Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.15421/nvlvet8322
<http://nvlvet.com.ua/>

UDC 636.237.21.082.251:619:618

Distribution of main pathogens of mastitis in cows on dairy farms in the western region of Ukraine

Yu.V. Horiuk¹, M.D. Kukhtyn², Yu.B. Perkiy³, V.V. Horiuk¹

¹State Agrarian and Engineering University in Podilya, Kamianets-Podilskyi, Khmelnytskyi region, Ukraine

²Ternopil Ivan Puluj National Technical University, Ternopil, Ukraine

³Ternopil research station of the Institute of veterinary medicine NAAS, Ternopil, Ukraine

Article info

Received 25.01.2018
Received in revised form
28.02.2018
Accepted 05.03.2018

State Agrarian and Engineering
University in Podilya, Schevchenko
Str., 13, Kamianets-Podilskyi,
Khmelnytskyi region, 32300,
Ukraine.
Tel.: +38-097-661-79-64.
E-mail: goruky@ukr.net

Ternopil Ivan Puluj National
Technical University, Department
of Food Technologies,
Ruska Str., 56, Ternopil, 46001,
Ukraine.
E-mail: kuchtyn@yandex.ua

Ternopil research station of the
Institute of veterinary medicine
NAAS, Trolleybusna Str., 12,
Ternopil, 46027, Ukraine.

Horiuk, Yu.V., Kukhtyn, M.D., Perkiy, Yu.B., & Horiuk, V.V. (2018). Distribution of main pathogens of mastitis in cows on dairy farms in the western region of Ukraine. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. 20(83), 115–119. doi: 10.15421/nvlvet8322

Despite many years of struggle and development of highly effective treatment schemes, mastitis remains the most common disease of dairy herds in all countries of the world. Pathogenic microorganisms are the main cause of mastitis. The purpose of studies was to determine the distribution of main pathogens of mastitis in cows on dairy farms in the western region of Ukraine. Experimental studies were conducted in laboratories of Ternopil Experimental Station of the Institute of Veterinary Medicine of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, State Agrarian and Engineering University in Podilya and on farms of Ternopil, Khmelnytskyi, Chernivtsi and Lviv regions. Diagnostics of mastitis in cows, sampling of secretion of the mammary gland, their delivery to the laboratory and microbiological studies were carried out in accordance with generally accepted methods. Cows were considered to have mastitis with excretion of pathogens from secretion of the mammary gland (coagulase-positive staphylococci, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* and *E. coli*). It has been established that in the period of lactation from secretion of ill quarter of cow's udder, bacteria of the genus *Streptococcus* (47.7%) and *Staphylococcus* (45.5%) are most often isolated, indicating their main etiological role in the emergence of subclinical mastitis. During interlactation period, subclinical mastitis of cows of streptococcal etiology is diagnosed 2.4 times ($P \leq 0.01$) more often than staphylococci and 62.5% respectively. Also, in lactation and interlactation periods, there was subclinical mastitis of mixed etiology (streptococci, staphylococci, coliforms), respectively, in 6.8 and 8.3% of cases. Studies of species composition of microflora of secretion of cow's udder at subclinical mastitis of staphylococcal etiology have shown that coagulase-positive staphylococci, identified by us as *S. aureus* subsp. *aureus*, dominated on dairy farms. In subclinical mastitis of streptococcal etiology during the lactation period, bacteria of the species *S. agalactiae* and *S. dysgalactiae*, to a lesser extent *S. uberis* (5.2%), are isolated in the same number of samples of udder secretion (47.4%). During interlactation period, pathogens *S. agalactiae* at subclinical mastitis of streptococcal etiology are isolated from secretion of cows 1.3 times less, *S. dysgalactiae* – 1.2 times, and bacteria of the species *S. uberis* – 4.4 times more than in lactation period ($P \leq 0.01$). These findings of studies confirm the importance of monitoring the state of health of the breast of cows during lactation and interlactation periods for conduction of effective preventive and curative measures.

Key words: mastitis, pathogens of mastitis, interlactation period, lactation period.

Поширення основних збудників маститу корів на молочних фермах західного регіону України

Ю.В. Горюк¹, М.Д. Кухтин², Ю.Б. Перкій³, В.В. Горюк¹

¹Подільський державний аграрно-технічний університет, м. Кам'янець-Подільський, Україна

²Тернопільський національний технічний університет імені І. Пулюя, м. Тернопіль, Україна

³Тернопільська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини, м. Тернопіль, Україна

Незважаючи на багаторічну боротьбу та розробку високоефективних лікувальних схем, мастит залишається найпоширенішим захворюванням молочного стада у всіх країнах світу. Основною причиною виникнення маститу є патогенні мікроорганізми. Метою досліджень було визначити поширення основних збудників маститу корів на молочних фермах західного регіону України. Експериментальні дослідження проводили в лабораторіях Тернопільської дослідної станції Інституту ветеринарної медицини НААН, Подільському державному аграрно-технічному університеті та господарствах Тернопільської, Хмельницької, Чернівецької та Львівської областей. Діагностику маститу корів, відбір проб секрету молочної залози, доставку їх в лабораторію та мікробіологічні дослідження проводили згідно з загальноприйнятими методиками. Корів вважали хворими на мастит при виділенні збудників з секрету молочної залози (коагулазопозитивні стафілококи, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* та *E. coli*). Встановлено, що у період лактації із секрету хворих четверок вимені корів найчастіше виділяються бактерії роду *Streptococcus* (47,7%) та *Staphylococcus* (45,5%), що свідчить про їх головну етіологічну роль у виникненні субклінічного маститу. У період сухостою субклінічний мастит корів стрептококової етіології діагностується у 2,4 рази ($P \leq 0,01$) частіше ніж стафілококової і відповідно становить 62,5% випадків. Також у період лактації та сухостою спостерігали наявність субклінічного маститу змішаної етіології (стрептококи, стафілококи, коліформи) відповідно в 6,8 і 8,3% випадків. Дослідження видового складу мікрофлори секрету вимені корів при субклінічному маститі стафілококової етіології показали, що на молочних фермах домінував коагулазопозитивний стафілокок, ідентифікований нами як *S. aureus subsp. aureus*. При субклінічному маститі стрептококової етіології у період лактації в однаковій кількості проб секрету вимені (47,4%) виділяються бактерії виду *S. agalactiae* і *S. dysgalactiae*, в меншій мірі *S. uberis* (5,2%). У період сухостою збудники *S. agalactiae* при субклінічному маститі стрептококової етіології виділяються з проб секрету корів у 1,3 рази менше, *S. dysgalactiae* – у 1,2 рази, а бактерії виду *S. uberis* – у 4,4 рази більше, ніж у період лактації ($P \leq 0,01$). Дані результати досліджень підтверджують важливість контролю стану здоров'я молочної залози корів у період сухостою та лактації для проведення ефективних профілактичних і лікувальних заходів.

Ключові слова: мастит, збудники маститів, сухостійний період, лактаційний період.

Вступ

Незважаючи на багаторічну боротьбу та розробку високоефективних лікувальних схем, мастит залишається найпоширенішим захворюванням молочного стада у всіх країнах світу (Blum et al., 2017; Vak-kamaki et al., 2017). Запальні процеси в молочній залозі значно впливають на зниження якісних показників молока та його безпечність (Rahman et al., 2009; Kukhtyn et al., 2016). Якщо у збірному молоці є домішки маститного, у ньому погано розвиваються молочно-кислі бактерії, воно стає непридатним для виготовлення молочних продуктів. Таке молоко є джерелом поширення патогенних мікроорганізмів та їх токсинів (Kukhtyn et al., 2017).

Основною причиною виникнення маститу є патогенні мікроорганізми (Tenhagen et al., 2006; Taponen et al., 2017). Етіологічний спектр збудників маститу дуже широкий. Відомо понад 140 видів і підвидів потенційних патогенів, які можуть викликати запалення молочної залози. Найбільш поширеними збудниками є: патогенні стрептококи, *Staphylococcus aureus*, деякі види коагулазонегативних стафілококів (CNS), *Escherichia coli* та інші (Ruegg et al., 2015; Martins et al., 2017). Ці бактерії здатні виробляти стійкість до антимікробних препаратів. При цьому вони стають практично нечутливими для більшості антибіотиків. Після неефективного лікування такі корови часто стають безсимптомними носіями антибіотикорезистентних штамів бактерій (Tenhagen et al., 2006; Botrel et al., 2010).

Розповсюдження патогенних мікроорганізмів, які викликають мастит, може відрізнятися в різних країнах, регіонах та навіть стадах (Grohn et al., 2004; Lago et al., 2011; Sharma et al., 2017). У розвинутих країнах проводиться реєстрація та облік етіологій маститу та ветеринарних процедур на корів чи стада в загальній системі. Проте в Україні дана інформація відсутня або реєструється лише на рівні стада. Тому визначення етіологічної ролі розвитку маститу в корів має важливе значення для ефективного лікування та контролю даного захворювання.

Мета дослідження. Метою досліджень було визначити поширення основних збудників маститу корів на молочних фермах західного регіону України.

Матеріал і методи досліджень

Експериментальні дослідження проводили в лабораторіях Тернопільської дослідної станції Інституту ветеринарної медицини НААН, Подільському державному аграрно-технічному університеті та господарствах Тернопільської, Хмельницької, Чернівецької та Львівської областей.

Діагностику маститу корів, відбір проб молока і секрету молочної залози, доставку їх в лабораторію та мікробіологічні дослідження проводили згідно з загальноприйнятими методиками. Корів вважали хворими на мастит при виділенні збудників з секрету молочної залози (коагулазопозитивні стафілококи, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* та *E. coli*). Для виділення мікроорганізмів проводили посіви проб на середовища: стафілококів – *BD Baird-Parker Agar* (HiMedia, Індія); коліформних бактерій – агар Ендо (Фармактив, Україна), стрептококів – *Streptococcus Selection Agar* (HiMedia, Індія). Культивування проводили за температури 37 °C, результати оцінювали через 24–48 годин. Ідентифікацію чистих культур проводили за морфологічними, тинкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями, які описані у визначнику бактерій Берджі (Vos et al., 2011).

Результати та їх обговорення

Результати досліджень поширення маститу у різні фізіологічні періоди корів наведено в табл. 1.

Як видно з табл. 1, кількість субклінічних маститів у період сухостою діагностувалася у 1,6 рази ($P \leq 0,01$) частіше, ніж у період лактації. Це пов'язано з тим, що у сухостійний період мало уваги звертають на стан здоров'я вимені корів. Практично не проводяться діагностичні дослідження на мастит перед запуском корів, на 10–15 день сухостійного періоду та за 10–15 днів до родів.

У період лактації із секрету хворих чверток вимені корів найчастіше виділялися бактерії роду *Streptococcus* (47,7%) та *Staphylococcus* (45,5%), що свідчить про їхню головну етіологічну роль у виник-

ненні субклінічного маститу. У період сухостою субклінічний мастит корів стрептококової етіології діагностувався у 2,4 раза ($P \leq 0,001$) частіше, ніж стафілококової і відповідно становив 62,5% випадків.

Таблиця 1

Поширення субклінічного маститу в різні фізіологічні періоди корів на молочних фермах західного регіону України, $M \pm m$, $n = 210$

Фізіологічний період корів	Виявлено корів хворих на мастит, %	Кількість хворих чверток, %	Наявність патогенних мікроорганізмів у хворих чвертках
Лактаційний період	24,6 ± 2,5	47,7 ± 3,6	<i>Streptococcus spp.</i>
		45,5 ± 1,9	<i>Staphylococcus spp.</i>
		6,8 ± 0,4	<i>Streptococcus spp.</i> + <i>Staphylococcus spp.</i>
		62,5 ± 3,3**	<i>Streptococcus spp.</i>
Сухостійний період	38,5 ± 3,8*	26,2 ± 2,4	<i>Staphylococcus spp.</i>
		8,3 ± 2,1	<i>Streptococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> + коліформні бактерії
		3,0 ± 0,25	Коліформні бактерії

Примітки: * – $P \leq 0,01$ – стосовно до лактаційного періоду; ** – $P \leq 0,001$ – стосовно до маститу стафілококової етіології у період сухостою

Також у період лактації та сухостою спостерігали наявність субклінічного маститу змішаної етіології (стрептококи, стафілококи, коліформні бактерії) відповідно в 6,8 і 8,3% випадків. Коліформні бактерії, які були виділені із секрету вимені сухостійних корів при субклінічному маститі, в асоціаціях з іншими збудниками та в монокультурі у 3,0% випадків (коліформний мастит) були представлені *E. coli*.

Результати досліджень видового складу мікрофлори секрету вимені корів при субклінічному маститі стафілококової етіології у період лактації наведено в табл. 2.

Як видно з табл. 2, на молочних фермах домінував коагулазопозитивний стафілокок, ідентифікований нами як *S. aureus subsp. aureus*. Власне, це той вид, який нами визначався як *S. aureus var. bovis*. Ми вважаємо за потрібне відзначити таку особливість: *S. aureus subsp. aureus* є основним збудником стафілококового маститу. Це підтверджується тим, що серед плазмокоагулюючих стафілококів, які виділялися з уражених маститом чверток, до виду *S. aureus subsp. aureus* відносилось 93,3% культур. Така ж закономірність спостерігалася серед плазмокоагулюючих стафілококів, які виділялися із шкіри дійок хворих чверток.

Таблиця 2

Видовий склад коагулазопозитивних стафілококів, які виділені від корів хворих на мастит, %, $M \pm m$, $n = 296$

Види стафілококів	Коагулазопозитивні стафілококи, виділені з:			
	секрету вимені		шкіри дійок	
	хворі чвертки	здорові чвертки	хворі чвертки	здорові чвертки
<i>S. aureus subsp. aureus</i>	93,3 ± 2,01	81,6 ± 2,33*	92,2 ± 2,55	87,5 ± 1,82
<i>S. hyicus</i>	2,9 ± 0,41	10,5 ± 0,94*	0,9 ± 0,01	8,7 ± 0,70**
<i>S. intermedius</i>	0,9 ± 0,02	2,6 ± 0,36*	1,7 ± 0,12	1,25 ± 0,05*
Не ідентифіковані культури	2,9 ± 0,035	5,2 ± 0,98**	5,1 ± 0,51	2,25 ± 0,36**

Примітки: * – $P \leq 0,05$, ** – $P \leq 0,01$ – стосовно до хворих корів

Кількість бактерій *S. aureus subsp. aureus* у секреті здорових чверток зменшувалася у 1,1 раза ($P \leq 0,01$), відповідно спостерігали збільшення кількості мікроорганізмів *S. hyicus* у 3,6 раза ($P \leq 0,05$) та *S. intermedius* – у 2,9 раза ($P \leq 0,01$). Аналогічна ситуація спостерігалася з вмістом даних мікроорганізмів на шкірі дійок хворих на мастит корів.

При субклінічному маститі стрептококової етіології у період лактації в однаковій кількості проб секрету вимені (47,4%) виділялися бактерії виду *S. agalactiae* і *S. dysgalactiae*, в меншій мірі *S. uberis* (5,2%) (рис. 1). У період сухостою збудники *S. agalactiae* при субклінічному маститі стрептококо-

вої етіології виділялися з проб секрету корів у 1,3 раза менше ($P \leq 0,01$), *S. dysgalactiae* – у 1,2 раза ($P \leq 0,05$), а бактерії виду *S. uberis* – у 4,4 раза ($P \leq 0,001$) більше, ніж у період лактації.

При проведенні досліджень були виявлені господарства, де переважав один вид збудника, який спричинював субклінічні мастити – *S. agalactiae* або *S. aureus* і виділявся від 73,6 до 87,4% усіх досліджених проб.

Результати досліджень наявності стрептококів у секреті молочної залози та на шкірі дійок вимені здорових корів і хворих на субклінічну форму маститу у період лактації наведено в табл. 3.

Рис. 1. Видовий склад мікрофлори секрету вимені корів при субклінічному маститі стрептококової етіології

Таблиця 3

Контамінація молочної залози та шкіри дійок корів мікроорганізмами роду *Streptococcus*, $M \pm m$, $n = 120$

Корови	Об'єкт дослідження	Кількість проб з вмістом стрептококів, %	Види стрептококів, які виділяються
Здорові	секрет вимені	$33,3 \pm 4,2$	<i>Str. alactoliticus</i> , <i>Str. intestinalis</i>
	шкіра дійок	—	—
Хворі на мастит	секрет вимені	100	<i>S. agalactiae</i> , <i>S. dysgalactiae</i> , <i>S. uberis</i>
	шкіра дійок	$26,6 \pm 3,5$	<i>S. agalactiae</i> , <i>S. dysgalactiae</i> , <i>S. uberis</i>

Як видно з табл. 3, у корів, хворих на субклінічний мастит стрептококової етіології у 26,6% корів шкіра дійок вимені була інфікована цими ж мікроорганізмами. В здорових корів у жодному випадку патогенних стрептококів у вимені та на шкірі дійок виділено не було.

З вищенаведених результатів досліджень видно, що хворі корови на стрептококовий і стафілококовий мастит є основним резервуаром і джерелом зараження здорового стада.

Отже, результати досліджень підтверджують важливість контролю стану здоров'я молочної залози корів для проведення ефективних профілактичних і лікувальних протимаститних заходів.

Висновки

Встановлено, що в період лактації субклінічний мастит стрептококової етіології діагностується у 47,7% випадків, стафілококової – у 45,5% та змішаної етіології – у 6,8%, а в період сухостою відповідно в 62,5; 26,2 і 8,3% випадків.

Основним збудником стафілококового маститу є *S. aureus subsp. aureus*, який виділявся з уражених маститом чверток у 93,3%, а стрептококового – *S. agalactiae* і *S. dysgalactiae*, у 47,4%.

Перспективи подальших досліджень полягають у дослідження патогенних властивостей збудників маститів корів на молочних фермах західного регіону України.

References

- Blum, S.E., Heller, E.D., Jacoby, S., Krifucks, O., & Leitner, G. (2017). Comparison of the immune responses associated with experimental bovine mastitis caused by different strains of *Escherichia coli*. *Journal of Dairy Research*. 84(2), 190–197. doi: 10.1017/S0022029917000206.
- Botrel, M.A., Haenni, M., Morignat, E., Sulpice, P., Madec, J.Y., & Calavas, D. (2010). Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhône-Alpes, France. *Foodborne pathogens and disease*. 7(5), 479–487. doi:10.1089/fpd.2009.0425.
- Grohn, Y.T., Wilson, D.J., Gonzalez, R.N., Hertl, J.A., Schulte, H., Bennett, G., & Schukken, Y.H. (2004). Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *Journal of dairy science*, 87(10), 3358–3374. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73472-4
- Kukhtyn, M.D., Horyuk, Y.V., Horyuk, V.V., Yaroshenko, T.Y., Vichko, O.I., & Pokotylo, O.S. (2017). Bio-type characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products of private production in the western regions of Ukraine. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 8(3), 384–388. doi: 10.15421/021759.
- Kukhtyn, M.D., Kovalenko, V.L., Horyuk, Y.V., Horyuk, V.V., & Stravskyy, Y.S. (2016). Bacterial biofilms formation of Cattle mastitis pathogens. *Journal for veterinary medicine, biotechnology and biosafety*. 2(4), 30–32.
- Lago, A., Godden, S.M., Bey, R., Ruegg, P.L., & Leslie, K. (2011). The selective treatment of clinical mastitis

- based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk withholding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes. *Journal of dairy science*. 94(9), 4441–4456. doi: 10.3168/jds.2010-4046.
- Martins, C.M.M.R., Pinheiro, E.S.C., Gentilini, M., Benavides, M.L., & Santos, M.V. (2017). Efficacy of a high free iodine barrier teat disinfectant for the prevention of naturally occurring new intramammary infections and clinical mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 100(5), 3930–3939. doi: 10.3168/jds.2016-11193.
- Rahman, M.A., Bhuiyan, M.M.U., Kamal, M.M., & Shamsuddin, M. (2009). Prevalence and risk factors of mastitis in dairy cows. *Bangladesh Veterinarian*. 26(2), 54–60. doi: 10.3329/bvet.v26i2.4951.
- Ruegg, P.L., Oliveira, L., Jin, W., & Okwumabua, O. (2015). Phenotypic antimicrobial susceptibility and occurrence of selected resistance genes in gram-positive mastitis pathogens isolated from Wisconsin dairy cows. *Journal of dairy science*. 98(7), 4521–4534. doi: 10.3168/jds.2014-9137
- Sharma, R., Ashutosh, M., Singh, P., Pandita, S., & Singh, M. (2017). Inflammatory Mediators and Hormonal Changes in Subclinical and Clinically Affected Mastitis Cows. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6(11), 620–627. doi: 10.20546/ijemas.2017.611.074.
- Taponen, S., Liski, E., Heikkila, A.M., & Pyorala, S. (2017). Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, or *Escherichia coli*. *Journal of Dairy Science*. 100(1), 493–503.
- Tenhagen, B.A., Koster, G., Wallmann, J., & Heuwieser, W. (2006). Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *Journal of Dairy Science*. 89(7), 2542–2551.
- Vakkamaki, J., Taponen, S., Heikkila, A.M., & Pyorala, S. (2017). Bacteriological etiology and treatment of mastitis in Finnish dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 59(1), 33. doi: 10.1186/s13028-017-0301-4.
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., & Whitman, W. (Eds.). (2011). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes (Vol. 3)*. Springer Science & Business Media.