

*Н.П. ИВАНОВ, С.Н. САРИМБЕКОВА*

## **ЭТИОЛОГИЯ МАСТИТОВ У КОЗ В КАЗАХСТАНЕ**

*(Казахский Национальный аграрный университет. Алматы )*

### **Аннотация**

Показана питательная ценность козьего молока и необходимость обеспечения ее пищевой безопасности. При исследовании молока от 22 козоматок выявлено, что в секрете молочной железы коз обнаруживаются кокки (40%), бактерии кишечной группы (20%), смешанные культуры (26,7%) и у животных, неблагополучной по бруцеллезу группы, – бруцеллы (13,3%). Маститы у коз обнаруживаются при клиническом обследовании, бактериологических высеях и химическом анализе с помощью аппарата «Лактоскан» и постановке пробы на кинотест.

**Ключевые слова:** молоко, пищевая безопасность, этиология, микроорганизмы, мастит, сероводород, аммиак, гиалуронидаза, некроз.

**Тірек сөздер:** сүт, азық-тұлға қауыпсыздығы, этиология, микроағза, желін сау, құқіріті сүтегі, аммиак, гиалуронидаза, некроз.

### **Введение**

Молоко является ценным пищевым продуктом, особенно для детей младшего возраста. В нашей стране наиболее употребительным является молоко коров, так как от этого вида животных получают основной объем данного продукта.

Однако молоко других видов животных (кобылы, верблюдицы, козы) также является весьма полезным и достаточно широко применяемым при изготовлении различных кисло - молочных и других продуктов (кумыс, шубат, сыры, йогурты и т.д.).

Важно отметить, что при всем многообразии научно-исследовательских работ, посвященных изучению качества молока и молочной продукции, получаемых от коров, относительно мало исследований по названной проблеме, касающейся продукции от других видов животных.

Ценность молока и молочной продукции во многом зависит от состояния нормального функционирования молочной железы животных.

Одной из числа самых распространенных заболеваний лактирующих животных является воспаление молочной железы (мастит).

Этиологию болезни часто связывают с проникновением инфекции на фоне ослабления резистентности организма.

В литературе имеются сообщения о выделении из секрета молочной железы коров при воспалительном процессе стрепто - и стафилококков, синегнойной палочки, золотистого стафилококка, *E.coli*, *Salmonella*, бруцеллы и др [4].

Одновременно с этим, рядом авторов отмечены бактерицидные свойства молока, а при сквашивании проявляются антагонистические свойства молочнокислых бактерий и дрожжей по отношению к патогенной микроФлоре [5].

Важно отметить, что к настоящему времени, при переходе хозяйствующих субъектов на рыночную экономику все большее развитие получает молочное козоводство.

Молоко коз по количественному и качественному составу жира, белков и физико-химическим свойствам значительно отличается от коровьего.

В козьем молоке содержится около 40 биологических компонентов, необходимых организму человека. Самые значимые витамины – А, С, В1, В2, В6, В12, аминокислоты, ферменты и микроэлементы.

Козье молоко показано детям и широко используется при искусственном вскармливании новорожденных.

Это молоко считается лечебным продуктом и применяется при лечении нарушенного обмена веществ, как средство, предотвращающее простудные заболевания и способствующее излечению людей при многих заболеваниях. Процент усвоения козьего молока достигает 100.

В связи с изложенным становится очевидным необходимость проведения исследований по обеспечению пищевой безопасности при потреблении козьего молока, что в первую очередь зависит от общего состояния здоровья животных и отсутствия как - либо патогенных микроорганизмов.

**Материалы методы** Нами проведены соответствующие исследования по выяснению этиологии маститов у коз. При этом особое внимание обращено на роль микрофлоры, обнаруживаемой в секрете молочной железы. Изучение бактериальной обсемененности секрета молочной железы проводили у животных, содержащихся в индивидуальных хозяйствах и подворье Алматинской и Восточно-Казахстанской областях.

При исследовании применяли клинический метод, бактериологические высеывания из секрета, взятого из цистерны молочной железы, химический анализ, с помощью аппарата Лактоскан (производства Швеции), а также пробу на кинотест (производство Дания). Бактериологические исследования проводили по общепринятым методикам. Идентификацию и деференциацию выделенных культур осуществляли по методикам, описанным в соответствующих руководствах [6]. Гиалуронидазную активность определяли инвиво и инвитро, согласно описанию в заявке на изобретение № 2011/0302.1 [7].

**Результаты исследований.** Исследование подвергнуто 22 козоматки, в том числе 9 из крестьянского хозяйства „Теректы“ Кокпектинского района Восточно-Казахстанской области, 8 из ТОО „Байсерке“ Талгарского района Алматинской области и 5 животных из частных подворий Карабайского района Алматинской области.

Сравнительные показания различных диагностических тестов на мастит показаны в таблице 1.

Таблица 1. Сравнительные результаты исследования проб молочной железы коз на мастит

№ п/п	Кол-во жив.	Клинич. признаки	Бак.высеывания	Наличие сомат. Клеток (тыс)	Данные кинотеста
1	1	отсутств.	отриц.	нет	отриц.
2	6	отсутств.	положит.	1200±120	положит.
3	2	отсутств.	отриц.	нет	отриц.
4	2	отсутств.	отриц.	600±20	отриц.
5	1	отсутств.	положит.	600±20	положит.
6	2	имеются	отриц.	600±20	положит
7	5	отсутств.	положит	1200±120	положит.
8	1	имеются	положит	600±20	нет
9	1	имеются	положит.	1530	положит.
10	1	отсутств.	положит.	600±20	положит

Из данных таблицы 1 видно, что из числа обследованного поголовья коз и взятого от них секрета молочной железы клинические признаки мастита выявлены у 4-х животных, что составляет 18,2%, бактериологические находки обнаружены в 15-ти пробах, или 68,2%, наличие соматических клеток более миллиона отмечено в 3-х случаях (13,6%), с помощью кинотеста обнаруживали признаки мастита в 16-ти пробах (72,7%).

Наименее чувствительным оказался тест по обнаружению соматических клеток (3 пробы), далее следует клинический метод обнаружения мастита (4 животных), следующим по количеству обнаруживаемых патогенов является бактериологический метод диагностики (15 проб). Наибольшее количество проб секрета молочной железы коз с предполагаемыми отклонениями от нормы выявляет кинотест (16).

Совпадающие результаты всех исследований обнаружены в 6 случаях (27,3%), совпадение результатов только лабораторных исследований отмечено в 11 случаях (54,5%), и не совпадающие данные лабораторных и клинических исследований отмечены в 5 случаях (22,7%).

Приведенные данные свидетельствуют, что диагностика маститов должна базироваться на комплексном клинико-лабораторном исследовании.

Далее нами проведен анализ результатов бактериологических находок при высевах из молока на питательные среды.

Данные этих исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2 Результаты идентификации микроорганизмов, изолированных из молока коз

№ п/п	К-во проб, где обнаруж. микроорганизмы	В том числе:							
		только кокки		только сальм.+ эшерихии		только бруцеллы		смешан.культ-ры (кокки+салм+ эшерихии)	
Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс	%	Абс	%
1	15	6	40,0	3	20,0	2	13,3	4	26,7

Из данных, приведенных в таблице 2, явствует что наибольшее количество микроорганизмов, обнаруживаемых в секрете молочной железы коз, относятся к группе кокков – 40% (стрепто – и стафилококков). В неблагополучной по бруцеллезу группе коз нами выделены 2 культуры бруцелл (13,3%), которые при дифференциации отнесены к виду мелитензис и 4 культуры микроорганизмов, 26,7% были смешанными.

Большой научный и практический интерес представляет классификационная характеристика выделенных микроорганизмов. Эти данные получали при изучении их морфологических, тинкториальных и антигенных свойств.

При окрашивании выделенных микроорганизмов по Грамму отмечено, что кокки в поле зрения микроскопа имели синий цвет, а бруцеллы, сальмонеллы и эшерихии были красными, то есть граммотрицательными (рис.1).

При бактериологическом посеве выделенных культур на средах, содержащих фуксин, тионин, пенициллин и стрептомицин, обнаруживался рост на первые-вторые сутки.

При проведении пластинчатой реакции агglутинации (ПРА) с соответствующими выделенным культурами сыворотками крови морских свинок (через 15 суток после их иммунизации) во всех случаях получены положительные результаты.

Суточные культуры сальмонелл, эшерихий коли, бруцелл и стафилококков показаны на рисунках 1 – 4 (окраска по Грамму).

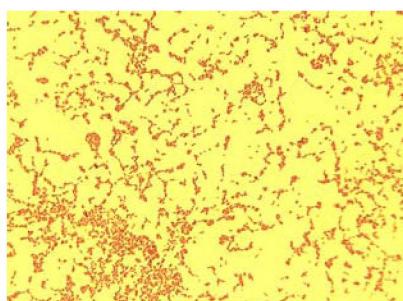


Рисунок -1

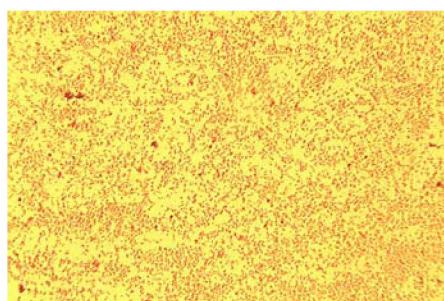


Рисунок- 2

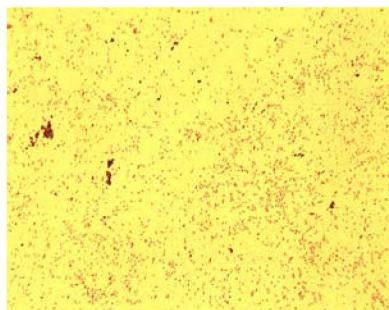


Рисунок- 3

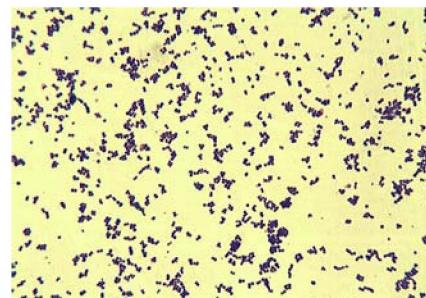


Рисунок- 4

Рисунок 1. Суточные культуры выделенной из секрета молочной железы коз бактериальной флоры.

Примечание. Рисунок 1 – сальмонеллы; рисунок 2 – эшерихии коли; рисунок 3 – бруцеллы; рисунок4 – стафилококки.

Дифференциация сальмонелл и эшерихий коли осуществляли путем посева на среду Эндо и висмут сульфитном агаре (рисунок -5).



Рисунок 5. Рост выделенной микрофлоры на элективных питательных средах.

Примечание. Слева рост эшерихии коли на среде Эндо; в средине на чашке Петри: 4 – бруцеллы; 5 – эшерихии коли; 6 – кокки; 7 – сальмонеллы; на чашке Петри справа – культура сальмонелл на висмут сульфитном агаре.

Биохимические свойства сальмонелл определяли путем высеяния их на пестрый ряд с содержанием в питательной среде различных углеводов (рисунок- 6).



Рисунок 6. Проявление биохимических свойств *E. coli* слева и *Salmonella* справа.

Примечание. Слева – сбраживание углеводов культурой *E. coli*, справа – *Salmonella*

Из рисунка 6 видно, что кишечные палочки ферментируют сахарозу, арабинозу, дульцит, а сальмонеллы ферментируют арабиноз, дульцит, и глюкозу.

Известно, что патогенетическими факторами бактериальной флоры являются выделение сероводорода, аммиака, гемолитические свойства и другие. Обнаружение одного из них является достаточным и неоспоримым доказательством наличия патогенных свойств микроорганизмов.

Сероводородную активность выделенных культур бактерий изучали с помощью фильтровальных полосок бумаги, пропитанных насыщенным раствором уксуснокислого свинца. С этой целью готовили насыщенный раствор уксуснокислого свинца, в котором пропитывали фильтровальную бумагу. Затем ее высушивали при комнатной температуре и разрезали на полоски длиною 8 см и шириной 1,5 см. Приготовленные полоски монтировали в ватно-марлевую пробку пробирок с косяками агара над ее поверхностью так, чтобы они не касались поверхности агара (рисунок 7).

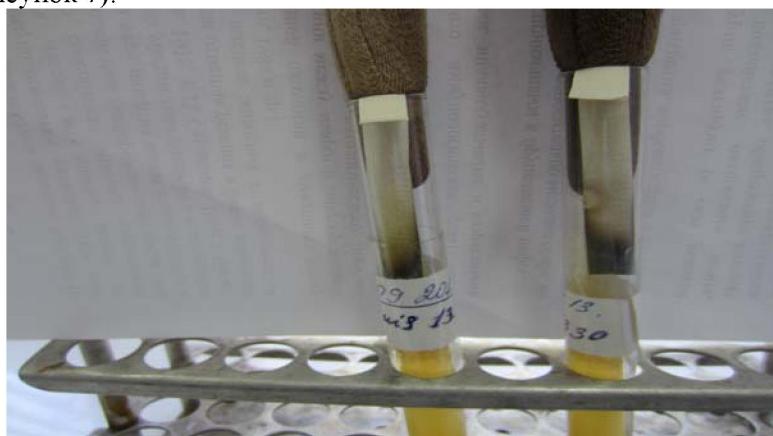


Рисунок 7. Техника закрепления полосок фильтровальной бумаги, пропитанной насыщенным раствором уксуснокислого свинца.

Учет реакции осуществляли через 24 и 48 часов выдерживания бактериальных высеевов в термостате. По истечении указанного времени делали замеры величины потемнения полосок фильтровальной бумаги.

Количественные показатели выделения сероводорода представлены на рисунке 8.

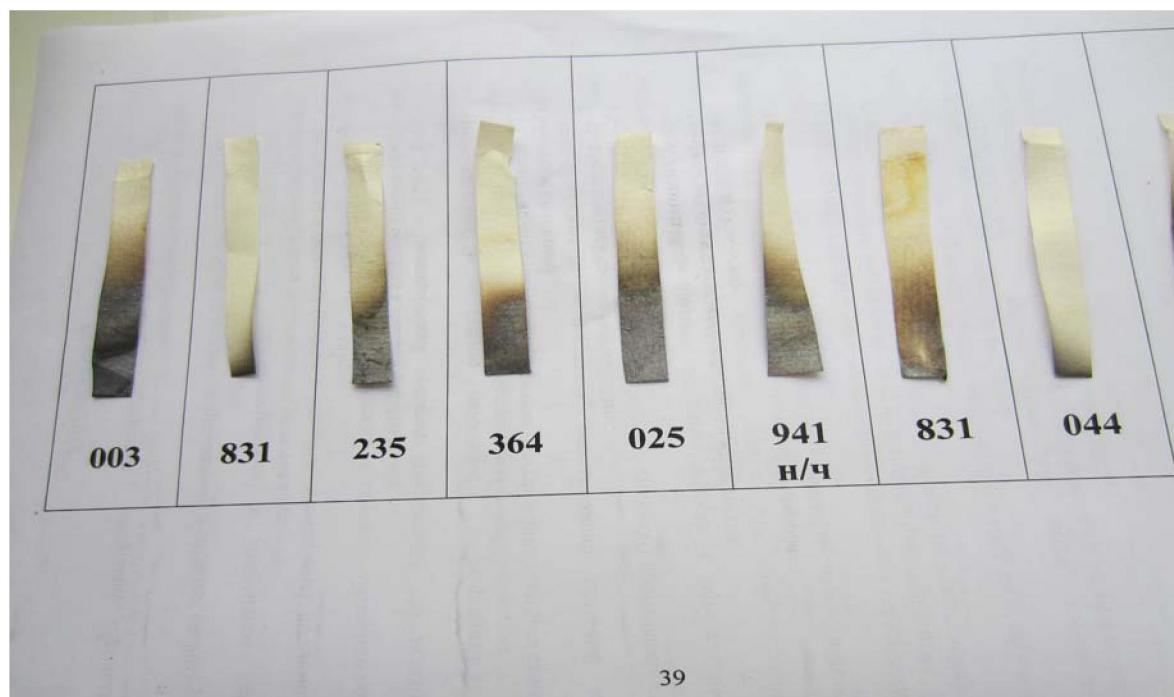


Рисунок 8. Количествоные показатели выделения сероводорода изолированными бактериальными культурами.

Как видно из рисунка - 8, из 8-ми изучаемых культур сероводород в достаточно большом количестве обнаруживали у 6-ти из них, что составляет 75%.

Таким образом, можно констатировать, что одним из основных обнаруженных нами факторов патогенности является сероводород. В организме животных он вызывает гипоксию и общее отравление и как следствие этого – слабость, расстройство пищеварения, тошнота и другие возможные клинические признаки.

Далее проводили изучение выделения бактериями аммиака. Это химическое соединение образуется, как правило, при гидролитическом расщеплении мочевины и дезаминировании азотсодержащих веществ. Обнаружение аммиака, выделяемого бактериями, осуществляли путем колориметрического метода, основанного на изменении показателя концентрации водородных ионов бактериальной среды в процессе гидролиза мочевины и в соответствии с этим сменой цвета питательной среды от лимонно-розового до красного.

Выделенные нами культуры расщепляли мочевину на аммиак и углекислый газ и изменяли цвет питательной среды (рисунок 9).



Рисунок 9. Изменение цвета питательной среды при выделении аммиака бактериальными культурами, выделенными из секрета молочной железы коз с признаками мастита.

Примечание. Слева – изменение цвета питательной среды через 12 часов роста микробной культуры; справа – через 24 часа.

Как видно из рисунка 9, выделенные нами бактериальные культуры обладали уреазной активностью, что обусловливало выделение аммиака и соответственно отравление организма.

Попадание указанных ядовитых веществ в пищевые продукты при их употреблении могли вызывать интоксикацию организма. Обеспечение пищевой безопасности должно предусматривать недопущение их попадания в продукты питания.

Кроме того, патогенность выделенных культур бактерий определяли путем предложенного нами метода [7], сущность которого сводится к внутрикожному введению двух млрд-ной бактериальной взвеси с последующим учетом местной кожной реакции. После внутрикожного введения по истечении 24–48 часов наблюдали выраженную воспалительную реакцию с некрозом в центре инъекции взвеси (рисунок - 10)



Рисунок 10. Местная кожная реакция на введение микробной взвеси выделенных культур бактерий.

Как видно из рисунка 10, выделенные нами культуры характеризовались патогенностью и вызывали некроз тканей на месте их инъекции.

Определенную роль в развитии патологического процесса, вызываемого бактериальной флорой, играет фактор распространения. В связи с этим нами изучалась гиалуронидазная активность выделенных культур бруцелл, сальмонелл и эшерихий.

Гиалуронидазную активность определяли вначале *in vitro*. С этой целью в 4 пробирки помещали 1%-ный раствор гиалуроновой кислоты и добавляли 0,1%-ный раствор официальной лидазы (гиалуронидазы). Результаты этой реакции показаны на рисунке 11.

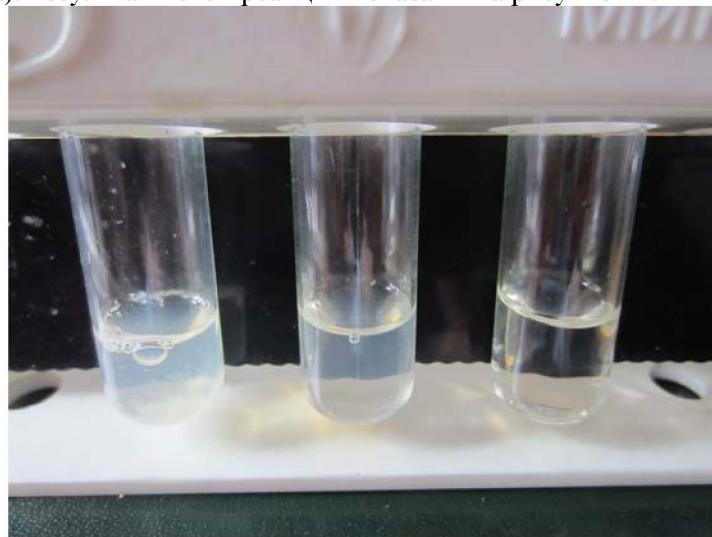


Рисунок 11. Гиалуронидазная активность бактериальных культур.

Примечание. Слева в пробирке гиалуроновая кислота со взвесью бруцелл. В средней пробирке - гиалуроновая кислота со взвесью сальмонелл. В третьей пробирке - гиалуроновая кислота с тестикулярной гиалуронидазой.

Из рисунка 11 видно, что гиалуроновая кислота не расщепляется полностью бактериальной взвесью, что может быть в связи с несоответствием структурного строения указанных компонентов. Эти данные были отмечены другими исследователями и описаны в специальной литературе (Н.П. Иванов, 1984).

Результаты проведенных исследований явились основанием для изучения гиалуронидазной активности *in vivo* (на кроликах-альбиносах).

Полученные данные отражены на рисунке 12.



Рисунок 12. Гиалуронидзная активность бруцелл (средняя часть), сальмонелл (справа), эшерихий (слева).

Как видно из рисунка 12, выделенные нами бактериальные культуры обладали гиалуронидазной активностью, что является одним из патогенетических факторов, вызывающих маститы у животных.

Молоко, полученное от таких животных, безусловно, является опасным для здоровья человека, и оно не может быть использовано для потребления в пищу.

**Обсуждение результатов исследования.** При диагностике мастита у животных необходимо использовать комплексные клинико-лабораторные исследования. При этом наиболее чувствительным является кинотест с использованием Датского препарата, вторым по чувствительности является бактериологический метод. Другие способы (обнаружение соматических клеток с помощью аппарата лактоскан и клинический) оказались менее чувствительными. Однако полное совпадение всех тестов лишь в 6 случаях из 22 (27,3%).

Наиболее часто при маститах коз выделяются кокковые формы микроорганизмов (40%), далее микрофлора кишечной группы (20%) и смешанные культуры (кокки и кишечная микрофлора) в 26,7%.

В неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах маститы могут быть вызваны бруцеллами (13,3%).

Выделенная микрофлора обладала свойствами продуцирования сероводорода и аммиака. Указанные продукты являются ядом для животных и основными патогенетическими факторами при маститах у коз.

Изолированные культуры Brucella, E. coli и Salmonella имели гиалуронидазную активность, что способствовало расщеплению соединительной ткани и распространению их в ткани молочной железы.

При оценке пищевой безопасности молока, полученного от коз, необходимо исключить маститы у животных. С этой целью использовать современные методы диагностики. При обнаружении воспалительного процесса в молочной железе коз проводить терапевтические воздействия до полного исчезновения признаков, указывающих на наличие патологических явлений.

**Выводы** 1. Диагностику мастита у коз необходимо проводить комплексно клинико-лабораторными методами. При этом наиболее чувствительным является кинотест с использованием Датского препарата, вторым по чувствительности является бактериологический метод. Полное совпадение всех тестов обнаруживается лишь 27,3 % случаях.

2. Наиболее часто при мастиках у коз выделяются кокковые формы микроорганизмов (40 %), далее микрофлора кишечной группы (20%) и смешанные культуры (кокки и микрофлора кишечной группы-26,7%).

3. Изолированная микрофлора обладает свойствами продуцирования сероводорода и аммиака, которые являются ядом для животных и основными патогенетическими факторами при маститах у коз.

4. Выделенные культуры микроорганизмов из секрета молочной железы коз обладали гиалуронидазной активностью, которая не идентична тестикулярной лизазе.

5. Для обеспечения пищевой бактериальной безопасности молока, полученного от коз, необходимо проводить диагностические исследования и при положительном результате в последующем осуществлять терапевтические меры.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 *Архангельский И.И. //Труды ВНИИВС.-т.XXIX - 1967- 53с.*
- 2 *Студенцов А.П. Акушерство и гинекология.М.- 1962- 542с.*
- 3 *Богданов В. Микробиология молока и молочных продуктов. М.- 1962*
- 4 *Коспаков Ж. Микробиологические и цитологические исследования молока и разработка санитарно-гигиенических режимов его получения. //Дисс.на уч.степень к.в.н. -1976*
- 5 *Гуляева О.В. Совместные действия антибиотиков и пробиотиков на патогенные микроорганизмы. //Дисс.на уч.степень к.в.н.- 2012 - 73с.*
- 6 *Иванов Н.П., Бруцеллез животных и меры борьбы с ним. Алматы-2007 - 610с.*
- 7 *Саримбекова С.Н. Способ дифференциации сальмонелл по степени патогенности. Заявка на изобретение № 2011/0302.1*

#### REVERENCES

- 1 *Arhangelski I.I. – 1967-53 (in Russ)*
- 2 *Studencov A.P. – 1962 – 542 (in Russ)*
- 3 *Bogdanov B. – M- 1962 (in Russ)*
- 4 *Cospakov Z. – 1976 (in Russ)*
- 5 *Gulayeva O.V. – 2012 – 72 (in Russ)*
- 6 *Ivanov N.P. – 2007 – 610 (in Russ)*
- 7 *Sarimbekova S.N. – 2011 (in Russ)*

#### Резюме

В статье показана бактериальная обсемененность секрета молочной железы при мастите коз. При этом были выделены кокки (40%), бактерии кишечной группы (20%), смешанные культуры (26,7%) и у животных неблагополучной по бруцеллезу группы - бруцеллы (13,3%). Диагностику мастита у коз необходимо проводить комплексно, в частности, с помощью кинотеста и бактериологического метода. Полное совпадение диагностических тестов обнаруживается лишь в 27,3% случаях.

Изолированная микрофлора продуцирует сероводород, аммиак и обладает гиалуронидазной активностью.

#### Резюме

*Иванов Н.П. Саримбекова С.Н.*

**Казақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы қ.  
ЕШКІ ЖЕЛІНСАУЫНЫҢ ЭТИОЛОГИЯСЫ**

Макалада ешкі желінсауында сүттің бактериялармен ластануы көрсетілген. Бұл ретте коктар (40%), ішектобының бактериялары (20%), арапас культуралар (26,7%) және бруцеллез тобы жануарларында - бруцеллалар (13,3%) анықталды. Ешкі желінсауының диагностикасының кинотест көмегімен және бактериологиялық әдіспен көшпенді жүргізу керек. Диагностикалық тестілердің толық сәйкестігі 27,3% жағдайда байқалады.

Бөлініп альянған микрофлора күкіртті сутек, аммиак бөледі және гиалуронидазалық белсенеділікке ие болады.

**Тірек сөздер:** сүт, азық-тұлғақ қауыпсыздығы, этиология, микроағза, желін сау, күкіртті сүтегі, аммиак, гиалуронидаза, некроз.

*Ivanov N.P. Sarimbekova S.N.*

#### Summary

The article shows a bacterial inoculation of breast secretion in mastite goats. The allocated cocci (40%), the coliform Group (20%), mixed culture (26,7%) and the animals have broken on brucellosis Brucella Group (13,3%). Diagnosis of mastitis in goats must be conducted in a comprehensive manner, in particular using kinotesta and bacteriological method. Full match diagnostic tests only 27,3% of the detected cases.

The isolated microorganisms produce hydrogen sulfide, ammonia, and has hyaluronidase activity.

Данные авторов:

Иванов Н.П. – д.в.н., профессор, академик НАН РК, Казахский Национальный аграрный университет  
Саримбекова С.Н. – магистрант, Казахский Национальный аграрный университет