



Ветеринария Veterinary science

DOI: 10.22363/2312-797X-2025-20-4-618-634

EDN CDLWKU

УДК 619:636.2: 616–07:637.12.04/07:618.19-002

Научная статья / Research article

Применение разных методов исследования секрета молочной железы коров при диагностике мастита

М.Н. Исакова  , Н.А. Безбородова ,
Я.Ю. Лысова , О.Ю. Опарина 

Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения
Российской академии наук, г. Екатеринбург, Российская Федерация
 Tmarya105@yandex.ru

Аннотация. Приведены данные анализа применения разных методов исследования секрета молочной железы (СМЖ) коров при диагностике мастита. Исследования проводили в течение 2023 г. Объект исследования — лактирующие коровы и СМЖ. Уровень мастита у коров от общего количества обследованных животных при первом исследовании составил 36,6 %, при повторном — количество животных со скрытым воспалением в молочной железе увеличилось на 3,4 %. При первом исследовании у 63,3 % коров молоко по уровню соматических клеток (СК) соответствовало высшему сорту (до 250 тыс./мл), у 8,3 % коров, имеющих клиническое воспаление в молочной железе, установили СК свыше 750 тыс./мл. Минимальное значение лактоферрина в СМЖ на момент первого исследования составило 0,25 мг/мл, а максимальное — 3,5 мг/мл. Средний уровень лактоферрина в молоке составил 1,62 мг/мл. При проведении второго исследования наблюдали увеличение минимального и максимального значения содержания лактоферрина в СМЖ до 0,69 и 4,1 мг/мл соответственно. На момент первого исследования максимальное отклонение от референтных значений показателя мочевины в СМЖ составило $35,15 \pm 0,45$ мг/100 мл, минимальное — $14,18 \pm 0,18$ мг/100 мл. При первом исследовании количество коров с отклонением от референтных значений в сторону уменьшения или увеличения показателя мочевины составило 38,3 %, через 7 дней — 46,7 %. Из СМЖ выделили следующие микроорганизмы: бактерии группы кишечной палочки (38,9 %), *Staphylococcus aureus* (38,9 %), *Enterococcus faecalis* (22,2 %) при использовании культурального

© Исакова М.Н., Безбородова Н.А., Лысова Я.Ю., Опарина О.Ю., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

метода исследования; при ПЦР-исследовании *Staphylococcus spp.* (55,6 %), *Staphylococcus aureus* (22,2 %), *Escherichia coli* (22,2 %). Повторное исследование ПЦР-методом показало наличие *Pseudomonas aeruginosa* в 46,2 % проб; методом MALDI-TOF — *Streptococcus dysgalactiae* — в 36,4, *Staphylococcus epidermidis* — 18,2, *Aerococcus viridans* — 18,2, *S. aureus* — 9,1, *Staphylococcus haemolyticus* — 9,1, *Corynebacterium pseudotuberculosis* — 9,1 % проб; также установили изменения в соотношении выделенных бактерий. Определение чувствительности к антибиотикам с помощью диско-диффузионного метода позволило установить резистентность у единично выделенных изолятов *C. pseudotuberculosis* к бензилпенициллину, *S. dysgalactiae* — тетрациклину, *S. aureus* — бензилпенициллину, амоксициллину. При проведении второго исследования у 2,2 % выявленных изолятов *P. aeruginosa* обнаружены гены *blaVIM* и *blaNDM*, отвечающие за устойчивость к карбапенемам.

Ключевые слова: лактирующие коровы, молоко, воспаление, диагностика, соматические клетки, мочевины, лактоферрин, культуральный метод, ПЦР-исследование, масс-спектрометрия

Вклад авторов: Исакова М.Н. — концепция и дизайн исследования, отбор биологического материала, анализ полученных данных, написание текста; Безбородова Н.А. — отбор биологического материала, проведение ПЦР-исследований, написание текста; Лысова Я.Ю. — проведение микробиологических исследований, анализ полученных данных; Опарина О.Ю. — постановка ИФА на лактоферрин, анализ полученных данных. Все авторы ознакомились с окончательной версией рукописи и одобрили ее.

Финансирование. Исследования проведены в рамках государственного задания Минобрнауки России по теме 0532–2021–0009 «Разработка биологических технологий управления здоровьем животных и прижизненного формирования качества продукции животноводства и птицеводства».

Заявления о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

История статьи: поступила в редакцию 31 июля 2025 г., принята к публикации 5 сентября 2025 г.

Для цитирования: Исакова М.Н., Безбородова Н.А., Лысова Я.Ю., Опарина О.Ю. Применение разных методов исследования секрета молочной железы коров при диагностике мастита // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2025. Т. 20. № 4. С. 618–634. doi: 10.22363/2312-797X-2025-20-4-618-634 EDN: CDLWKU

Application of various methods for studying the secretion of the bovine mammary gland in the diagnosis of mastitis

Maria N. Isakova  , Natalya A. Bezborodova ,
Yana Y. Lysova , Olga Y. Oparina 

Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy
of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation
 Tmarya105@yandex.ru

Abstract. The study presents data on the analysis of the application of various methods for examining mammary gland secretions in cows for the diagnosis of mastitis. The studies were conducted during 2023. The object of the study was lactating cows and the secretion of their mammary gland. The prevalence of mastitis in cows during the study was 36.6%; during the repeated examination, the number of animals with latent inflammation of the mammary gland increased by 3.4%. At the time of the first examination, 63.3% of cows had milk of the highest grade in terms of somatic cell (SC) count (up to 250 thousand cells/ml). In 8.3% of cows with clinical mastitis, an increase in SC count over 750 thousand cells/ml was recorded. The minimum lactoferrin

concentration in mammary gland secretions during the first examination was 0.25 mg/ml, and the maximum was 3.5 mg/ml; the mean value was 1.62 mg/ml. During the second examination, an increase in both the minimum and maximum lactoferrin concentrations was observed, reaching 0.69 mg/ml and 4.1 mg/ml, respectively. At the time of the initial study, the maximum deviation of urea concentration from reference values in the mammary gland secretion of cows was 35.15 ± 0.45 mg/100 ml, and the minimum was 14.18 ± 0.18 mg/100 ml. During the repeated examination, the proportion of cows showing deviations from reference urea values (either decreased or increased) was 38.3%, and 46.7% after 7 days. Microbiological analysis of mammary gland secretions revealed the following microorganisms: coliform bacteria (38.9%), *Staphylococcus aureus* (38.9%), *Enterococcus faecalis* (22.2%), using the cultural research method; taphylococcus spp. (55.6%), *S. aureus* (22.2%), and *Escherichia coli* (22.2%) using PCR, with repeated testing showing the presence of *Pseudomonas aeruginosa* in 46.2% of samples; and *Streptococcus dysgalactiae* (36.4%), *Staphylococcus epidermidis* (18.2%), *Aerococcus viridans* (18.2%), *S. aureus* (9.1%), *Staphylococcus haemolyticus* (9.1%) and *Corynebacterium pseudotuberculosis* (9.1%) using the MALDI-TOF method. Repeated examination using these methods revealed an increase in microbial species diversity and changes in the proportions of isolated bacteria. Antibiotic susceptibility testing using the disk diffusion method revealed resistance in individual isolates of *C. pseudotuberculosis* to benzylpenicillin, *S. dysgalactiae* to tetracycline, *S. aureus* to benzylpenicillin and amoxicillin. During the repeated study, 2.2% of the identified isolates of *P.aeruginosa* were found to carry the *blaVIM* and *blaNDM* genes associated with carbapenem resistance.

Key words: lactating cows, milk, mastitis, diagnostics, somatic cells, urea, lactoferrin, culture method, PCR testing, mass spectrometry

Authors' contribution: Isakova M.N. — study concept and design, collection of biological material, data analysis, writing the manuscript; Bezborodova N.A. — collection of biological material, PCR testing, writing the manuscript; Lysova Ya.Yu. — microbiological testing, data analysis; Oparina O. Yu. — lactoferrin ELISA, data analysis.

Funding. The research was conducted within the framework of the state assignment of the Ministry of Education and Science of Russia on topic 0532–2021–0009 “Development of biological technologies for animal health management and intravital formation of the quality of livestock and poultry products”. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Article history: received 31 July 2025; accepted 5 September 2025.

For citation: Isakova MN, Bezborodova NA, Lysova YaYu, Oparina OYu. Application of various methods for studying the secretion of the bovine mammary gland in the diagnosis of mastitis. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*. 2025;20(4):618–634. (In Russ.). doi: 10.22363/2312-797X-2025-20-4-618-634 EDN: CDLWKU

Введение

Мастит — воспалительная реакция тканей молочной железы у коров в ответ на механические, химические и биологические воздействия, которые обычно проявляются в сочетании с предрасполагающими к заболеванию факторами, например наличием у животных анатомических и функциональных аномалий молочной железы, наследственной предрасположенностью к маститу, нарушением иммунного статуса, наличием воспалительных заболеваний репродуктивных органов и др. [1–4]. Независимо от первопричины, вызывающей воспалительный процесс в молочной железе коров, мастит всегда протекает при активном участии микрофлоры [5, 6], проникновение которой чаще всего происходит лактогенным путем. Токсины, выделяемые микроорганизмами,

повреждают железистую ткань и протоки молочной железы. Молоко от коров, страдающих маститом, может представлять опасность для здоровья человека и молодняка крупного рогатого скота за счет наличия токсинов, повышенного содержания соматических клеток (СК) и бактериальной обсемененности, а также присутствия остатков антимикробных препаратов, используемых в терапии мастита [7]. В связи с этим более точная и ранняя диагностика мастита является актуальным мероприятием в ветеринарной практике. Наибольшую проблему для молочного животноводства составляет субклинический мастит, при котором регистрируют скрыто протекающее воспаление без проявления клинических признаков, однако происходит разрушение эпителиальных клеток альвеол вымени, непосредственно участвующих в образовании молока. За счет рецепторов лактоциты высвобождают из кровеносных сосудов, окружающих альвеолу, питательные вещества и превращают их в молочный белок, лактозу и жир, в результате при воспалительном процессе в молочной железе наблюдается не только снижение продуктивности, но и снижение качества получаемого молока. Секрет молочной железы (СМЖ) коров — ценный биологический материал для применения различных диагностических методов [8, 9]. В диагностике мастита наряду с традиционными исследованиями СМЖ, включающими подсчет СК и культивирование микроорганизмов, все чаще используются дополнительные методы, позволяющие определить мочевины, лактоферрин, белки острой фазы, в частности амилоид А в молоке коров [10–15]. Определение вышеперечисленных показателей в секрете вымени дает возможность на более ранних стадиях заподозрить наличие воспаления в молочной железе, что позволяет установить более тщательный контроль за данными животными, усилить профилактические и лечебные мероприятия, направленные на предотвращение мастита, тем самым минимизировать экономический ущерб.

Цель исследования — провести комплексное исследование СМЖ коров с применением экспресс и лабораторных методов и установить их роль в диагностике мастита. Поставлены следующие задачи: провести клиническую и экспресс-диагностику форм мастита; определить такие показатели СМЖ, как СК, мочевины, лактоферрин; провести исследования разными методами с целью определения наличия или отсутствия в пробах СМЖ микроорганизмов, способных вызывать мастит; определить гены резистентности к гликопептидам, цефалоспорином, карбопенемам, β -лактамам; установить наличие или отсутствие остаточных количеств антибиотиков β -лактаманной и тетрациклиновой групп.

Материалы и методы исследования

Работу проводили в течение 2023 г. в отделе репродуктивной биологии и неонатологии и лаборатории микробиологических и молекулярно-генетических методов исследования Уральского НИВИ — структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН.

Объект исследования — лактирующие коровы, СМЖ коров.

Схема эксперимента. Мастит диагностировали в соответствии с Наставлением по диагностике терапии и профилактике мастита у коров¹. Клиническую форму мастита устанавливали с помощью клинического обследования молочной железы. Для диагностики субклинической формы мастита использовали экспресс-тест «Кенотест» (CID LINES, Бельгия). Всего на мастит исследовали 60 животных, содержащихся в сельскохозяйственной организации Свердловской области. Исследования проводили двухкратно с интервалом в 7 дней. Также от коров во время утреннего доения отбирали СМЖ. Отбор проб СМЖ осуществляли в одноразовых перчатках, непосредственно перед взятием молока соски вымени коровы и руки протирали ватным тампоном, смоченным 76 % этиловым спиртом. Сбор образцов начинали с ближних сосков молочной железы. Первые струйки СМЖ сдаивали в контрольную кружку. Затем надаивали 20...30 мл альвеолярного молока в заранее промаркированные контейнеры, при этом отслеживали, чтобы сосок не касался стенок контейнера. Отобранный материал помещали в термос со льдом и в течение 2–3 ч доставляли в лабораторию для микробиологических и ПЦР-исследований, определения количества СК, лактоферрина. Определение мочевины в СМЖ проводили во время доения коров параллельно с отбором проб для лабораторных исследований, для этого во второй контейнер отбирали около 10...15 мл молока и полностью погружали тест-полоску с нанесенным реагентом на 90 секунд до окрашивания, затем вынимали полоску и удаляли избыток молока бумажной салфеткой. После этого сравнивали цвет полоски с цветовой шкалой. Результаты фиксировали на бумажный носитель. По окончании доения животных отбирали пробу сборного молока для исследования на наличие остаточных веществ.

Оборудование и технические средства. Количество СК определяли на анализаторе молока вискозиметрического «Соматос-Мини» (Костип, Россия) с добавлением расходного материала препарата Мастоприм (Сибагроприбор, Россия).

Концентрацию лактоферрина определяли с помощью набора ИФА Elisa kit for the quantitative determination of Bovine lactoferrin (Bio-X Diagnostics, Бельгия).

Для экспресс-диагностики уровня мочевины в молоке использовали тест-полоски (Vet-MUN; Teco Diagnostics, США).

Наличие остаточных веществ в СМЖ устанавливали с помощью экспресс-теста Delvotest BLF для определения остаточных количеств антибиотиков β -лактамной группы (пенициллины, цефалоспорины) (DSM Food Specialties, Нидерланды) и Delvotest SP-NT для определения β -лактамной и тетрациклиновой группы (DSM Food Specialties, Нидерланды).

Бактериологическое и микологическое исследование СМЖ: из проб делали посевы на жидкие и плотные агаризованные питательные среды: мясо-пептонный бульон (МПБ), бульон для выделения стрептококков, Энтерококкагар, среду Эндо, среду № 10, среду Чапека, среду Сабуро, Висмут-сульфит агар, Цетримидный агар, среду Левина, среду Плоскирева (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия), 5 % агар с кровью

¹ Семиволос А.М., Авдеенко В.С., Гавриш В.Г. Рекомендации по диагностике, терапии и профилактике маститов у коров. Саратов : Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, 2009. 71 с. EDN: WCWFMFV

барана (основа Колумбийский агар, Bio-Rad, Франция); кровь барана дефибринированная (E&O Laboratories, пр-во Шотландия), желточно-солевой агар (питательный агар для культивирования микроорганизмов ГРМ-агар, ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия), хромогенный агар (UriSelect 4, Bio-Rad, Франция) и агар Сабуро с 2% глюкозой и хлорамфениколом (SIFIN diagnostics, Германия). Идентификацию выделенных изолятов проводили путем посева на среды Гисса с сахарами («пестрый ряд»), руководствуясь определителем бактерий Берджи и определителем патогенных и условно-патогенных грибов, с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии (время пролетная матрично-ассоциированная лазерная десорбционная ионизационная масс-спектрометрия) на приборе Vitek MS (BioMérieux, Франция) (60 проб). Чувствительность к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом по стандартной методике, описанной EUCAST, а также с использованием инструкций к тест-системам. Критерии для интерпретации категорий чувствительности по EUCAST: Clinical breakpoints — bacteria (v 13.0).

Исследование СМЖ также проводили в режиме реального времени методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на приборе Rotor Gene-3000 (Corbett Research, Австралия) с использованием комплекта реагентов тест-систем «ВЕТ-СКРИН. Стрептопол-В», «ВЕТСКРИН. Стафипол», «ВЕТСКРИН. Колипол», «ВЕТСКРИН. Стрептопол» (IDS-LAB, Москва). Также использовали наборы реагентов для выявления ДНК *E.faecalis/faecium* и типирования VanA/VanB генов резистентности к гликопептидам, ДНК *E. coli* blaSTX-M и blaOXA-10 генов резистентности к цефалоспорином, ДНК *Pseudomonas aeruginosa* с определением генов устойчивости к карбопенемам (гены blaVIM и blaNDM); выявления и дифференциации ДНК *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus spp.* и MecA гена резистентности к бета-лактамам, ДНК *Enterobacter spp.* и blaGes генов резистентности к карбопенемам и blaDNA генов резистентности к защищенным пенициллинам и цефалоспорином; выделения ДНК *Klebsiella pneumoniae* и генов blaKPC и blaOXA48-like, отвечающих за резистентность к карбопенемам.

Статистическую обработку проводили с использованием пакетов анализа Microsoft Excel 2007, Statistica 6.0.

Результаты исследования и обсуждение

При обследовании молочной железы коров, содержащихся в одной технологической группе, с целью диагностики мастита установили, что уровень воспалительных заболеваний вымени составил 36,6 %, при этом в большинстве случаев выявляли скрытую форму мастита (28,3 %), клиническую форму зарегистрировали у 8,3 % обследованных коров. На момент первого исследования количество пораженных долей молочной железы субклиническим и клиническим маститом составило соответственно 10,4 и 2,9 % от общего количества обследованных долей молочной железы коров.

При проведении повторного исследования (через 7 дней) количество животных со скрытым воспалением в молочной железе увеличилось на 3,4 % и составило

31,7 %, при этом также наблюдали увеличение уровня пораженных долей до 11,3 %. Количество коров с диагностированной клинической формой мастита сократилось до 5,0 % за счет применения данным животным терапии, в состав которой входили антимикробные препараты по установленной в сельскохозяйственной организации схеме (табл. 1).

Таблица 1

Заболееваемость коров маститом, $n = 60$

Период	Исследовано		Субклинический мастит				Клинический мастит			
	коров	долей	коров	%	долей	%	коров	%	долей	%
Первое исследование	60	240	17	28,3	25	10,4	5	8,3	7	2,9
Второе исследование			19	31,7	27	11,3	3	5,0	4	1,7

Источник: выполнено М.Н. Исаковой.

Table 1

Incidence of mastitis in cows, $n = 60$

Period	Examined		Subclinical mastitis				Clinical mastitis			
	cows	lobes	cows	%	lobes	%	cows	%	lobes	%
First examination	60	240	17	28.3	25	10.4	5	8.3	7	2.9
Second examination			19	31.7	27	11.3	3	5.0	4	1.7

Source: compiled by M.N. Isakova.

СК являются индикатором воспалительного процесса, их количественное определение в секрете вымени коров является одним из основных показателей, который широко используется сельскохозяйственными организациями для оценки здоровья вымени и качества молока. Проведенные нами исследования на технологической группе животных показали, что на момент первого исследования согласно ГОСТ Р 52054–2023² у 63,3 % коров молоко по уровню СК соответствовало высшему сорту (до 250 тыс./мл). Количество СК в СМЖ с диапазоном от 251...400 тыс./мл (второй сорт) и от 401...750 тыс./мл (третий сорт), регистрировали у 11,7 и 16,7 % коров соответственно. Молоко от данных животных поступало в общий молокопровод. У 8,3 % коров, имеющих клиническое воспаление в молочной железе, установили повышение СК свыше 750 тыс./мл, доение производили в отдельную емкость с последующей утилизацией молока (табл. 2).

² ГОСТ Р 52054–2023. Молоко коровье сырое. Технические условия. М., 2023.

Таблица 2

Уровень соматических клеток в секрете молочной железы коров, $n = 60$

Показатель		Первое исследование		Второе исследование	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Соматические клетки, тыс./мл	до 250	38	63,3	35	58,3
	251...400	7	11,7	8	13,3
	401...750	10	16,7	11	18,3
	свыше 750	5	8,3	6	10,0

Источник: выполнено М.Н. Исаковой.

Table 2

Somatic cell count in cow mammary gland secretion, $n = 60$

Indicator		First examination		Second examination	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Somatic cells (thousand cells/ml)	to 250	38	63.3	35	58.3
	251...400	7	11.7	8	13.3
	401...750	10	16.7	11	18.3
	over 750	5	8.3	6	10.0

Source: compiled by M.N. Isakova.

Известно, что лактоферрин в молоке повышается раньше, чем СК, так как является белком острой фазы воспаления, следовательно, количественные изменения лактоферрина в молоке могут свидетельствовать о более ранних патологических процессах, происходящих в молочной железе. Определение данного показателя в качестве диагностического критерия также начинает внедряться в практику животноводства, например в связи с доступностью на российском рынке разработанных в 2018 г. бельгийскими учеными наборов иммуноферментного анализа (Bovine Lactoferrin ELISA Kit) или создания программного обеспечения, включающего калибровки на лактоферрин для лабораторных приборов (Bentley DairySpec 250 Combi). Анализ полученных нами результатов первого исследования показал, что минимальное значение лактоферрина в СМЖ коров составило 0,25 мг/мл, а максимальное — 3,5 мг/мл, средний уровень лактоферрина в молоке коров составил 1,62 мг/мл. Во втором исследовании наблюдали увеличение минимального и максимального значения содержания лактоферрина в СМЖ коров до 0,69 и 4,1 мг/мл соответственно, средний уровень лактоферрина в молоке коров составил 2,48 мг/мл (табл. 3). При этом количество животных с отклонением от референтных значений в сторону увеличения показателя на момент исследования составило 48,3 %, через 7 дней — 51,7 %. Следовательно, у 3,4 % коров с момента первого исследования в молочной железе наблюдалось усугубление воспалительного процесса в вымени.

Таблица 3

**Содержание соматических клеток, мочевины
и лактоферрина в молоке коров, $n = 60$**

Характеристики показателя	Первое исследование	Второе исследование
Соматические клетки, тыс./мл		
Мин. – макс.	165–1500	104–1500
Среднее арифм.	409	540
Лактоферрин, мг/мл		
Мин. – макс.	0,25–3,5	0,69–4,1
Среднее арифм.	1,62	2,48
Мочевина, мг/100мл		
Мин. – макс.	14,18–35,15	14,86–36,05
Среднее арифм.	18,15	25,74

Источник: выполнено М.Н. Исаковой.

Table 3

Somatic cell count, urea and lactoferrin in cow milk, $n = 60$

Performance indicator	First examination	Second examination
Somatic cells, thousand cells/ml		
Min – max	165–1500	104–1500
Arithmetic mean	409	540
Lactoferrin, mg/ml		
Min – max	0.25–3.5	0.69–4.1
Arithmetic mean	1.62	2.48
Urea, mg/100 ml		
Min – max	14.18–35.15	14.86–36.05
Arithmetic mean	18.15	25.74

Source: compiled by M.N. Isakova.

Анализ результатов исследований уровня лактоферрина предполагает, что проведение усиленных профилактических мероприятий у животных с пограничными значениями уровня лактоферрина по данным первого исследования в дальнейшем могло бы позволить снизить количество животных с воспалительными процессами в молочной железе.

Среднее значение показателя мочевины в молоке коров в зависимости от периода исследования составило 18,15 и 25,74 мг/100мл. При этом минимальное и максимальное значение мочевины находилось на уровне 14,18 и 35,15 мг/100 мл соответственно на момент первого исследования, и 14,86 и 36,05 мг/100 мл — второго (см. табл. 3). На момент первого исследования максимальное отклонение от референтных значений показателя мочевины в СМЖ коров составило $35,15 \pm 0,45$ мг/100 мл, минимальное — $14,18 \pm 0,18$ мг/100 мл. При повторном исследовании значение максимального и минимального отклонения составило $36,05 \pm 0,12$ и $14,86 \pm 0,21$ мг/100 мл соответственно. Количество коров с откло-

нением от референтных значений в сторону уменьшения или увеличения показателя мочевины на момент исследования составило 38,3 %, через 7 дней — 46,7 % (табл. 4).

Таблица 4

Анализ показателей мочевины и лактоферрина в молоке коров, $n = 60$

Период	Референтное значение(интервал)	Отклонение от референтных значений $M \pm m$		Количество животных с отклонением от референтных значений	
		Макс	Мин	n	%
Мочевина, мг/100мл					
Первое исследование	15,0...30,0	35,15 ± 0,45	14,18 ± 0,18	23	38,3
Второе исследование		36,05 ± 0,12	14,86 ± 0,21	28	46,7
Лактоферрин, мг/мл					
Первое исследование	0,05...1,00	3,50 ± 0,24	–	29	48,3
Второе исследование		4,10 ± 0,18	–	31	51,7

Источник: выполнено М.Н. Исаковой.

Table 4

Analysis of urea and lactoferrin parameters in cows' milk, $n = 60$

Period	Reference value (interval)	Deviation from reference values $M \pm m$		Number of animals with deviation from reference values	
		Max	Min	n	%
Urea, mg/100 ml					
First examination	15.0–30.0	35.15 ± 0.45	14.18 ± 0.18	23	38.3
Second examination		36.05 ± 0.12	14.86 ± 0.21	28	46.7
Lactoferrin, mg/ml					
First examination	0.05–1.00	3.50 ± 0.24	–	29	48.3
Second examination		4.10 ± 0.18	–	31	51.7

Source: compiled by M.N. Isakova.

Результаты, полученные с использованием культурального метода, показали наличие в пробах СМЖ коров бактерий группы кишечной палочки (38,9 %), золотистый стафилококк (38,9 %) и фекальный энтерококк (22,2 %). При ПЦР-исследовании в большинстве случаев выделяли *Staphylococcus spp.* (55,6 %), в одинаковом количестве в пробах секрета вымени коров обнаружили *S. aureus* и *E. coli* (22,2 %). Использование метода MALDI-TOF (масс-спектрометрия) позволило выделить

более широкий спектр бактерий в изучаемых пробах: *S. dysgalactiae* (36,4 %), *S. epidermidis* (18,2 %), *A. viridans* (18,2 %), *S. aureus* (9,1 %), *S. haemolyticus* (9,1 %), *C. pseudotuberculosis* (9,1 %). При проведении повторного исследования установили изменение соотношения выделенных бактерий. Так при использовании культурального метода исследования из проб выделяли следующие изоляты: *S. aureus* (33,3 %), бактерии группы кишечной палочки (БГКП) (22,2 %), *E. faecalis* (14,8 %), *Mucor* (14,8 %), *Streptococcus spp.* (11,1 %), *Aspergillus spp.* (3,7 %). Метод ПЦР-исследования в равном количестве позволил выделить *P. aeruginosa* и *Staphylococcus spp.* (46,2 %). При идентификации микроорганизмов методом MALDI-TOF в 45,5 и 27,3 % обнаруживали *S. dysgalactiae* и *S. aureus* соответственно, в минимальном количестве случаев были выделены *C. pseudotuberculosis* (9,1 %), *S. epidermidis* (9,1 %), *A. viridans* (9,1 %) (рис. 1).

Применение культурального метода и масс-спектрометрии позволило определить концентрацию выделенных изолятов микроорганизмов, способных сформировать полноценную микробную колонию. Так на момент первого исследования этиологически значимыми в развитии воспалительных реакций в молочной железе коров при использовании культурального метода установили БГКП, *S. aureus* *E. faecalis* в диагностическом титре более 10^3 КОЕ/мл. При использовании масс-спектрометрии установили этиологическую значимость *S. epidermidis* при количестве микробных клеток 10^4 КОЕ/мл. При повторном исследовании (культуральный метод) у изолятов *S. aureus* наблюдали увеличение количества колониеобразующих единиц в 1 мл исследуемой пробы (КОЕ/мл) до уровня 10^7 (табл. 5).

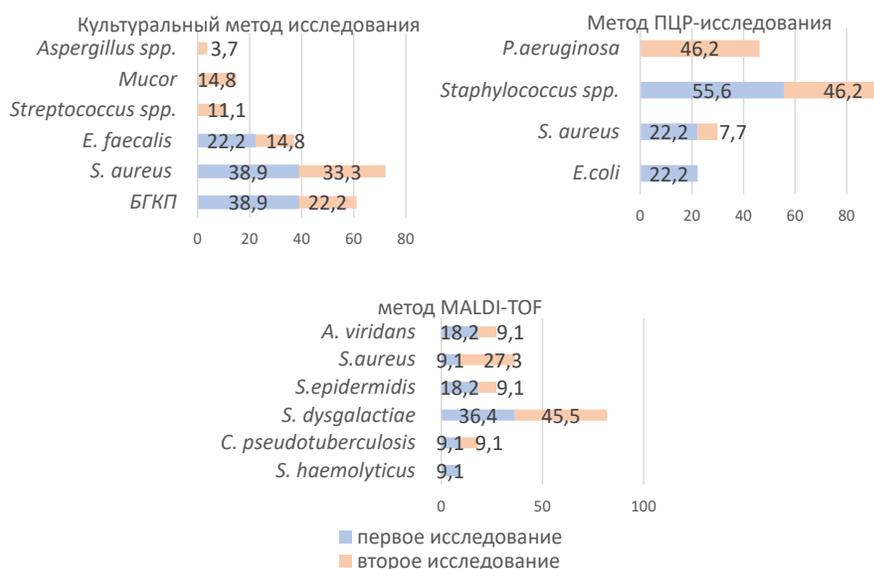


Рис. 1. Выделенные изоляты микроорганизмов из проб секрета молочной железы коров при использовании разных методов исследования

Источник: выполнено М.Н. Исаковой.

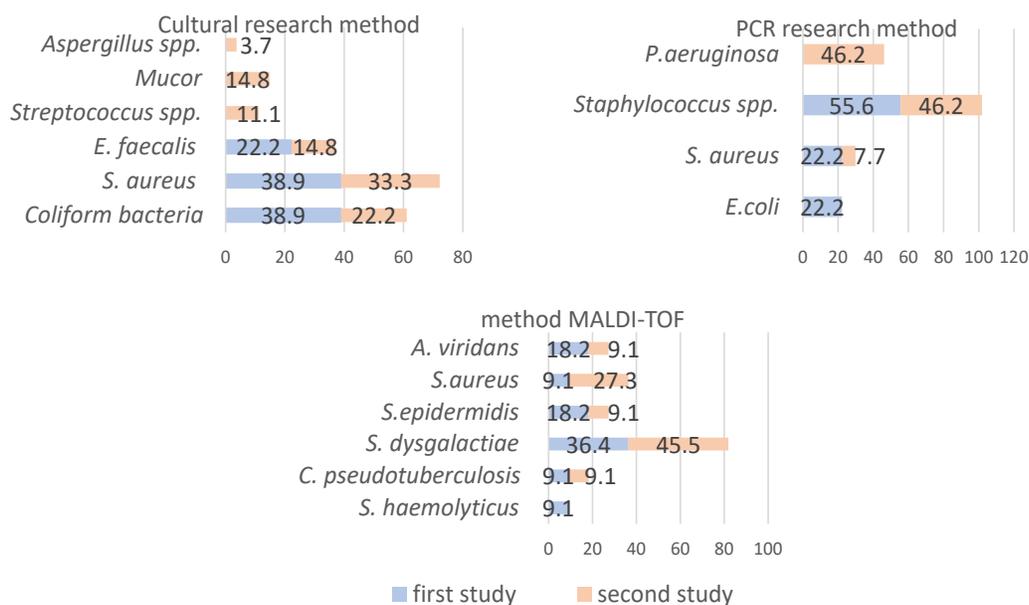


Fig. 1. Isolated microorganisms from cow mammary gland secretion samples using different research methods

Source: compiled by M.N. Isakova.

Таблица 5

Количество колониобразующих единиц выделенных изолятов микроорганизмов при использовании разных методов исследования

Метод идентификации бактерий	Изолят	Значение КОЕ/мл	Первое исследование	Второе исследование
			Доля, %	
Культуральный	БГКП	10 ¹	42,9	–
		10 ²	14,3	50,0
		10 ³	14,3	50,0
		10 ⁴	14,3	–
		10 ⁶	14,3	–
	<i>S. aureus</i>	10 ²	62,5	33,3
		10 ³	37,5	22,2
		10 ⁴	–	11,1
		10 ⁵	–	11,1
		10 ⁷	–	22,2
	<i>E. faecalis</i>	10 ²	25,0	–
		10 ³	50,0	50,0
		10 ⁴	25,0	50,0

Окончание табл. 5

Метод идентификации бактерий	Изолят	Значение КОЕ/мл	Первое исследование	Второе исследование
			Доля, %	
Масс-спектрометрия	<i>S. haemolyticus</i>	10 ³	9,1	–
	<i>C. pseudotuberculosis</i>	10 ³	9,1	9,1
	<i>S. dysgalactiae</i>	10 ³	36,4	45,5
		10 ⁴	18,2	9,1
	<i>S. epidermidis</i>	10 ³	9,1	27,3
	<i>S. aureus</i>	10 ³	18,2	9,1
	<i>viridans</i>	10 ²	9,1	–

Источник: выполнено М.Н. Исаковой.

Table 5

Number of colony-forming units of isolated microorganisms using different research methods

Method of identification of bacteria	Isolate	CFU/ml	First examination	Second examination
			Lobe, %	
Cultural	<i>Coliform bacteria</i>	10 ¹	42.9	–
		10 ²	14.3	50.0
		10 ³	14.3	50.0
		10 ⁴	14.3	–
		10 ⁶	14.3	–
	<i>S. aureus</i>	10 ²	62.5	33.3
		10 ³	37.5	22.2
		10 ⁴	–	11.1
		10 ⁵	–	11.1
		10 ⁷	–	22.2
	<i>E. faecalis</i>	10 ²	25.0	–
		10 ³	50.0	50.0
		10 ⁴	25.0	50.0
Mass spectrometry	<i>S. haemolyticus</i>	10 ³	9.1	-
	<i>C. pseudotuberculosis</i>	10 ³	9.1	9.1
	<i>S. dysgalactiae</i>	10 ³	36.4	45.5
		10 ⁴	18.2	9.1
	<i>S. epidermidis</i>	10 ³	9.1	27.3
	<i>S. aureus</i>	10 ³	18.2	9.1
	<i>viridans</i>	10 ²	9.1	–

Source: compiled by M.N. Isakova.

При определении чувствительности к антибиотикам с помощью диско-диффузионного метода зарегистрировали резистентность у единично выделенных изолятов *C. pseudotuberculosis* к бензилпенициллину, *S. dysgalactiae* — тетрациклину, *S. aureus* — бензилпенициллину, амоксициллину.

Метод ПЦР на момент первого исследования позволил выявить отсутствие у выделенных изолятов микроорганизмов генов резистентности к гликопептидам, цефалоспорином, карбопенемам, бета-лактамам, защищенным пенициллинам. Повторным исследованием у 2,2 % выявленных изолятов *P. aeruginosa* обнаружены гены *blaVIM* и *blaNDM*, отвечающие за устойчивость к карбопенемам. При определении остаточных веществ в сборном молоке с помощью экспресс-теста Delvotest BLF и SP-NT установили отсутствие антибиотиков β-лактамной группы (пенициллины, цефалоспорины) и тетрациклиновой группы.

Заключение

Исследования СМЖ коров играют важную роль в диагностике мастита. Для более раннего обнаружения воспалительного процесса в вымени коров возможно определение лактоферрина в молоке, так как его содержание повышается раньше, чем количество СК. Лактоферрин относится к белкам острой фазы воспаления и достаточно быстро реагирует на нарушения гомеостаза, что проявляется увеличением его уровня. Подсчет СК в СМЖ используется в практике как наиболее простой и доступный метод диагностики воспалительных заболеваний молочной железы коров. Определение отклонений в содержании мочевины в секрете вымени животных может служить дополнительным методом диагностики воспалительных заболеваний молочной железы за счет того, что при мастите в организме коров наблюдаются метаболические изменения, которые влияют на образование и выделение мочевины с молоком, например снижение усвояемости сырого протеина и нарушение баланса азота. Так же исследования мочевины в молоке позволят выявить животных с нарушениями обмена веществ на более ранних стадиях их возникновения. Применение исследований СМЖ коров разными методами, используемыми для выделения микроорганизмов, позволит получить более обширные данные о возбудителях, способных вызывать развитие мастита у коров. Культуральный метод наиболее эффективен для идентификации микроорганизмов, хорошо растущих на питательных средах, метод ПЦР применим для выделения трудно культивируемых, некультивируемых и скрыто существующих форм бактерий. Масс-спектрометрия обеспечивает высокую точность и разнообразие видовой идентификации микроорганизмов. Своевременное определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам и определение генов резистентности позволит подобрать наиболее эффективные препараты для лечения. Контроль остаточных веществ в пробах сборного молока необходим для снижения экономических потерь, связанных с выбраковкой молока. Таким образом, комплексное применение разных методов исследования СМЖ коров позволит диагностировать мастит,

оценив его стадию и течение, и как можно быстрее применить профилактические и эффективные лечебные мероприятия.

Список литературы

1. Ладанова М.А., Джавадов Э.Д., Племяшов К.В., Стекольников А.А., Новикова О.Б. Современный взгляд на этиологию, патогенез и диагностику мастита у коров // Международный вестник ветеринарии. 2021. № 4. С. 29–34. doi: 10.52419/issn2072-2419.2021.4.29 EDN: LAPHJE
2. Зверев Е.В., Зуев Н.П. Распространение и этиология маститов у лактирующих коров // Актуальные вопросы ветеринарной медицины и зоотехнии : материалы Нац. науч. конф. студентов и аспирантов, посв. 85-летию проф. В.П. Кулаченко. Майский, 2022. С. 212–213. EDN: SWSZNU
3. Осолкова М.В., Кузьмина Э.В. Этиология мастита и его взаимосвязь с гинекологическими заболеваниями крупного рогатого скота // Известия оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 4 (48). С. 86–88. EDN: SUCQYT
4. Fredebeul-Krein F., Schmenger A., Wente N., Zhang Y., Krömker V. Factors Associated with the Severity of Clinical Mastitis // Pathogens. 2022. Vol. 11. № 10. P. 1089. doi: 10.3390/pathogens11101089 EDN: AQOOEO
5. Филатова А.В., Тшивале Б.М., Федотов С.В., Авдеенко В.С., Климов Н.Т. Инфекционный фактор в этиологии мастита у высокопродуктивных лактирующих коров // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. 2022. Т. 58. № 4. С. 86–91. doi: 10.52368/2078-0109-2022-58-4-86-91 EDN: RBUKFW
6. Соколова О.В., Зубарева В.Д. Сравнение микробиоты репродуктивного пути и молочной железы коров по данным секвенирования гена 16S Р РНК // Материалы Междунар. науч. конф. «Наука, техника и инновационные технологии в период возрождения новой эпохи могущественного государства». Ашхабад, 2022. С. 280–282. EDN: VWMMIU
7. Соколова О.В., Шкуратова И.А., Безбородова Н.А., Кожуховская В.В. Антибиотикорезистентность микробиоты молочной железы и репродуктивного тракта коров // Ветеринария. 2021. № 9. С. 10–15. doi: 10.30896/0042-4846.2021.24.9.10-15 EDN: MQJJHF
8. Мищенко А.В., Гулюкин А.М., Оганесян А.С., Мищенко В.А., Гулюкин М.И., Лопунов С.В., Заболотная И.М. Использование проб молока при эпизоотическом контроле болезней крупного рогатого скота // Аграрная наука. 2023. № 5. С. 27–32. doi: 10.32634/0869-8155-2023-370-5-27-32 EDN: CXGEKW
9. Часовицкова М.А., Губанов М.В. Состав молока как элемент контроля здоровья стада // Аграрный вестник Урала. 2022. № 11 (226). С. 70–79. doi: 10.32417/1997-4868-2022-226-11-70-79
10. Семиволос А.М., Лоцинин С.О., Агольцов В.А., Семиволос С.А., Падило Л.П. Оценка эффективности мастит-тестов для диагностики субклинического мастита у коров // Аграрный научный журнал. 2024. № 2. С. 79–82. doi:10.28983/asj.y2024i2pp79-82 EDN: FTTEEY
11. Сермягин А.А., Лашнева И.А., Косицин А.А., Игнатъева Л.П., Артемьева О.А., Зёлкнер Й., Зиновьева Н.А. Морфологический состав соматических клеток в молоке как критерии оценки здоровья молочной железы в связи с продуктивностью и компонентами молока // Сельскохозяйственная биология. 2021. Т. 56. № 6. С. 1183–1198. doi: 10.15389/агробология.2021.6.1183рус EDN: FQDYAH
12. Shabu S., Henna W., Umer A., Mudasir A. Mastitis and its diagnosis: A review // Recent Research Trends in Veterinary Sciences and Animal Husbandry. 2018. P. 69–86. doi:10.22271/ed.book01.a06
13. Ashraf A., Imran M. Diagnosis of bovine mastitis: from laboratory to farm // Tropical Animal Health and Production. 2018. Vol. 50. № 9. P. 1193–1202. doi: 10.1007/s11250-018-1629-0 EDN: NBLYZU
14. Jaeger S., Virchow F., Torgerson P.R., Bischoff M., Biner B., Hartnack S., Rüegg S.R. Test characteristics of milk amyloid A ELISA, somatic cell count, and bacteriological culture for detection of intramammary pathogens that cause subclinical mastitis // Journal of Dairy Science. 2017. Vol. 100. № 9. P. 7419–7426. doi: 10.3168/jds.2016-12446
15. Adkins P.R.F., Middleton J.R. Methods for Diagnosing Mastitis // Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 2018. Vol. 34. № 3. P. 479–491. doi: 10.1016/j.cvfa.2018.07.003

References

1. Ladanova MA, Dzhavadov ED, Plemiashov KV, Stekol'nikov AA, Novikova OB. Modern view on the etiology, pathogenesis and diagnosis of mastitis in cows. *International bulletin of Veterinary Medicine*. 2021;(4):29–34. (In Russ.). doi: 10.52419/issn2072-2419.2021.4.29 EDN: LAPHJE
2. Zverev EV, Zuev NP. Rasprostranenie i etiologiya mastitov u laktiruiushchikh korov [Prevalence and etiology of mastitis in lactating cows]. *Aktual'nye voprosy veterinarnoi meditsiny i zootehnii. Materialy Natsional'noi nauchnoi konferentsiia studentov i aspirantov, posviashchennoi 85-letiiu professora V.P. Kulachenko. Maiskii*. 2022:212–213. (In Russ.). EDN: SWSZNU
3. Oskolkova MV, Kuz'mina EV. Etiology of mastitis and its relationship with gynecological diseases of cattle. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2014;(4):86–88. (In Russ.). EDN: SUCQYT
4. Fredebeul-Krein F, Schmenger A, Wente N, Zhang Y, Krömker V. Factors Associated with the Severity of Clinical Mastitis. *Pathogens*. 2022. 24;11(10):1089. doi: 10.3390/pathogens11101089 EDN: AQOOEO
5. Filatova AV, Tshivale BM, Fedotov SV, Avdeenko VS, Klimov NT. Infectious factor in the etiology of mastitis in highly productive lactating cows. *Transactions of the educational establishment "Vitebsk the Order of "the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine*. 2022;58(4):86–91. (In Russ.). doi: 10.52368/2078-0109-2022-58-4-86-91 EDN: RBUKFW
6. Sokolova OV, Zubareva VD. Sravnenie mikrobiotov reproduktivnogo puti i molochnoi zhelezy korov po dannym sekvenirovaniia gena 16S R RNK [Comparison of the microbiota of the reproductive tract and mammary gland of cows based on 16S R RNA gene sequencing data]. *Materialy mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii «Nauka, tekhnika i innovatsionnye tekhnologii v period vozrozhdeniia novoi epokhi mogushchestvennogo gosudarstva»*. Ashkhabad, 2022:280–282. (In Russ.). EDN: VWMMIU
7. Sokolova OV, Shkuratova IA, Bezborodova NA, Kozhukhovskaia VV. Antibiotic resistance of microbiota of mamary gland and reproductive tract of cows. *Veterinary medicine*. 2021;(9):10–15. (In Russ.). doi: 10.30896/0042-4846.2021.24.9.10-15 EDN: MQJJHF
8. Mishchenko AV, Gulyukin AM, Oganesyan AS, Mishchenko VA, Gulyukin MI, Lopunov SV, Zabolotnaya IM. Use of milk samples in epizootic surveillance of cattle diseases. *Agrarian science*. 2023; (5):27–32. (In Russ.). doi: 10.32634/0869-8155-2023-370-5-27-32 EDN: CXGEKW
9. Chasovshchikova MA, Gubanov MV. Monitoring khimicheskogo sostava moloka kak element kontrolya sostoyaniya zdorov'ya stada [Milk composition as an element of herd health control]. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2022;(11):70–79. (In Russ.). doi: 10.32417/1997-4868-2022-226-11-70-79
10. Semivolos AM, Loshchinin SO, Agol'tsov VA, Semivolos SA, Padilo LP. Evaluation of the effectiveness of mastitis tests for the diagnosis of subclinical mastitis in cows. *The Agrarian Scientific Journal*. 2024;(2):79–82. (In Russ.). doi: 10.28983/asj.y2024i2pp79-82 EDN: FTTEEY
11. Sermiagin AA, Lashneva IA, Kositsin AA, Ignat'eva LP, Artem'eva OA, Zelnik I, Zinov'eva NA. Differential somatic cell count in milk as criteria for assessing cows' udder health in relation with milk production and components. *Agricultural Biology*. 2021;56(6):1183–1198. (In Russ.). doi: 10.15389/agrobiology.2021.6.1183eng EDN: FQDYAH
12. Shabu S, Henna W, Umer A, Mudasir A. Mastitis and its diagnosis: a review. *In book: Recent Research Trends in Veterinary Sciences and Animal Husbandry*. 2018:69–86. doi: 10.22271/ed.book01.a06
13. Ashraf A, Imran M. Diagnosis of bovine mastitis: from laboratory to farm. *Tropical animal health and production*. 2018;50(6):1193–1202. doi: 10.1007/s11250-018-1629-0
14. Jaeger S, Virchow F, Torgerson PR, Bischoff M, Biner B, Hartnack S, Rüegg SR. Test characteristics of milk amyloid A ELISA, somatic cell count, and bacteriological culture for detection of intramammary pathogens that cause subclinical mastitis. *Journal of dairy science*. 2017;100(9):7419–7426. doi: 10.3168/jds.2016-12446
15. Adkins PRF., Middleton JR. Methods for Diagnosing Mastitis. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*. 2018;34(3):479–491. doi: 10.1016/j.cvfa.2018.07.003

Об авторах:

Исакова Мария Николаевна — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела репродуктивной биологии и неонатологии, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, Российская Федерация, 620142, г. Екатеринбург, ул. Белинского, д. 112а; e-mail: tmarya105@yandex.ru

ORCID: 0000-0001-7130-5627 SPIN-код: 7824-9506

Безбородова Наталья Александровна — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, Российская Федерация, 620142, г. Екатеринбург, ул. Белинского, д. 112а; e-mail: n-bezborodova@mail.ru

ORCID: 0000-0003-2793-5001 SPIN-код: 7012-0999

Лысова Яна Юрьевна — заведующая лабораторией микробиологических и молекулярно-генетических методов исследования отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией, старший научный сотрудник, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, Российская Федерация, 620142, г. Екатеринбург, ул. Белинского, д. 112а, e-mail: mikroba.urnivi@mail.ru

ORCID: 0000-0001-6797-0659 SPIN-код: 5808-9197

Опарина Ольга Юрьевна — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и патобиохимии, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, Российская Федерация, 620142, г. Екатеринбург, ул. Белинского, д. 112а, e-mail: olia91oparina@yandex.ru

ORCID: 0000-0001-6106-3003 SPIN-код: 6435-5512

About the authors:

Isakova Maria Nikolaevna — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher, Department of Reproductive Biology and Neonatology, Ural Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky Street, Ekaterinburg, 620142, Russian Federation; e-mail: tmarya105@yandex.ru

ORCID: 0000-0001-7130-5627 SPIN-code: 7824-9506

Bezborodova Natalya Aleksandrovna — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher, Department of Genomic Research and Animal Breeding, Ural Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky Street, Ekaterinburg 620142, Russian Federation; e-mail: n-bezborodova@mail.ru

ORCID: 0000-0003-2793-5001 SPIN-code: 7012-0999

Lysova Yana Yuryevna — Head of the Laboratory of Microbiological and Molecular Genetic Research Methods, Department of Veterinary Laboratory Diagnostics with a Testing Laboratory, Senior Researcher, Ural Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky Street, Ekaterinburg, 620142, Russian Federation; e-mail: mikroba.urnivi@mail.ru

ORCID: 0000-0001-6797-0659 SPIN-code: 5808-9197

Oparina Olga Yuryevna — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Immunology and Pathobiochemistry, Ural Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky Street, Ekaterinburg, 620142, Russian Federation; e-mail: olia91oparina@yandex.ru

ORCID: 0000-0001-6106-3003 SPIN-code: 6435-5512