

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

ПРОМЕНИ В СЪСТАВА И НЯКОИ ФИЗИКОХИМИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ
НА КОЗЕ МЛЯКОТО ПРИ СУБКЛИНИЧЕН МАСТИТ
И ТЯХНОТО ДИАГНОСТИЧНО ЗНАЧЕНИЕКАЛИН ХРИСТОВ, СТАНИСЛАВ РАДАНСКИ,
РОМАН ПЕПОВИЧ, БРАНИМИР НИКОЛОВ, БОРИСЛАВ КАШЪМОВ*

Лесотехнически университет, Факултет по Ветеринарна медицина - София

*Национална референтна лаборатория за мляко и млечни продукти към ОДБХ-София град

Козето мляко се различава от овчето с по-ниското съдържание на мазнини и белтъчини, но се доближава по състав до кравето. То е особено ценно, тъй като в стомаха на човека коагулира в лесноусвоими маслени капчици, съдържа значителни количества калций, каприлова киселина, фосфор, кобалт и витамини, особено витамин С. Богато е на аминосулфонова киселина – таурин, участваща в обезвреждането на токсичните вещества в черния дроб. Полученото мляко от маститни кози представлява сериозна опасност за здравето на животните и епидемиологичната обстановка във фермата. Икономическото значение на маститите е свързано с намаляването на млечната продуктивност, преждевременното бракуване на животни и увеличаването на разходите за лекуването им.

Навременното и точно диагностициране на скритите възпаления на млечната жлеза е изключително важен момент в стратегиите за борба с тези заболявания. То се осъществява основно чрез определяне нивото на соматичните клетки и изолиране на патогенни микроорганизми. За диагностика могат до известна степен да се използват и други индикатори като например нивата на различни ензими, остро-фазовите протеини, лактоферин и промяната в електропроводимостта на мляко (Maisi and Ripinen, 1988; Schüppel and Schwöpe, 1999; Bartha et al., 2010). В същото време ехографското изследване позволява да бъдат диагностицирани структурни промени като стенози и обструкции (Фасулков, 2014) и така да се изясни напълно здравословното състояние на жлезата.

Основните промени при развитие на субклиничен мастит включват преминаването на йони, протеини и ензими от кръвта в мляко в резултат на повишената пропускливост на кръвоносните съдове и настъпващата активна фагоцитна инвазия, проявяваща се в повишаване на клетъчния състав и намаляване на някои съставки в мляко. На базата на това целта на нашето изследване беше да проучим промените в рН, лактоза, протеин, сухото вещество (TS), точката на замръзване (FPD), фосфор (P) и калций (Ca) в мляко при състояние на субклиничен мастит и възможността тези показатели да бъдат ползвани като индикатори на възпаление.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Предмет на изследване и получаване на проби.

За да проучим промените в някои физикохимични показатели на мляко (рН, лактоза, масленост, точка на замръзване) и нивата на Ca и P при млечни жлези със субклиничен мастит, изследвахме общо 80 млечни проби. Разграничаването на здрави млечни половици и тези със субклиничен мастит направихме чрез определяне нивото на соматичните клетки и изолиране на патогенни микроорганизми.

Непосредствено преди получаването на стерилните млечни проби предварително папилите бяха почиствани с 70° спирт. От всяка половина след отстраняване на първите струи мляко вземахме двойни проби в стерилни епруветки по 10 ml за микробиологично изследване и в контейнери за мляко по 50 ml за определяне броя на соматичните клетки и физикохимичен анализ. Млечните проби транспортирахме до лабораториите в хладилна чанта, при температура 4°С, като изследването на същите се осъществяваше до 16 h след вземането им.

Изследване на мляко. Директното броене на клетъчните елементи проведохме по БДС EN ISO 13366-2/IDF148-2 посредством Fossomatic (Foss, Дания) в Националната референтна лаборатория за мляко и млечни продукти към ОДБХ-София град. Лабораторията е акредитирана съгласно БДС EN ISO/IEC17025. Микробиологичното изследване извършихме според акредитираната методика на **National Mastitis Council** (1999) за изолиране и диференциране на маститните причинители. Определянето на маслеността, протеина, лактозата, точката на замръзване и на сухото вещество извършихме съгласно БДС ISO 9622, използвайки Milcoscan (Foss, Дания). Водородно-йонната концентрация измерихме чрез електронен рН метър - Radelkis-Hungary.

Определянето на съдържанието на калций в млечните проби извършихме по метода перманганатометрия. Нивата на фосфора в същите проби определихме колориметрично по метода на Герике и Курмис с измерване на оптичката плътност на Спекол 11 при дължина на вълната 470 nm.

Статистически анализ. Статистическата обработка на данните извършихме с компютърна програма SPSS

16.0. Всички резултати са изразени като средна стойност и стандартна грешка. Оценката за достоверност направихме при гаранционна вероятност 0.95 (равнище на значимост $\alpha = 0.05$).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Данните за промените в средните стойности на изследваните показатели на козе мляко при здрави млечни половици и такива със субклиничен мастит са представени в табл. 1. Средната стойност за съдържанието на калций в млякото при здрави половици е 128.34 ± 0.23 mg, докато при тези със субклиничен мастит е 114.04 ± 0.4 mg. Разликата между двете групи е статистически достоверна ($P < 0.001$). Фосфорът в двете групи е съответно 119.59 ± 0.23 mg при здрави половици и 115.43 ± 0.43 mg при половици със субклиничен мастит ($P < 0.001$). Водородно-йонната концентрация (pH) на млякото от здрави млечни половици и такива със субклиничен мастит през лактационния период не показва съществена разлика. Средните стойности на този показател са съответно за здрави половици 6.585 ± 0.01 , а при субклиничен мастит 6.631 ± 0.03 ($P < 0.001$). Съдържанието на лактоза в млякото при здрави млечни половици е 4.32 ± 0.03 , а при козите със субклиничен мастит 3.99 ± 0.04 ($P < 0.001$). Протеинът, изследван при двете групи, показва стойности при здравите половици – 3.84 ± 0.17 , а при тези със субклиничен мастит съответно 4.24 ± 0.15 . Средните стойности при двете групи показват известна разлика, но тя е статистически недостоверна ($P > 0.05$). Стойността на сухото вещество (TS) в млякото при здравите полови-

ни е 12.44 ± 0.32 , а при половините със субклиничен мастит е 13.58 ± 0.44 ($P < 0.05$). Резултатите от измерването на точката на замръзване (FPD) показват средна стойност при здрави млечни половици 0.563 ± 0.03 , а при тези със субклиничен мастит съответно 0.559 ± 0.02 . При обработката на данните за този показател установихме, че липсва статистическа достоверна разлика между средните стойности ($P > 0.05$).

Установената от нас разлика в средните стойности на водородно-йонната концентрация (pH) при здрави млечни половици и такива със субклиничен мастит е статистически достоверна ($P < 0.001$). И при двете групи обаче, стойностите на pH са в границите на нормата от 6.5 – 6.8 (Juarez and Ramos, 1986), като наличието на статистическа достоверност доказва връзката между pH и състоянието на млечната жлеза. До голяма степен това се дължи на количеството на клетъчните елементи и съдържанието на хлориди в млякото. Подобна положителна корелация между соматичните клетки и pH при козето мляко е посочено и от Hamed et al. (1993), което подкрепя нашите резултати.

Млечната захар (лактоза) е основният въглехидрат в козето, овчето и кравето мляко и се синтезира от глюкоза в млечната жлеза с активното участие на лакталбумин (Larson and Smith, 1974). Съдържанието на лактоза в козето мляко варира в границите на 4.1 – 4.5%, като според някои автори тя е с около 0.2 – 0.5% по-малко от тази при кравето мляко (Chandan et al., 1992; Mioč et al., 2008). Единствено млякото от диви бозайници има по-ниско съдържание на лактоза от козето (Park, 2006). Установеното

Таблица 1. Физикохимични показатели и съдържание на калций и фосфор в млякото при здрави млечни половици и такива със субклиничен мастит
Table 1. Physico-chemical parameters and content of calcium and phosphorus in milk to healthy dairy halves and those with subclinical mastitis

Показатели на изследване Indicators of study		Състояние на млечните половици Condition of mammary halves	
		здрав healthy <i>n</i> = 40	субклиничен мастит subclinical mastitis <i>n</i> = 40
pH	Mean $\pm SE$	6.585 0.01	6.631*** 0.03
лактоза/ lactose %	Mean $\pm SE$	4.3 0.03	3.99*** 0.04
протеин/ protein %	Mean $\pm SE$	3.84 0.17	4.24 0.15
сухото вещество TS	Mean $\pm SE$	12.44 0.32	13.58* 0.44
точката на замръзване FPD	Mean $\pm SE$	0.563 0.003	0.559 0.002
P mg/100 ml	Mean $\pm SE$	119.59 0.23	115.43*** 0.43
Ca mg/100 ml	Mean $\pm SE$	128.34 0.23	115.04*** 0.4

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

от нас понижаване на нивото на лактозата при субклиничен мастит успоредно с повишаване броя на соматичните клетки посочва и **Petrova** (1997). Подобни резултати съобщават и други автори (**Robertson and Muller**, 2005; **Merin et al.**, 2004). Понижаването на количеството на лактозата при субклиничен мастит може да се обясни и с натрупването на суровагъчни протеини, вероятно в резултат от разпадане на казеини и други млечни протеини.

Протеинът в млякото се състои основно от казеини и млечни серумни протеини. За козите физиологичните стойности за общия млечен протеин са в границите на 2.9 и 5.0% (**Haenlein**, 2006). Установената от нас разлика в средните стойности при двете групи е статистически недостоверна ($P > 0.05$). Подобни резултати представят и **Leitner et al.** (2004a) с по-високи стойности на протеини в инфектираните, отколкото при здравите половици (съответно $3.50 \pm 0.05\%$ срещу $3.42 \pm 0.05\%$ - без статистическа значимост). Друго изследване на **Leitner et al.** (2004b) показва също значителни стойности на общия протеин в инфектирани в сравнение с здрави половици (3.99 срещу 3.91%). Липсата на статистическа значима връзка между състоянието на млечните половици и нивото на общия протеин се потвърждават в изследванията на **Min et al.** (2007).

По-високото количество на сухото вещество (TS) при инфектираните половици, установено в изследването, може да обясним с повишеното количество на клетъчните елементи при субклиничен мастит. Тези резултати са в противоречие с представените от **Gajarlawar et al.** (2011), които посочват намаляване на TS със стойности за здрави и за инфектирани млечни половици съответно 12.65 ± 0.090 и 11.88 ± 0.073 . В същото време са в унисон с твърдението на **Sung**, (2001), който установява наличие на положителна корелация между общото съдържание на сухо вещество и количеството на соматичните клетки.

Точката на замръзване (FPD) на млякото е в диапазон от -0.512°C до -0.550°C със средна стойност от около -0.522°C . За козе мляко **Sousa et al.** (1993) посочват стойност от -0.545°C . Правилното тълкуване на този показател изисква разбиране на факторите, влияещи върху понижаването на точката на замръзване. Тя е пряко свързана със солевия баланс и по-конкретно с осмотичното налягане между кръвта и млякото. Физиологично тя зависи от етапа на лактация, породата, храненето и от общото здравословното състояние на животните и на млечната жлеза в частност. В настоящото изследване не установихме статистически достоверна разлика между стойностите на FPD при двете опитни групи, което ограничава приложението на този показател при диагностиката на здравословното състояние на млечната жлеза.

В сравнение с кравето мляко, козето има по-високо съдържание на Ca, P, K, Mg и Cl и по-ниско на Na и S (**Chandan et al.**, 1992). Концентрациите на макро минералите варират в тесни граници и зависят от породата, храненето, индивидуалните особености на животните, етапа от лактацията и здравния статус на млечната жлеза.

По-високата концентрация на K, Ca и P и по-ниската на Na и Cl в млякото в сравнение с кръвта се дължи на активните механизми на регулация. В основата на тази регулация е активната работа на Na-K помпа, регулира-

ща осмоларитета между кръвта и млякото, както и на Ca помпа, транспортираща Ca от базалната мембрана в цитозола и допълнително в апарата на Голджи на млечните алвеоларни клетки за изграждане на мицели на казеина. Тези движения на йони, лактоза и вода между кръв, вътреклетъчни алвеоларни течности и мляко са много важни за нормалното осмотично равновесие на здравата млечна жлеза и са в корелация с добива на мляко (**Pulina and Bencini**, 2004). Установените в това изследване достоверно по-ниски стойности ($P < 0.001$) на Ca при половините със субклиничен мастит в сравнение с здравите половици се подкрепят и от предишни проучвания, също установили подобни резултати (**Leitner et al.**, 2004a).

Нивата на P при двете опитни групи животни също са достоверно по-ниски ($P < 0.001$) при млечните половици със субклиничен мастит в сравнение със здравите половици. Подобни резултати при крави за понижаване на Ca и P в млякото при субклиничен мастит съобщават **Hamann and Krumker** (1997). Достоверно по-ниски концентрации ($P < 0.01$) на Ca и P при субклиничен мастит посочват и други автори. (**Batavani et al.**, 2007; **Ahmad et al.**, 2007). Наличие на отрицателна статистически достоверна корелация между броя на соматичните клетки и количеството на Ca в млякото също при крави е установена от **Ogola et al.** (2007).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализът на получените данни и наличието на статистически достоверни разлики между стойностите на рН, лактозата, TS, P и Ca при здрави млечни половици и такива със субклиничен мастит, ни позволява да приемем, че тези показатели могат да бъдат използвани като индикатори за здравословното състояние на млечната жлеза при козите.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Фасулков, И.**, 2014. Ехографски проучвания на физиологични и патологични състояния на млечната жлеза при козата, Дисертация, Стара Загора.
2. **Ahmad, T., M. Bilal, S. Uallah, Z.U. Rahman and G. Muhammad**, 2007. Impact of mastitis severity on mineral contents of buffalo milk. Pak J Agric Sci. 44: 176-178.
3. **Bartha, K., K. Aulricha, U. Muller, K. Knappstein**, 2010. Somatic cell count, lactoferrin and NAGase activity in milk of infected and non-infected udder halves of dairy goats. Small Ruminant Research 94, 161-166.
4. **Batavani, R. A., S. Asri and H. Naebzadeh**, 2007. The effect of subclinical mastitis on milk composition in dairy cows, Iranian Journal of Veterinary Research. University of Shiraz. Vol. 8. N3.
5. **Chandan, R. C., R. Attaie, K. M. Shahani**, 1992. Nutritional aspects of goat milk and its products. In: Proc. V. Intl. Conf. Goats. vol. II: part II. New Delhi. India. 399.
6. **Gajarlawar, S. J., V. G. Atkare, S. Wankhades and M. Shende**, 2011. Quality assessment of goat milk affected by subclinical mastitis. J. Soils and Crops 21 (2) 306-308.
7. **Haenlein, G. F. W.**, 2006. Production of goat milk. In: Park YW, Haenlein FW (eds) Handbook of milk of non-

bovine mammals. Ames : Blackwell Publ. 11-33

8. **Hamann, J. and V. Krömker**, 1997. Potential of specific milk composition variables for cow health management, *Livest. Prod. Sci.* 48. 201–208.

9. **Hamed, A. I.**, N. A. Abou- Zeid, K. M. K. Keary and A. A. Radwan, 1993. Physical and chemical properties of subclinical mastitic sheep's and goat's milk. *Egyptian J. Dairy Sci.* 21 (1). 133-149.

10. **Juarez, M. and M. Ramos**, 1986. Physico-chemical characteristics of goat milk as distinct from those of cow milk. In: International Dairy Federation (Ed.), Proceedings of the IDF Seminar Production and Utilization of Ewe's and Goat's Milk. Bulletin. 202: 54–67.

11. **Larson, B. L., V. R Smith**, 1974. Lactation, vol. 4. Academic Press, New York, p. 1994.

12. **Leitner G., U. Merin, N. Silanikove**, 2004a. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats. *J. Dairy Sci.* 87:1719-1726.

13. **Leitner G., U. Merin, N. Silanikove, E. Ezra, M. Chaffer, N. Gollop, M. Winkler, A. Glickman, A. Saran**, 2004b. Effect of subclinical intramammary infection on somatic cell counts, NAGase activity and gross composition of goats' milk. *J. Dairy Res.* 71:311-315.

14. **Maisi P. and I. Riipinen**, 1988. Use of California mastitis test, N-Acetyl-Beta-Glucosaminidase and antitrypsin to diagnose caprine subclinical mastitis. *J Dairy Res.* 55:309-314.

15. **Merin, U., N. Silanikove, F. Shapiro, S. Bernstein and G. Leitner**, 2008. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep and goats, *South African Journal of Animal Science*, 34 (Supplement 1). 188-191

16. **Min B.R., G. Tomita, S. P. Hart**, 2007. Effect of subclinical intramammary infection on somatic cell counts and chemical composition of goats' milk. *J Dairy Res* 74:204-210.

17. **Mioč, B., Z. Prpić, I. Vnučec, Z. Barač, V. Sučić, D. Samaržija, V. Pavić**, 2008. Factors affecting goat milk

yield and composition. *Mljekarstvo.* 58 (4) 305-313.

18. **National Mastitis Council**, 1999. Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis. Revised edition. Fort Atkinson, WI, National Mastitis Council.

19. **Ogola, H., A. Shitandi, J. Nanua**, 2007. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. *J. Vet. Sci.*, 8 (3), 237–242.

20. **Park, Y. W.**, 2006. Goat milk—chemistry and nutrition. In: Park, Y. W., Haenlein, G. F. W. (Eds.), *Handbook of Milk of Non-bovine Mammals*. Blackwell Publishing Professional, Oxford, UK/Ames, Iowa, pp. 34–58.

21. **Paulina, G. and Bencini, R.**, 2004. *Dairy Sheep Nutrition*, Wallington: CABI Publications, United Kingdom, 222.

22. **Petrova, N.**, 1997. Effect of the different somatic cell count on the macro-components in goat's milk. *Bulgarian J. Agric. Sci.* 3 (6), 783-787.

23. **Robertson N. H. and C. J. C. Muller**, 2006. Somatic cell count in goat's milk as an indication of mastitis, *SA-ANIM SCI*, vol 6.

24. **Schüppel, H. and M. Schwope**, 1999. Zum Gehalt somatischer Zellen und zur mikrobiologischen Beschaffenheit der Milch von Ziegen mit klinisch unauffälligem Euterbefund. *Milchwissensch* 54:13-16.

25. **Sousa, J. T., M. J. Dias, C. A. Tanezini, W. T. D'Alessandro, B. C. de Oliveira, J. de Melo Rocha and I. dos Santos Pontes**, 1993. Freezing point depression of raw goat's milk from the region of Goiania. *Brazil. AJAS.* Vol. 6 (No. 4) 555-559.

26. **Sung, Y.** 2001. Evaluation of milk quality of Alpine, Nubian, Sannen and Toggenburg breeds in Taiwan. *Small Rum* 33 :17- 23.

27. **Wilson, D. J., K. N. Stewart, P. M. Sears**, 1995. Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic-cell counts in infected and uninfected dairy goats. *Small Rumin Res.* 16:165-169.

CHANGES IN THE COMPOSITION AND SOME PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS OF GOAT MILK IN SUBCLINICAL MASTITIS AND THEIR DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

*K. Hristov, S. Radanski, R. Pepovich, B. Nikolov, B. Kashamov**

University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine – Sofia

**National Reference Laboratory for milk and milk products, BFSA - Sofia*

SUMMARY

The number of somatic cells in milk is the main health indicators of the mammary gland. With the development of subclinical mastitis occur changes in the composition and physico-chemical parameters of milk.

The aim of this study was to investigate the changes in pH, lactose, protein, total solids (TS), the freezing point depression (FPD), phosphorus (P) and calcium (Ca) milk in a state of subclinical mastitis and whether these parameters to be used as indicators of inflammation. The study included 40 animals with 80 milk halves of different ages. The results showed an statistically significant increase of pH values ($P < 0.001$) and TS ($P < 0.05$) with subclinical mastitis and lower lactose, phosphorus and calcium ($P < 0.001$).

Key words: *goats, diagnostics, subclinical mastitis, physico-chemical parameters*

e-mail: kalin_ss@abv.bg