

УДК 619:615.33:618.19-002

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИКРОФЛОРЫ, ВЫДЕЛЕННОЙ ОТ КОРОВ, БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ

Н.А. Кузнецов, Н.В. Максимович

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 1.06.2012 г.)

Аннотация. Причиной мастита коров чаще всего является микробный фактор. Возбудителями мастита могут быть стафилококки, стрептококки, энтерихии, псевдомонады, коринебактерии, микоплазмы и др. Ведущую роль в воспалении молочной железы часто играют микробы рода *Staphylococcus*.

В 75,6% проб молока, отобранных от больных маститом коров, выявлена патогенная и условно-патогенная микрофлора. В начале и середине лактации эта цифра составила 78,1%, в конце – 66,7%. Из общего числа проб с выделенной микрофлорой 74,2% составили стафилококки. Выявлены препараты, к которым данная микрофлора и другие возбудители в большинстве своем

чувствительны. Однако не обнаружено ни одного антибактериального препарата, к которому все выделенные возбудители оказались бы чувствительны, а ко многим часто применяемым в ветеринарной практике препаратам обнаружена малая чувствительность и устойчивость микроорганизмов.

Summary. The cause of mastitis cows is often a microbial factor. *Staphylococcus, Streptococcus, Escherichia, Pseudomonas, Corynebacterium, Mycoplasma* and other microorganisms could be pathogens of mastitis. Leading role in the inflammation of a mammary gland belongs to *Staphylococcus*.

In 75.6% of milk samples, selected from cows with mastitis detected pathogenic and conditionally pathogenic microflora. In the early and mid lactation, the figure was 78.1% at the end — 66.7%. Of the total number of samples selected microflora 74.2% were *Staphylococcus* spp. Identified drugs to which this flora and other pathogens are mostly sensitive. However, not found a single antibiotic to which isolated pathogens were sensitive to, and to many commonly used drugs in veterinary practice revealed low sensitivity and resistance of microorganisms.

Введение. Мастит коров вызывается, чаще всего, под воздействием микробного фактора. Инфицирование молочной железы микроорганизмами обнаруживается в 80% случаев заболевания [3]. Наиболее уязвимой в отношении патогенов мастита молочная железа коров является в лактационный период и период запуска, так как в период лактации активно функционирует железистый эпителий вымени, а в период запуска кератиновая пробка, закрывающая сфинктер соска коровы, образуется только в середине сухостойного периода животного [8]. Наиболее частыми возбудителями мастита являются стафилококки, стрептококки, эшерихии, псевдомонады, коринебактерии, микоплазмы и др. [1, 2, 5]. Многие исследователи главную роль в бактериальной этиологии мастита отводят стафилококкам и стрептококкам [1, 4, 10].

По данным некоторых исследователей, стафилококки могут играть ведущую роль в этиологии скрытых маститов коров [3, 8, 9]. В исследованиях других авторов преобладающими оказываются микробы рода *Streptococcus* [7]. Кроме того, в молоке коров, больных скрытым и клиническим маститом, исследователи выделяли микоплазм [5], эшерихий и других энтеробактерий [5, 9], коринебактерий [5], протей [8, 9], *Vac. subtilis* [8]. Часто из молока больных коров выделяют патогенные грибы рода *Candida* [1, 12]. Не редки случаи ассоциаций микроорганизмов в этиологии скрытых маститов коров [5]. В сухостойный период возбудителями мастита являются те же микроорганизмы, что и в период лактации [2].

Многими исследователями из молока больных сухостойных коров были выделены стафилококки, стрептококки, энтеробактерии. Причём авторы в большинстве случаев из секрета вымени сухостойных

коров и коров перед запуском выделяли коагулазоотрицательных стафилококков, в среднем от 30 до 55% случаев [6, 11].

Для борьбы с возбудителями маститов коров используются различные антибактериальные препараты. Однако в последнее время выявляется устойчивость патогенной и условно-патогенной микрофлоры ко многим применяемым антибактериальным веществам. Поэтому подбор препаратов для лечения и профилактики маститов коров должен проводиться на основе выделения возбудителей и выявления их чувствительности к антибактериальным препаратам [7, 9].

Цель работы: выявить основных возбудителей мастита коров, определить их чувствительность к антибактериальным препаратам, применяемым в ветеринарной практике.

Материал и методика исследований. Научно-исследовательская работа проводилась в КУСП «Победа» Ивацевичского района, ОАО «Агро-сад «Рассвет» Брестского района, УО СПК «Путришки» Гродненского района, на кафедре микробиологии и эпизоотологии, в научно-исследовательской лаборатории УО «ГГАУ». Объектом исследования являлись коровы белорусской черно-пестрой породы лактационного и предзапускового периодов и секрет вымени коров. Микробиологические исследования молока выполнялись согласно Методическим указаниям по бактериологическому исследованию молока и секрета вымени сельскохозяйственных животных, утвержденным ГУВ с ГВ и ГПИ МСХ и П РБ 17.06.2008. Пробы молока отбирали в стерильные пробирки. Для посева использовали агаровые питательные среды. Секрет вымени здоровых и больных маститом коров высевали в разведении 1:10 и 1:100 соответственно. В качестве питательных сред использовали МПА, КМПА, ЖСА, среду Эндо и Среду Сабуро. Посевы инкубировали в термостате при $t = 37^{\circ}\text{C}$ в аэробных условиях в течение 24 часов и в течение 48 при температуре 28°C часов для обнаружения грибов рода *Candida*. Из колоний делали мазки, использовали простые (генцианвиолет, фуксин), сложные (по Грамму) методы окраски и микроскопировали.

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводили методом диффузии в агар (метод дисков). Для выявления коров, больных субклиническим маститом, предварительно секрет вымени исследовали с помощью быстрого маститного теста.

Результаты исследований и их обсуждение. Нами были отобраны пробы молока от здоровых лактирующих коров и коров перед запуском, больных субклиническим и клиническим маститом. При бактериологическом исследовании секрета вымени животных данных групп нами была выделена следующая микрофлора: стафилококк (*Staph. aureus*, *Staph. epidermidis*), стрептококк (*Streptococcus* sp.), энте-

робактерии (*E. coli*), грибы рода *Candida*. Всего было исследовано 41 проба молока от коров, больных субклиническим и клиническим маститом из пяти молочнотоварных ферм и комплексов трёх хозяйств.

Из общего количества исследованных бактериологически проб молока от больных маститом животных в 75,6% случаев выявлена патогенная и условно-патогенная микрофлора. В секрете вымени коров, больных скрытым маститом, этот показатель составил 75%, а из молока коров, больных клиническим маститом, патогенная и условно-патогенная микрофлора была выделена в 76,5% случаев. Из общего числа проб с выделенной микрофлорой 74,2% составили микроорганизмы рода *Staphylococcus*, в группе коров, больных субклиническим маститом, — 66,7%, в группе коров с клиническим маститом — 84,7%, стрептококки — 12,9%, в общем при скрытом мастите — 22,2%, в секрете коров, больных явным маститом, микрофлора рода *Streptococcus* не была выявлена. Кишечная палочка была выделена в 6,5% проб в целом, при субклиническом и клиническом мастите этот показатель составил 5,6 и 7,7% соответственно. В 3,2% случаев из проб молока коров были выявлены грибы рода *Candida*, в 5,6% случаев они были выделены из секрета вымени коров, больных скрытым маститом. В 3,2% случаев в молоке больных коров были выявлены ассоциации микрофлоры.

Что касается возбудителей мастита, выделенных от коров в различные периоды лактации, то из общего количества исследованных бактериологически проб молока от больных маститом животных в начале-середине лактации и в конце лактации (запуск) патогенная и условно-патогенная микрофлоры была выделена в 78,1% и 66,7% случаев соответственно. Процентное соотношение проб молока с выделенными возбудителями мастита в зависимости от времени лактации представлено в таблице 1.

Таблица 1 — Микрофлора, выделенная из секрета вымени больных маститом коров, в зависимости от времени лактации

Выделенная микрофлора	Выявлено проб молока с возбудителями								Всего проб
	Начало и середина лактации				Конец лактации (запуск)				
	Клинич. мастит		Субклинич. мастит		Клинич. мастит		Субклинич. мастит		
	количество проб	%	количество проб	%	количество проб	%	количество проб	%	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Staphylococcus</i> spp.	9	69,2	8	66,7	3	100	3	100	23
<i>Streptococcus</i> sp.	2	15,4	2	16,7	0	0	0	0	4
<i>E. coli</i>	1	7,7	1	8,3	0	0	0	0	2

Продолжение таблицы 1

	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Candida</i> sp.	0	0	1	8,3	0	0	0	0	1
Ассоциации	1	7,7	0	0	0	0	0	0	1
Всего выявлено проб с возбудителями	13	81,3	12	75,0	3	75,0	3	60,0	31
Всего было отобрано проб	16		16		4		5		41

Как показывают данные таблицы 1, из общего количества проб молока, отобранных от коров с клиническим маститом, в 81,3% случаев выявлена патогенная и условно-патогенная микрофлора, от коров, больных субклиническим маститом, – в 75% случаев. Микрофлора рода *Staphylococcus* выделена из молока коров начала и середины лактации, больных клиническим маститом в 69,2% случаев, от коров со скрытым маститом – в 66,7%. Стрептококки выделены в 15,4 и 16,7%, кишечная палочка в 7,7 и 8,3% соответственно. Из секрета вымени коров с субклиническим маститом в 8,3% проб выявлены дрожжевые грибы рода *Candida*. В 7,7% случаев в молоке коров, больных клиническим маститом, обнаружены ассоциации микроорганизмов.

В молоке коров, находящихся в конце лактации (перед запуском и в запуске), патогенная и условно-патогенная микрофлора выделена в 75 и 60% с клиническим и субклиническим маститом соответственно. Причём в 100% таких проб обнаружены стафилококки.

Чувствительность выделенной микрофлоры к антибактериальным препаратам представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Чувствительность выделенных культур из молока коров, больных маститом, к антибактериальным препаратам

Антибактериальный препарат	<i>Staphylococcus</i> , n=10			<i>Streptococcus</i> , n=4			Энтеробактерии, n=3		
	устойчивые, %	малочувствительные, %	чувствительные и высокочувствительные, %	устойчивые, %	малочувствительные, %	чувствительные и высокочувствительные, %	устойчивые, %	малочувствительные, %	чувствительные и высокочувствительные, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Гентамицин	20	20	60	-	-	-	-	-	100
Неомицин	14,3	28,6	57,1	-	-	-	45,3	0	54,7
Цефалексин	10	20	70	0	0	100	14,5	85,5	0
Пенициллин	80	20	0	50	0	50	66,6	0	33,4
Канамидин	0	14,3	85,7	50	50	0	66,6	0	33,4

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ампициллин	22,2	11,1	66,7	0	0	100	75	25
Линкомицин	0	50	50	0	0	100	80	0
Доксициклин	12,5	0	87,5	-	-	-	0	50
Цефазолин	0	0	100	100	0	0	0	75
Ципрофлоксацин	14,3	28,3	57,1	0	0	100	-	-
Триметоприм	0	50	50	-	-	-	50	50
Рифампицин	25	0	75	0	0	100	0	0
Левомецетин	0	25	75	0	0	100	0	0

Как видно из таблицы 2, стафилококковые культуры в большинстве своём оказались чувствительны и высокочувствительны к цефазолину (100%), доксициклину гидрохлориду (87,5%), канамицину (85,7%), рифампицину и левомецетину (по 75%), ампициллину (66,7%), ципрофлоксацину, неомицину (по 57,1%). Малочувствительной микрофлора рода *Staphylococcus* оказалась к линкомицину и триметоприму – в 50% случаев, ципрофлоксацину (28,3%), неомицину (28,6%). Наибольшее количество устойчивых культур данного рода отмечено к пенициллину – в 80% случаев.

Стрептококки, выделенные из молока коров, больных маститом, оказались чувствительны и высокочувствительны к цефалексину, ампициллину, линкомицину, ципрофлоксацину, рифампицину, левомецетину – в 100% случаев. 50% выделенных культур были малочувствительны к канамицину. Устойчивость этих культур отмечена к цефазолину (100%), канамицину и пенициллину (по 50%).

Энтеробактерии (в частности *E. coli*), выделенные из молока больных коров, были чувствительны и высокочувствительны к гентамицину, рифампицину, левомецетину (по 100%), малочувствительны к цефалексину (85,5%), цефазолину (75%), доксициклину и триметоприму (по 50%). Устойчивость данной микрофлоры выявлена к линкомицину (80%), ампициллину (75%), пенициллину и канамицину в 66,6% рифампицину (50%).

В целом большая часть культур, выделенных от больных маститом коров, оказалась чувствительной к левомецетину (84,6%), рифампицину (83,3%) и доксициклину (80%), цефазолину (71,4%). Больше половины выделенных возбудителей оказались также чувствительны к гентамицину (66,7%), ципрофлоксацину (66,7%), цефалексину (61,5%), канамицину и ампициллину (по 58,3%), линкомицину (55,6%). В большинстве своём малочувствительными и устойчивыми оказались культуры к неомицину (18,2 и 36,4%), пенициллину (26,7 и 66,6%) триметоприму (50 и 12,5%) соответственно. Наибольшая устойчивость

выделенной микрофлоры отмечена к пенициллину – 66,6%, причём к этому же препарату в 20% случаев выявлена зависимость микрофлоры.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что наиболее частыми возбудителями маститов коров лактационного и предзапускового периодов являются микробы рода *Staphylococcus*. Выявлены препараты, к которым данная микрофлора и другие возбудители в большинстве своём чувствительны. Однако не обнаружено ни одного антибактериального препарата, к которому все выделенные возбудители оказались бы чувствительны, а ко многим часто применяемым препаратам в ветеринарной практике обнаружена малая чувствительность и устойчивость микробов. Поэтому имеет смысл для лечения и профилактики маститов коров применять комбинацию препаратов с учётом их чувствительности к выделенной микрофлоре.

Заключение. Из общего количества исследованных бактериологически проб молока от больных маститом животных в 75,6% случаев выявлена патогенная и условно-патогенная микрофлора. В начале и середине лактации эта цифра составила 78,1%, в конце (перед запуском и запуск) – 66,7%. Из общего числа проб с выделенной микрофлорой 74,2% составили микроорганизмы рода *Staphylococcus*, стрептококки были выявлены – 12,9%, кишечная палочка – в 6,5% проб, в 3,2% случаев из проб молока коров были выявлены грибы рода *Candida*. Большая часть культур, выделенных от больных маститом коров, оказалась чувствительной к левомицетину, рифампицину и доксициклину, цефазолину. Малочувствительны и устойчивы оказались культуры к неомицину, пенициллину, триметоприму. Наибольшая устойчивость выделенной микрофлоры отмечена к пенициллину – 66,6%, причём к этому же препарату в 20% случаев выявлена зависимость микрофлоры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баймишева, Д. Ш. Видовой состав микрофлоры молочной железы при маститах / Д. Ш. Баймишева, Л. А. Коростелева, С. В. Кристойть // Зоотехния. - 2008. - № 11. - С. 26-28.
2. Иващура, А.И. Система мероприятий по борьбе с маститами коров / Иващура А.И. - М.: Росагропромиздат, 1991. - 240 с.
3. Ковальчук, С. Н. Распространение и этиология маститов у коров в ряде регионов Республики Беларусь / С. Н. Ковальчук, В. В. Петров, Н. В. Баркалова // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: сб. научных трудов / Белорусская государственная сельскохозяйственная академия. - Горки, 2008. - Вып. 11, Ч. 2. - С. 255-261.
4. Кузьмин, Г. Мастит коров как факторная инфекция / Г. Кузьмин // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2010. - № 10. - С. 30-31.
5. Кузьмич, Р. Г. Проблемы маститов у коров в хозяйствах Республики Беларусь и пути их решения / Р. Г. Кузьмич, О. В. Кузьмич // Ученые записки УО "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины" - 2005. - Том 41, Вып. 2, Ч. 3. - С. 29 – 31.
6. Модин, А.Н. Применение неодоксимаста для профилактики и терапии субклинического мастита у коров в период запуска и сухостоя: автореф. ... дис. канд. вет наук. 06.02.06 / А.Н. Модин. - Воронеж. - 2010. - 22 с.

7. Оксамитный, Н.К. Бактериологическая диагностика мастита / Н.К. Оксамитный, Эдн Таб Мохамед // Ветеринария. – 1989. – №7. – С. 50 – 52.
8. Черепихина, Л. Динамика циркуляции патогенов мастита и антисептическая обработка вымени / Л. Черепихина // Молочное и мясное скотоводство. – 2007. – № 2. – С. 37-39.
9. Bedada, B. Mastitis and antimicrobial susceptibility test at Asella, Oromia Regional State, Ethiopia / B Bedada, A. Hiko // Journal of Microbiology and Antimicrobials. – 2011. – Vol. 1, № 9. – P. 228 - 232.
10. Preliminary bacterial study on subclinical mastitis and teat condition in dairy herds at Shiraz / M. Haghkhah [et al] // Journal of Veterinary & Animal Sciences. – 2011. – Vol. 3, № 6. – P. 387-394.
11. Risk factors associated with bacteriological cure, new infection, and incidence of clinical mastitis after dry cow therapy with three different antibiotics / Y. Gundelach [et al] // Journal of Veterinary Science. – 2011. – Vol. 12, № 3. – P. 227-233.
12. Yeasts isolation from bovine mammary glands under different mastitis status in the Mexican High Plateau. C. Zaragoza [et al] // Revista Iberoamericana de Micología – 2011. – Vol. 28, № 2. – P. 79-82.