.52419/issn2782-6252.2022.4.66

## САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ И ОСОБЕННОСТИ ИДЕНТИФИКАЦИИ *GEOTRICHUM CANDIDUM*

Смирнова Любовь Ивановна, канд. ветеринар. наук, доц.,  
Крайнова Александра Александровна, студент

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

### РЕФЕРАТ

В представленной работе изучили санитарно-микробиологическое, ветеринарное и медицинское значение мицелиального гриба *Geotrichum candidum*. Определили его морфологические, культуральные и тинкториальные свойства, оптимизировали методику идентификации плесневых грибов в скотч-препарате. Получили и изучили чистую культуру геотрихума при исследовании кисломолочного продукта мацони. Определили количество гифов плесневого гриба по Ховарду, провели оценку качества и степени порчи пищевого продукта жидкой консистенции.

**Ключевые слова:** *Geotrichum candidum*, плесневые грибы, молочные продукты, мацони.

### ВВЕДЕНИЕ

Молочная плесень (*Geotrichum candidum*) – это мицелиальный плесневый гриб, филогенетически близкий к дрожжеподобным грибам. Его относят к гифомицетам (дейтеромицетам или несовершенным грибам (*fungi imperfecti*)). Под микроскопом геотрихум имеет сходство и с мицелиальными, и с типичными дрожжеподобными грибами. Гифы геотрихума септированные, сильно ветвящиеся, при дальнейшем развитии они почти полностью распадаются на конидии (артроспоры) в форме параллелепипеда[2]. Под микроскопом артроспоры выглядят прямоугольными «кирпичиками» с плоскими или (в старых культурах) закруглёнными концами размером 6–12µm x 3–6µm, хорошо окрашивающимися по Граму в тёмно-фиолетовый цвет (положительно). У *Geotrichum candidum* есть редкий телеоморф, *Galactomyces geotrichum*, образующий голые аски с одной аскоспорой в каждом[3]. Этот плесневый гриб вызывает порчу кисломолочных продуктов: сметаны, простокваши, сливок, масла, йогуртов, мацони. Часто он поражает также различные рассолы, квашеные пищевые продукты, например, квашеную капусту, солёные огурцы и

грибы. *G. candidum* образует на поверхности пищевого продукта сухую, белую, складчатую, матовую плёнку, налеты, которые можно заметить невооруженным глазом. В дальнейшем пищевой продукт, пораженный молочной плесенью, подвергается ферментации, размягчению, теряет структуру и потребительскую ценность.

В пищевом производстве геотрихум считается санитарно-показательным микроорганизмом – он выступает в качестве хорошего индикатора неудовлетворительного санитарно-гигиенического состояния пищевых предприятий, так как им часто бывают контаминированы производственные линии. Геотрихум обнаружен не только в пищевых продуктах, но и в других местах обитания: почва, воздух, вода, естественная микрофлора кишечника млекопитающих, включая человека, и растительные ткани[3].

*G. candidum* может вызывать не только порчу пищевого продукта, но и, в редких случаях, болезнь людей и животных – геотрихоз. В организме и на коже здорового человека или животного *G. candidum* спокойно существует и не вызывает никаких проблем со здоровьем. Нормальный микробиоценоз кожи, слизистых оболочек чело-