Вішован Ю. Ю.

УДК 619:616.98:579.861.2

ДОСЛІДЖЕННЯ НА ВМІСТ *STAPHYLOCOCCUS SPP*. МОЛОКА ВІД ХВОРИХ НА СУБКЛІНІЧНИЙ МАСТИТ КОРІВ.

Ю. Ю. ВІШОВАН, аспірант*

Українська лабораторія якості і безпечності продукції АПК

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: anatomi1991@gmail.com

Анотація. *Одним із найнебезпечніших захворювань для молочних стад є стафілококовий мастит. Із секретом молочної залози збудник розповсюджується у довкіллі і доволі довго знаходяться у повітрі, воді, ґрунті, на різноманітних предметах вжитку, які можуть бути факторами передачі збудника для сприйнятливих особин. Метою слугувало дослідити на вміст стафілококів молока, відібраного від здорових і хворих на субклінічний мастит корів. Досліджували 160 проб молока від здорових та хворих на субклінічний мастит корів з 2 господарств Київської та господарства з Хмельницької областей. Дослідження проб та виділення чистої культури проводили методом Дригальського на щільному поживному середовищі агар Беард-Паркера.*

Всього досліджено 160 проб; виділено культури стафілококів у 59 пробах, що становить 36,9 %, у тому числі із 14 проб молока від корів, хворих на субклінічний мастит із господарства Хмельницької області мікроорганізми з роду Staphylococcus spp. було виявлено у 2 випадках, що складає 14,29 %. В 16 пробах молока хворих субклінічним маститом корів з господарства Київської області стафілококи також були виявлені у 2 випадках що становить 12,5 %. Ще в одному господарстві Київської області з відібраних 130 проб стафілококи виявили у 41 випадку що становить 31,5 %. З них від клінічно здорових тварин стафілококи виділено у 31,7 % випадків а від хворих на субклінічний мастит у 68,3 %.

Із 160 проб молока від клінічно здорових та хворих на субклінічний мастит корів виділено 59 культур мікроорганізмів, що були ідентифіковані як представники роду Staphylococcus. Напрямами наших подальших досліджень будуть: наступна видова їх ідентифікація, вивчення біологічних властивостей стафілококів – реакції плазмокоагуляції, ферментації маніту; визначення антибіотикорезистентності виділених штамів, здатності до біоплівкоутворення.

Ключові слова: *стафілокок, молоко, субклінічний мастит*

Актуальність. Мастити корів є гострою проблемою для молочної галузі в усьому світі. Захворювання приймає різні форми, кожна з яких має свої

*Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, член-кореспондент НААН В. О. Ушкалов

особливості на будь-якій окремо взятій молочній фермі. Одним з найнебезпечніших для молочних стад є стафілококовий мастит. Із секретом молочної залози збудник розповсюджується у довкіллі і доволі довго знаходяться у повітрі, воді, ґрунті, на різноманітних предметах вжитку, які можуть бути факторами передачі збудника для сприйнятливих особин. Навіть за наявних розроблених методів пастеризації молока з вмістом стафілококів не всі суб'єкти господарювання мають відповідні пастеризатори та умови для роздільного доїння молока від хворих на субклінічний мастит корів. У зв'язку з чим можна припустити, що частина молока від корів із субклінічним маститом потрапляє в загальне молоко, а якщо технічні умови господарства дозволяють доїти таких корів окремо то це молоко для зменшення економічних збитків після відповідної пастеризації або у сирому вигляді йде на випоювання телятам. Випоювання не пастеризованого молока із вмістом стафілококів призводить до захворювань телят, а також поширення популяції мікроорганізмів серед тварин і обслуговуючого персоналу. Важливо враховувати, що при спалахах харчових токсикоінфекцій серед людей, найчастіше факторами передачі стафілококів є контаміновані продукти тваринництва (молоко, м`ясо, риба). Якраз вивченню можливої присутності у молоці хворих на субклінічний мастит корів стафілококів і були присвячені наші дослідження.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Стафілококовий мастит надзвичайно поширений у всьому світі. У 1989 році в Нідерландах було встановлено, що у стадах із низьким умістом у молоці соматичних клітин (Менше 150 000 кл/мл) випадки клінічного маститу із присутністю S. aureus становили 9,6 %. В Італії між січнем 2000 року і груднем 2001 року у 41 молочному стаді був зібраний 74 651 зразок молока, при цьому найбільш часто серед виявлених бактерій були коагулазо-негативні стафілококи (33 %), а S. aureus був виявлений у 20 проб. В Ірландії під час дослідження зразків молока з 15 молочних стад домінуючими бактеріями були виявлені S. aureus і S. uberis, які становили відповідно 21 % і 19 % проб. У Польщі з 4560 зразків, узятих у 2005 році у 2907 корів в 118 стадах позитивними на S. aureus,

виявились 15,6 %. Подібна інформація наводиться також і по країнах Північної та Південної Америки, Океанії та свідчить про значне поширення і високого ступеня патогенності стафілококового маститу [1].

Мета роботи – дослідження на вміст стафілококів молока, відібраного від здорових і хворих на субклінічний мастит корів.

Матеріали і методи дослідження. Для дослідження було відібрано 146 проб від корів із 2 господарств Київської області та 14 проб із господарства у Хмельницькій області. Бактеріологічні дослідження проводили з використанням готового комерційного поживного середовища агар Беард-Паркера методом Дригальського.

Результати дослідження та їх обговорення. Секрет вимені відбирали після ретельного туалету молочної залози без застосування антисептичних засобів і здоювання перших цівок молока у стерильний скляний посуд [2]. Матеріал доставляли в УЛЯБП АПК і проводили бактеріологічні дослідження за такої принципової схеми. Стафілококи виділяли шляхом десятикратних розведень проб молока з послідуючим посівом їх на щільне середовище агар Беард-Паркера. Для цього в готове комерційне середовище після стерилізації автоклавуванням за температури 121 ^{0}С та після охолодження до температури 40 ^{0}С додавали 2 % розчин телуриту калію та яєчну емульсію. Розливали ву стерильні чашки Петрі. Вносили по 0,1 мл інокулята в кожну чашку Петрі і розтирали шпателем Дригальського.

Культивували упродовж 48 годин за температури 37 ^{0}с. Проводили облік типових та нетипових колоній. Типові колонії чорні чи сірі, блискучі і випуклі (від 1 мм до 105 мм в діаметрі після інкубації через 24 год і 1,5-2,5 мм в діаметрі після інкубації через 48 год) і оточені чистою зоною. Після інкубації через 24 год може у цій зоні виникнути опалесценція кільця, одразу після контакту з колоніями. Нетипові колонії мають таку морфологію: блискучі чорні колонії з/або без вузького білого краю; чиста зона відсутня чи ледь помітна і опалесцентне кільце відсутнє чи ледь помітне, або сірі колонії без чистих зон [3].

Відбирали типові і нетипові колонії і готували мазки для фарбування за Грамом. Виявляли грам-позитивні бактерії сферичної форми, які траплялися у формі скупчень, що нагадують виноград, нерухомі, не утворюють спор [4].

Чисту культуру виділяли за методом Дригальського спочатку на поверхню щільного середовища агар Беард-Паркера в чашці Петрі піпеткою або петлею наносили досліджуваний матеріал. За допомогою скляного шпателя його ретельно втирали у середовище. Чашку під час посіву тримали привідкритою і обережно обертали, щоб рівномірно розподілити матеріал. Не стерилізуючи шпателя, проводили ним посів матеріалу в другій та третій чашці Петрі [5].

Отриману чисту культуру пересівали на скошений МПА. Для диференціації стафілококів від мікроорганізмів роду Micrococcus проводили визначення реакції розщеплення глюкози в анаеробних умовах. Так як мікрококи є облігатними аеробами а стафілококи факультативними анаеробами то вони на відміну від мікрококів будуть ферментувати глюкозу в анаеробних умовах. Під час ферментації в анаеробних умовах утворюється молочна кислота яка знижує pH в кислу сторону і індикатор змінює свій колір. Для цього використовували готове комерційне напіврідке поживне середовище Гісса з глюкозою. Посів проводили петлею уколом в стовпчик, зверху нашаровували 1,5 мл стерильної вазелінової олії для створення анаеробних умов. Читку реакції проводили щодня протягом п’яти діб, позитивною вважали реакцію коли відбувалася зміна кольору стовпчика середовища 2/3 його висоти [6].

Всього досліджено 160 проб; виділено культури стафілококів у 59 пробах, що становить 36.9 %. В тому числі з 14 проб молока від корів хворих на субклінічний мастит з господарства Хмельницької області мікроорганізми з роду *Staphylococcus spp.* було виявлено у 2 випадках, що складає 14.29 %. В 16 пробах молока хворих субклінічним маститом корів з господарства Київської області стафілококи також були виявлені у 2 випадках що становить 12.5 %. Ще в одному господарстві Київської області з відібраних 130-ти проб стафілококи

виявили у 41 випадку що становить – 31.5 %. З них від клінічно здорових тварин стафілококи виділено у 31.7 % випадків а від хворих на субклінічний мастит у 68.3 %.

Висновки. З 160 проб молока від клінічно здорових та хворих на субклінічний мастит корів виділено 59 культур мікроорганізмів що, були ідентифіковані як представники роду Staphylococcus. Напрямками наших подальших досліджень будуть: наступна видова їх ідентифікація, вивчення біологічних властивостей стафілококів – реакції плазмокоагуляції, ферментації маніту; визначення антибіотикорезистентності виділених штамів, здатності до біоплівкоутворення.

Список літератури

1. Стафилококковый мастит коров / Д. Никулин - Нивы Зауралья №6 (128) Июль 2015
2. Микробилогические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине. Справочное пособие / А.Н. Головко, В.А. Ушкалов, В.Г. Скрыпник, Б.Т. Стегний и др.: Под ред. А.Н. Головко. – Х. «НТМТ», 2007. – 512 с.: ил. 12, табл. 62.
3. ДСТУ ISO 6888-1:2003 Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Горизонтальний метод підраховування коагулазо-позитивних стафілококів (staphylococcus aureus та інших видів). Частина 1. Метод з використовуванням агарового середовища Беард-Паркера.
4. Краткий определитель бактерий Берги. В 2-х т. Т 2: Пер. с анг. / Под ред. Дж.Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997. – 368 с., ил.
5. Климнюк С.І., Ситник І.О., Творко М.С., Широбоков В.П. Практична мікробіологія: Посібник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. –440 с.
6. Приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 n 535 "Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико - диагностических лабораториях лечебно - профилактических учреждений".

Referens

1. Nikulin D. (2015). Stafilokokkovyy mastit korov [Staphylococcus mastitis of cows]. Nivy Zauralia, 6 (128), 74-77.
2. Golovko A.N. ed. (2007). Mikrobilogicheskiye i virusologicheskiye metody issledovaniy v veterinarnoy meditsine [Microbiological and virological methods of research in veterinary medicine]. Kharkiv: NTMT, 512.

3. DSTU ISO 6888-1:2003 Mikrobiolohiia kharchovykh produktiv ta kormiv dlia tvaryn. Horyzontalnyi metod pidrakhovuvannia koahulazo-pozytyvnykh stafilokokiv (Staphylococcus aureus ta inshykh vydiv). Chastyna 1. Metod z vykorystovuvanniam aharovoho seredovyshcha Beard-Parkera (ISO 6888-1:1999, IDT) [Microbiology of food and animal feed. Horizontal method for counting coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species). Part 1. The method of using the Beard-Parker agar medium (ISO 6888-1:1999, IDT)]

4. Khoult Dzh. ed. (1997). Kratkiy opredelitel bakteriy Bergi [Short determinant of bacteria Bergi], Moscow: Mir, 368.

5. Klymniuk, S. I., Sytnyk, I. O., Tvorko, M. S., Shyrobokov, V. P.(2004). Praktychna mikrobiolohiia [Practical microbiology]. Ternopil: Ukrmedkniga, 440.

6. Prikaz Minzdrava SSSR ot 22.04.1985 n 535 (2000) "Ob unifikatsii mikrobiologicheskikh (bakteriologicheskikh) metodov issledovaniya. primenyayemykh v kliniko - diagnosticheskikh laboratoriyakh lechebno - profilakticheskikh uchrezhdeniy" [Order of the Ministry of Health of the USSR of 22.04.1985 n 535 "On the unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical diagnostic laboratories of medical and preventive institutions"], Kharkiv, 36.

ИССЛЕДОВАНИЕ НА СОДЕРЖАНИЕ STAPHYLOCOCCUS SPP. МОЛОКА ОТ БОЛЬНЫХ СУБКЛИНИЧЕСКИМ МАСТИТОМ КОРОВ

Ю. Ю. Вишован

Анотация. *Одним из самых опасных заболеваний для молочных стад является стафилококковый мастит. С секретом молочной железы возбудитель распространяется в окружающей среде, и довольно долго находится в воздухе, воде, почве, на различных бытовых предметах, которые могут быть факторами передачи возбудителя для восприимчивых особей. Исследование на содержание стафилококков в молоке, отобранном от здоровых и больных субклинический мастит коров. Материалы и методы. Исследовали 160 проб молока от здоровых и больных субклиническим маститом коров с 2 х хозяйств Киевской и хозяйства из Хмельницкой областей. Исследования проб и выделение чистой культуры проводили методом Дрыгальского на плотной питательной среде агар Беард-Паркера. Всего исследовано 160 проб выделено культуры стафилококков в 59 пробах, что составляет 36.9 %. В том числе с 14 проб молока от коров больных на субклинический мастит из хозяйства Хмельницкой области микроорганизмы из рода Staphylococcus spp. было обнаружено в 2-х случаях, что составляет 14.29 %. В 16 пробах молока больных субклиническим маститом коров из хозяйства Киевской области стафилококки также были обнаружены в 2-х случаях что составляет 12.5 %. Еще в одном хозяйстве Киевской области из отобранных 130-ти проб стафилококки обнаружили в 41 случае что составляет – 31.5 %. Из них от клинически здоровых животных стафилококки*

выделено в 31.7 % случаев, а от больных на субклинический мастит в 68.3 %. Из 160 проб молока от клинически здоровых и больных субклиническим маститом коров выделено 59 культур микроорганизмов, которые были идентифицированы как представители рода Staphylococcus. Направлением наших дальнейших исследований будут: следующая видовая их идентификация, изучение биологических свойств стафилококков – реакции плазмокоагуляции, ферментации маннита; определения антибиотикорезистентности выделенных штаммов, способности к созданию биопленок.

Ключевые слова: *стафилококк, молоко, субклинический мастит*

RESEARCH ON THE CONTENT OF STAPHYLOCOCCUS SPP. MILK FROM PATIENTS WITH SUBCLINICAL MASTITUDE OF COWS

Y. Y. Vishovan

Abstract. *One of the most dangerous diseases for dairy herds is staphylococcal mastitis. With the secretion of the mammary gland, the pathogen spreads in the environment, and is long enough in the air, water, soil, on various items of consumption, which can be the factors of transmission of the pathogen to susceptible individuals. Studies on the staphylococcal content of milk, selected from healthy and patients with subclinical mastitis of cows. Materials and methods. We examined 160 samples of milk from healthy and patients with subclinical mastitis of cows from 2 farms of Kyiv and farms in Khmelnytskyi oblasts. The research of samples and the allocation of pure culture was carried out by the Drigalsky method on a dense nutrient medium of the Beard-Parker agar. A total of 160 samples were investigated; Staphylococcus cultures were isolated in 59 samples, which is 36.9%. Including from 14 samples of milk from cows suffering from subclinical mastitis from the Khmelnytsky region microorganisms of the genus Staphylococcus spp. was detected in 2 cases, which is 14.29%. In 16 samples of milk of patients with subclinical mastitis of cows from the economy of the Kiev region, staphylococci were also detected in 2 cases, which is 12.5%. In another farm of the Kiev region of selected 130 samples staphylococci were found in 41 cases, which is - 31.5%. Of these, from clinically healthy animals, staphylococci were isolated in 31.7% of cases and from patients with subclinical mastitis in 68.3%. Conclusions of the 160 samples of milk from clinically healthy and patients with subclinical mastitis of cows, 59 cultures of microorganisms were identified that were identified as representatives of the genus Staphylococcus. The directions of our further research will be: the next type of their identification, the study of the biological properties of staphylococci - the reaction of plasma coagulation, fermentation of mannitol; determination of antibiotic resistance of isolated strains, ability to biofilm formation.*

Keywords: *staphylococcus, milk, subclinical mastitis*