

НАНОТЕХНОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ

УДК 619:618.19-002-085:636.22/.28; 619:614.31:637.12

ВОЗБУДИТЕЛИ МАСТИТА У КОРОВ НА КРУПНЫХ МОЛОЧНЫХ КОМПЛЕКСАХ И ИХ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Глотова Т.И., Котенева С.В., Нефедченко А.В., Глотов А.Г.

ФГБУН «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН (СФНЦА РАН)», Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, пос. Краснообск, Новосибирская область, Российская Федерация

*Представлены данные о составе микрофлоры, выделенной из молока коров с клиническими признаками мастита на крупных молочных комплексах Сибири и определении ее резистентности к 17 антибактериальным препаратам 9 фармакологических групп. Выделенная микрофлора была представлена в основном бактериями родов *Staphylococcus* – 32 %, *Clostridium* – 24 %, *Streptococcus* – 22 %, *Salmonella* – 7 %. Бактерии других родов (*Escherichia*, *Proteus*, *Corinebacterium*) и грибы встречались редко. Количество выделенных штаммов бактерий, патогенных для беспородных белых мышей, составило: *Escherichia coli* – 100 %, *Staphylococcus aureus* – 92,4 %, *Streptococcus agalactiae* – 96,3 %, *Salmonella dublin* – 60 %, *Proteus vulgaris* – 88,6 %. Токсигенные штаммы бактерий рода *Clostridium* выделяли в 91,7 % случаев. Бактерии рода *Staphylococcus* наиболее резистентны к полимиксину (99,5%), цефалониуму (98,9 %), цефтониту (97,8 %), линкомицину (97,3 %), цефапирину (92,9 %) и ампициллину (92,3 %), а менее – к амоксициллину с клавулановой кислотой (24,0%). Бактерии рода *Streptococcus* наиболее резистентны к цефалониуму и полимиксину (99,2 %), менее – к амоксициллину с клавулановой кислотой (22,6%). Представители рода *Clostridium* устойчивы к линкомицину и полимиксину, рода *Salmonella* – к энрофлоксацину, цефтониту и цефалониуму, *Proteus vulgaris* – к ампициллину, линкомицину, рифампицину, цефапирину, цефалониуму и полимиксину, *Escherichia coli* – к максимальному количеству исследованных антибактериальных препаратов. Результаты показали, что наряду с классической микрофлорой, описанной в литературе, показана высокая частота выделения представителей рода *Clostridium* и *Salmonella*. Представленные данные подчеркивают важную роль своевременной диагностики и лечения маститов. **Ключевые слова:** крупный рогатый скот, молочные комплексы, бактерии, частота выделения, антибактериальные препараты, резистентность.*

MASTITIS AGENTS IN COWS AT BIG DAIRY FARMS AND THEIR RESISTANCE TO ANTIBACTERIAL DRUGS

Glotova T.I., Koteneva S.V., Nefedchenko A.V., Glotov A.G.

Siberian Federal Research Center for Agro-BioTechnologies Russian Academy of Science, Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russian Federation

*The data on the composition of microflora isolated from milk of cows with clinical signs of mastitis on large dairy farms in Siberia and the determination of its resistance to 17 antibacterial drugs of 9 pharmacological groups are presented. The isolated microflora was represented mainly by bacteria of the genera Staphylococcus – 32 %, Clostridium – 24 %, Streptococcus – 22 %, Salmonella – 7 %. Bacteria of other genera (Escherichia, Proteus, Corinebacterium) and fungi were rare. The number of isolated strains of bacteria pathogenic for outbred white mice was: Escherichia coli – 100 %, Staphylococcus aureus – 92,4 %, Streptococcus agalactiae – 96,3 %, Salmonella dublin – 60 %, Proteus vulgaris – 88,6 %. Toxigenic strains of bacteria of the genus Clostridium were isolated in 91,7 % of cases. Bacteria of the genus Staphylococcus are most resistant to polymyxin (99,5 %), cephalonium (98,9 %), ceftonitis (97,8 %), lincomycin (97,3 %), cefapirin (92,9 %) and ampicillin (92,3 %), and less - to amoxicillin with clavulanic acid (24,0 %). Bacteria of the genus Streptococcus are most resistant to cephalonium and polymyxin (99,2 %), less to amoxicillin with clavulanic acid (22,6 %). Representatives of the genus Clostridium are resistant to lincomycin and polymyxin, the genus Salmonella - to enrofloxacin, ceftonitis and cephalonium, Proteus vulgaris - to ampicillin, lincomycin, rifampicin, cefapirin, cephalonium and polymyxin, Escherichia coli - to the maximum amount of antibacterial drugs studied. The results showed that along with the bacteria described earlier the etiological role of the genus Clostridium has been established. The presented data underline the important role of timely diagnosis and treatment of mastitis. **Keywords:** cattle, dairy complexes, bacteria, frequency of excretion, antibacterial drugs, resistance.*

Введение. В условиях интенсификации животноводства одной из основных причин снижения молочной продуктивности коров является мастит, распространение которого среди лактирующих коров может достигать 73,4%. Молоко от больных коров теряет питательные свойства и становится непригодным для технологической переработки. Выпойка маститного молока телятам нередко приводит к различным болезням, отставанию в развитии и падежу. Кроме того, в секрете больных маститом коров содержатся микроорганизмы, которые могут вызывать различные заболевания у людей [1, 5, 7, 9, 10].

Молоко является благоприятной питательной средой для развития разнообразных микроорганизмов, продуцирующих токсины. К настоящему времени в нем обнаружено 256 видов бактерий [2, 17].

Основным этиологическим агентом мастита у крупного рогатого скота во всем мире признана бактерия *S. aureus* [5, 7, 10, 19]. Ее присутствие в молоке коров с маститом установлено во многих странах мира [1, 14, 17]. В молоке от коров с маститом также выявлены бактерии: *Klebsiella ozenae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* [6], а также: *Escherichia coli*, *Mycoplasma* spp., *Corynebacterium* spp. [11], *Clostridium* spp. [8].

Масштаб производства молока растет с каждым годом во всем мире. За последние три десятилетия мировое производство молока увеличилось более чем на 59% - с 530 миллионов тонн в 1988 г. до 843 миллионов тонн в 2018 г. (<http://www.dairyco.org.uk/marketinformation/supply-production/milk-production/world-milk-production/>). Нередко это происходит за счет интенсификации животноводства, повышения молочной продуктивности коров, что часто сопровождается нарушениями рубцового пищеварения, развитием ацидозов и

кетозов, ростом заболевания коров маститом. При этом отмечают изменения в особенностях клинического проявления и течения мастита, видовом составе микроорганизмов, вызывающих заболевание у коров, и их резистентности к применяемым для лечения антибактериальным препаратам [14, 17, 20].

Цель работы – изучить видовой состав микрофлоры, выделенной от коров с клиническими формами мастита на крупных молочных комплексах и определить резистентность выделенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

Материалы и методы исследований. Работа выполнена в 2014 – 2020 гг. в лаборатории биотехнологии-диагностический центр ИЭВСидВ СФНЦА РАН.

Для исследования отбирали пробы молока от коров из хозяйств 5 областей (Новосибирской, Тюменской, Томской, Омской и Амурской), Алтайского и Красноярского края, Республики Казахстан.

Всего исследовали 400 проб молока, отобранных от коров, больных клинической формой мастита.

Для бактериологических исследований проводили посевы проб молока на питательные среды: ГРМ-агар, агар Эндо-ГРМ, висмут-сульфит-ГРМ-агар, агар МакКонки-ГРМ, агар Шедлера и инкубировали их в термостате при 37°C в аэробных и анаэробных условиях в течение 24-48 часов. Гемолитическую активность чистых культур бактерий определяли на МПА с добавлением 5% свежей дефибрированной крови. Определение видовой состава микрофлоры молока от больных маститом коров, идентификацию и изучение культурально-морфологических и биохимических свойств микроорганизмов проводили общепринятыми методами. Патогенность выделенных бактерий определяли на беспородных белых мышах массой 18-20 г.

Для оценки резистентности к антибактериальным препаратам использовали чистые культуры микроорганизмов или материал изолированных колоний с плотных питательных сред после первичного посева образца клинического материала (с параллельной идентификацией культуры).

Для этих целей использовали триптон-соевый агар (ТСА) и диско-диффузионный метод согласно МУК 4.2. 1890-04 (Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91с.).

Для определения резистентности использовали 17 антибактериальных препаратов 9 фармакологических групп.

Результаты исследований. В результате бактериологических исследований 400 проб молока от коров с клиническим маститом выделили 574 культуры микроорганизмов.

Максимальное количество культур бактерий, выделенных из молока, принадлежало роду *Staphylococcus* (32 %). Количество бактерий рода *Clostridium* составило 24 %, *Streptococcus* spp. - 22 %, рода *Salmonella* spp. – 7 %, другие бактерии – 14 % и микроскопические грибы – 1 %.

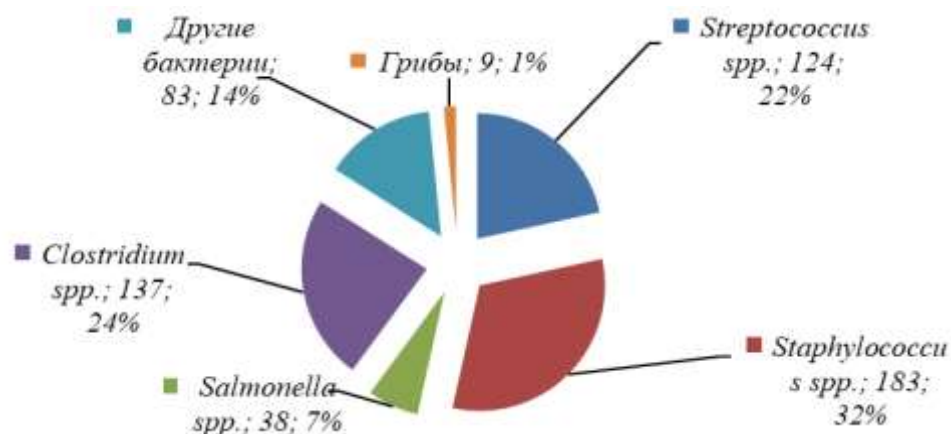


Рисунок 1 - Результаты бактериологического и микологического исследования проб молока от коров на крупных молочных комплексах в 2014 – 2020 гг.

Бактерии рода *Staphylococcus* были представлены тремя видами, из которых преобладающим был вид *Staphylococcus aureus* (89 %) (рисунок 2), что согласуется с данными других исследователей, полученных при изучении микробиоты молока у коров, в том числе с маститом [4, 12, 15-20].

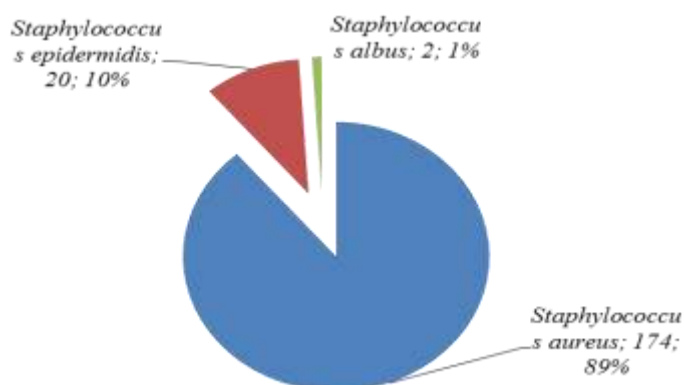


Рисунок 2 - Видовой состав бактерий рода *Staphylococcus*, выделенных из молока

Бактерии рода *Streptococcus*, выделенные из молока от коров с маститом были представлены пятью видами (рисунок 3). Наибольшее количество (89 %) из них были отнесены к виду *Streptococcus agalactiae*, что соответствует данным литературы [4, 7, 9].

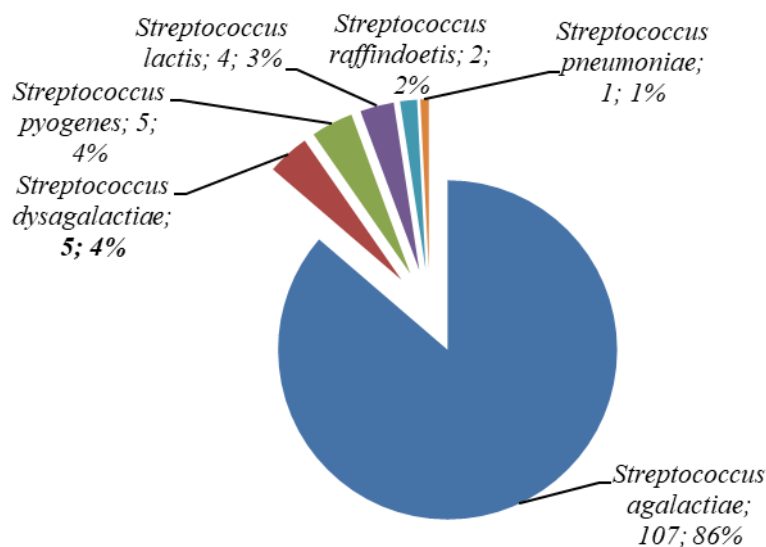


Рисунок 3 - Видовой состав бактерий рода *Streptococcus*, выделенных из молока от коров с маститом

В ходе исследований получили 137 культур бактерий рода *Clostridium*, 88,64% которых были отнесены нами к виду *Clostridium histolyticum* (рисунок 4). Кроме того, были выделены бактерии трех видов: *Clostridium septicum* (20%), *Clostridium sporogenes* (17 %) и *Clostridium perfringens* (4 %). Присутствие бактерий этого рода в молоке связывают с нарушениями рубцового пищеварения у коров, развитием ацидозов, кетозов и скармливанием животным некачественного силоса [11].

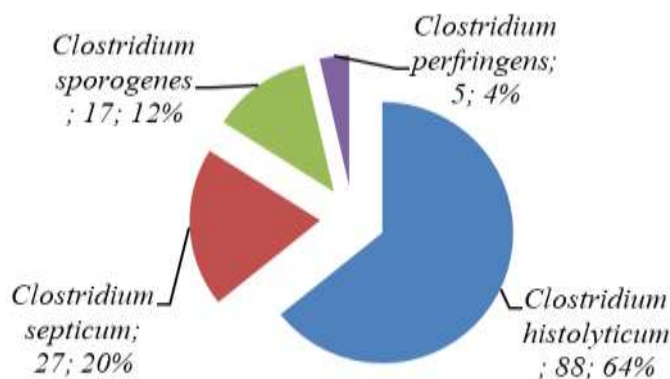


Рисунок 4 - Видовой состав бактерий рода *Clostridium*, выделенных из молока

Всего выделили 38 культур бактерий рода *Salmonella*, большинство из которых не удалось идентифицировать до вида (60,5 %), а остальные (39,5 %) были отнесены к виду *Salmonella dublin*.

Кроме того, из молока выделили 83 культуры других бактерий (рисунок 5), наибольшее количество из которых составили: *Proteus vulgaris* (42 %); *Corynebacterium spp.* (29 %) и *Escherichia coli* (17 %).

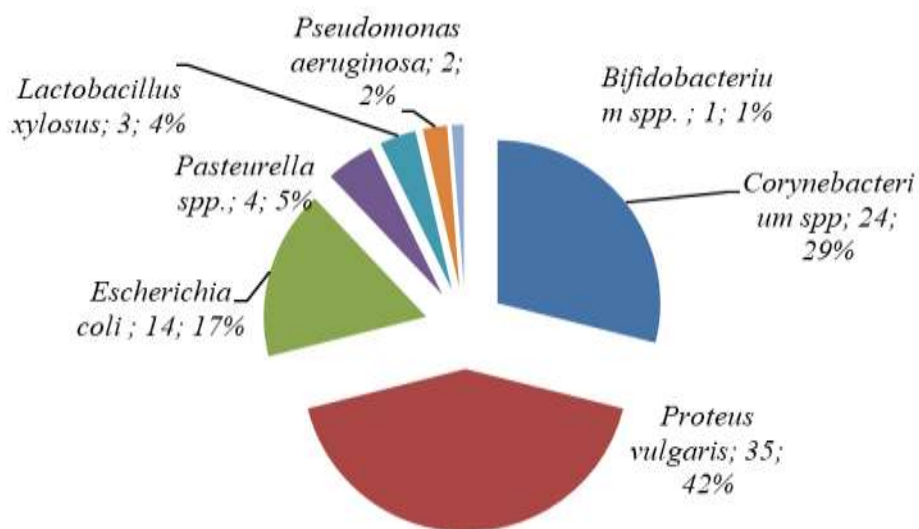


Рисунок 5 - Представители бактерий других родов, выделенные из молока

В некоторых случаях (9 культур) из молока были выделены микроскопические грибы *Mucor spp.*, *Aspergillus spp.*, что, скорее всего, связано с загрязнением воздуха животноводческих помещений и доильных стаканов спорами микроскопических грибов.

Микроорганизмы, выделенные из молока коров с маститом, обладали токсигенными и патогенными свойствами для лабораторных животных. Штаммы *Streptococcus agalactiae* были патогенными для белых мышей в 100 % случаев. Количество патогенных штаммов *Staphylococcus aureus* составило 92,4 %, *Streptococcus agalactiae* – 96,3 %, *Salmonella dublin* – 60 %, *Escherichia coli* – 100 %, *Proteus vulgaris* – 88,6 %. Количество штаммов бактерий рода *Clostridium*, токсигенных для белых мышей, составило 91,7 %, в том числе: *Clostridium histolyticum* – 88,6 %, *Clostridium septicum* – 96,3 %, *Clostridium sporogenes* – 100 %.

Результаты изучения резистентности выделенных культур бактерий к антибактериальным препаратам показали, что резистентность выделенных культур микроорганизмов к антибактериальным препаратам имела различия в зависимости от их фармакологических групп. Установили, что бактерии рода *Staphylococcus* наиболее резистентны к полимиксину (99,5 %), цефалониуму (98,9%), цефтониту (97,8 %), линкомицину (97,3 %), цефапирину (92,9 %) и ампициллину (92,3%), а менее – к амоксициллину с клавулановой кислотой (24,0%). Представители рода *Clostridium* были устойчивы к линкомицину и полимиксину, максимально (более 90 %) – к цефалониуму, ампициллину, цефтониту, энрофлоксацину, цефапирину и кобактану, минимально – к амоксициллину с клавулановой кислотой (12,4 %). Бактерии рода *Streptococcus* наиболее резистентны к цефалониуму и полимиксину (99,2 %), менее – к амоксициллину с клавулановой кислотой (22,6 %). Представители рода *Salmonella* были резистентны к энрофлоксацину, цефтониту и цефалониуму (100 %), а менее – к тетрациклину и гентамицину (42,1 %). Все культуры бактерии *Proteus vulgaris* были устойчивы к ампициллину, линкомицину, рифампицину, цефапирину, цефалониуму и полимиксину, максимально устойчивы к цефтониту (97,1 %), амоксициллину, тетрациклину и канамицину (91,4 %). Наименьшая

резистентность отмечена к амоксициллину с клавулановой кислотой (20 %). Устойчивость к большинству исследованных антибактериальных препаратов определена у бактерии *Escherichia coli*.

Заключение. Интенсификация молочного животноводства влечет за собой изменения состава микроорганизмов, вызывающих маститы у коров. Наряду с бактериями, описанными ранее в качестве основных возбудителей мастита, от коров на крупных молочных комплексах выделяют представителей рода *Clostridium* и *Salmonella*.

Высокая концентрация животных на молочных комплексах, интенсификация производства молока, нарушения в рационах кормления животных, наличие постоянного источника возбудителя во внешней среде, наличие бактерионосителей [2, 3, 14] и факторов передачи, бессистемное использование антибактериальных препаратов создают условия для возникновения маститов, вызванных штаммами бактерий, устойчивыми к большинству антибактериальных препаратов [4, 13, 18-20].

Литература. 1. Абаимова, А. Д. Резистентность организма коров и эффективность их лечения при мастите в лактационный период : автореф. дис. ... канд. вет. наук. / А. Д. Абаимова. - Москва, 1999. - 24 с. 2. Частота выделения бактерий рода *Salmonella* от крупного рогатого скота на молочных комплексах / Т. И. Глотова, С. В. Котенева, А. В. Нефедченко, А. Г. Глотов // Ветеринария. - 2021. - № 1. - С. 19–23. 3. Этиологическая структура массовых респираторных болезней молодняка крупного рогатого скота в хозяйствах, занимающихся производством молока / А. Г. Глотов [и др.] // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 2008. - № 3. - С. 72–78. 4. Возбудители клинических маститов коров и их чувствительность к антибактериальным препаратам / А. В. Горбенко [и др.] // Ветеринарная медицина. - 2013. - № 97. - С. 176–179. 5. Донник, И. М. Влияние технологии доения на молочную продуктивность и качество молока коров / И. М. Донник, О. Г. Лоретц // Аграрный вестник Урала. - 2014. - № 12 (130). - С. 13-16. 6. Забровская, А. В. Эпизоотологический анализ распространения антибиоткорезистентных штаммов возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных в Северо-Западном Федеральном округе Российской Федерации : автореф. дисс. ... д-ра вет. наук / А. В. Забровская. - Санкт-Петербург, 2019. - 41 с. 7. Климов, Н. Т. Мастит коров. Симптомы, профилактика и лечение / Н. Т. Климов // БИО. - 2020. - № 4 (235). - С. 16–19. 8. Видовой спектр бактерий рода *Clostridium*, выделенных от крупного рогатого скота на молочных комплексах / Т. Е. Терентьева [и др.] // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. - 2016. - № 1. - С. 5–8. 9. Патогенетическая и этиотропная терапия мастита у коров / С. В. Шабунин [и др.] // Ветеринария. - 2014. - № 6. - С. 39–42. 10. Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia / R. Abebe [et al.] // BMC Vet. Res. - 2016. - Vol. 12. - P. 270. 11. Dairy farm management practices and the risk of contamination of tank milk from *Clostridium* spp. and *Paenibacillus* spp. spores in silage, total mixed ration, dairy cow feces, and raw milk / G. Borreani [et al.] // J. Dairy Sci. - 2019. - Vol. 102. - P. 8273–8289. 12. Influence of pathogens causing clinical mastitis on reproductive variables of dairy cows / F. M. Dalanezi [et al.] // J. Dairy Sci. - 2020. - № 103 (4). - P. 3648–3655. 13. Prevalence and characterization of extended-spectrum cephalosporin resistant non-typhoidal *Salmonella* isolates in adults in St-Petersburg, Russia (2002–2005) / S. Egorova [et al.] // Microb. Drug. Resist. - 2007. - № 13. - P. 102–107. 14. Holschbach, C. L.

Salmonella in Dairy Cattle / C. L. Holschbach, S. F. Peek // Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. – 2018. – № 34 (1). – P. 133–154. 15. *Short communication: antimicrobial susceptibility profiling and genotyping of Staphylococcus aureus isolates from bovine mastitis in Poland / T. Jagielski [et al.] // J. Dairy. Sci. – 2014. – № 97. – P. 6122–6128.* 16. *Jamali, H. Short communication: prevalence and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus isolated from bovine clinical mastitis / H. Jamali, B. Radmehr, S. Ismail // J. Dairy. Sci. – 2014. – № 97. – P. 2226–2230.* 17. *The fate of indigenous microbiota, starter cultures, Escherichia coli, Listeria innocua and Staphylococcus aureus in Danish raw milk and cheeses determined by pyrosequencing and quantitative real time (qRT)-PCR / W. Masoud [et al.] // Int. J. Food. Microbiol. – 2012. – Vol. 153. – P. 192–202.* 18. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus of lineage ST398 as cause of mastitis in cows / N.C. Silva [et al.] // Lett. Appl. Microbiol. – 2014. – № 59. – P. 665–669.* 19. *Molecular epidemiology and antimicrobial resistance mechanisms of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from bovine milk / S. Turkyilmaz, S. Tekbiyik, E. Oryasin, B. Bozdogan // Zoonoses Public Health. – 2010. – № 57. – P. 197–203.* 20. *Bovine mastitis Staphylococcus aureus: antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-sensitive strains in China / D. Wang [et al.] // Infect. Genet. Evol. – 2015. – Vol. 31. – P. 9–16.*

УДК 619:616. 98:579.882

ВЛИЯНИЕ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ХЛАМИДИОЗА НА ТЕЧЕНИЕ И ИСХОД СУЯГНОСТИ ОВЕЦ И ФОРМИРОВАНИЕ КОЛОСТРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА

*** **Евстифеев В.В., *Яковлев С.И., *Хусаинов Ф.М., *Хусаинова Г.И.,
*Иванова С.В.**

*ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, Российская Федерация

**ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», г. Казань, Российская Федерация

*Представленные материалы свидетельствуют об отсутствии негативного воздействия универсальной вакцины против хламидиоза животных на репродуктивную функцию суягных овец. В ходе проведенных исследований было установлено, что биопрепарат не является реактогенными и пирогенным. Помимо этого, установлено, что вакцина обуславливает наличие колострального иммунитета у ягнят, полученных от иммунизированных овец. **Ключевые слова:** хламидиоз, овцы, колостральный иммунитет.*

THE EFFECT OF VACCINATION AGAINST CHLAMYDIA ON THE COURSE AND OUTCOME OF SHEEP PREGNANCY AND THE FORMATION OF COLOSTRAL IMMUNITY

*** **Evstifeev V.V., *Yakovlev S.I., *Khusainov F.M., *Khusainova G.I., *Ivanova S.V.**

*Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

**Kazan State Academe of Veterinary Medicine N.E. Bauman, Kazan, Russian Federation