

РАЗПРОСТРАНЕНИЕ И ДИАГНОСТИКА НА СУБКЛИНИЧНИТЕ МАСТИТИ ПРИ КОЗИТЕ В НАЧАЛОТО НА ЛАКТАЦИОННИЯ ПЕРИОД

КАЛИН ХРИСТОВ, ПЪРВАН ПЪРВАНОВ,
ТЕОДОРА ПОПОВА, БОРИСЛАВ КАШЪМОВ*

Лесотехнически университет, Факултет по Ветеринарна медицина - София

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

Количеството на соматичните клетки и изолирането на патогенни микробни причинители се приема като „златен стандарт“ за диагностиката на скритите мастити. При козите нивото на соматичните клетки като показател за наличие на инфекция в млечната жлеза трябва да бъде прилагано внимателно, поради влиянието на много фактори, водещи до промяна в броя на соматичните клетки, без да е налице възпалителен процес. Такива са стадият на лактация, еструсът, породата, технологията на доене и други (Delgado-Pertinez et al., 2003; Luengo et al., 2004; Moroni et al., 2007; Paape et al., 2007; Christodouloupoulos, G. et al., 2008; Souza et al., 2009). В отделни страни по света съществуват национални референтни стойности за брой на соматичните клетки в сборното мляко, вариращи от $500 \times 10^3/\text{ml}$ до $1\ 000 \times 10^3/\text{ml}$. Въпреки това, в ЕС все още не е разработен единен стандарт за количеството на соматичните клетки в козето мляко. Независимо от липсата на общоприет стандарт, много автори (Poutrel et al., 1997; Vasiu et al., 2008; Persson and Olofsson, 2011) препоръчват гранична стойност за мониторинг на субклиничните възпаления на млечната жлеза от $500 \times 10^3/\text{ml}$ и задължително микробиологично изследване на млечните проби. Подобна референтна стойност използват и Божкова и кол., (2003) при изследване на цитологичните и биохимичните промени в млякото при кози със субклиничен мастит в нашата страна.

Съществуването на връзка между количеството на соматичните клетки и резултатите от бързия маститен тест (БМТ) при козите е проучвано и потвърдено от различни автори (Косев и Колева, 1989; Jendretzke, 2009; McDougall et al., 2010). За разлика от нашата страна, където оценяването на резултатите от БМТ става с плюсове (от 0 до +++), в световната практика е прието това да става с цифри от 0 до 3, като някои автори включват и междинна стойност между 0 и 1, означено като TRACE – проследяване (съмнително) (Schaeren and Maurer, 2006). Според Contreras et al., (1996) резултати с оцен-

ка 0 – 1 показват 79% незаразени половини, а при оценка 2 – 3 има съмнение за инфекция и вземането на проби за микробиологично изследване е задължително.

При микробиологичните проучвания най-честите причинители на различните форми на мастит при козите са представители предимно от групата на стафилококите, но заедно с тях се срещат и стрептококи, ентеробактерии, микоплазми, коринебактерии, пастюрели и др. (Божкова и кол., 2000;

Bergonier et al., 2003; Contreras, 2003; Ajuwape et al., 2005; Moroni et al., 2007; Aydin et al., 2009; Marogna et al., 2012).

Целта на настоящото изследване беше да проучим ефективността на директните и индиректните методи за диагностика на субклиничните мастити при козите и степента на разпространение на заболяването в началото на лактационния период.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Изследването бе проведено при 26 броя кози, от породите Българска бяла млечна коза и нейни кръстоски. През зимния период при лошо време козите се отглеждаха оборно, като се хранеха със сухо ливадно сено и концентрирани фуражи, а при подходящо време се изкарваха навън, използвайки предимството на вида да оползотворяват пълноценно оскъдни пасища. Доенето през лактационния период беше ръчно на място в обора. Всички кози бяха в начален етап на лактационния период (15-ти до 20-ти ден след раждане) и между I и II лактация. При включване в опита животните бяха клинично здрави, като при клиничния преглед особено внимание беше обърнато на състоянието на млечната жлеза. Първоначално беше направено изследване с бързите маститни тестове CMT-Test (Kruuse, Denmark) и Porta SCC (Porta Check, USA). Пробите мляко бяха получени асептично от всички млечни половини, независимо от резултата от БМТ, след предварително почистване на папилите и

млечната жлеза, последвано от туширане на върха им с 70° спирт. Първите струйки мляко бяха отстранявани, като всяка проба съдържаеше 50 ml млечен секрет, поставен в стерилна епруветка. Съхраняването и транспортирането на млечните проби до лабораторията се осъществяваше в хладилна чанта при температура от 0 до 4°C.

Лабораторното определяне на броя на соматичните клетки проведохме по метод - стандарт БДС EN ISO 13366-2/IDF 148-2, посредством Fossomatic (Foss, Дания) в „Национална референтна лаборатория за мляко и млечни продукти към ОДБХ“ - София град. Микробиологичното изследване за изолиране и идентифициране на микробните причинители извършихме съгласно акредитираната методика на National Mastitis Council (1999) за изолиране и диференциране на маститните причинители. Използвахме селективни, елективни и диференциращи хранителни среди за аеробни, факултативно и облигатно анаеробни бактерии, както и за гъби. Посевките бяха култивирани при 37 °C за 24 – 72 h при аеробни, микроанаерофилни и анаеробни условия. Идентифицирането на изолираните микроорганизми беше извършено чрез микроскопско изследване на оцветени по Грам и Пфайфер препарати, а отчитането на културалните особености - върху твърди и в течни среди. Биохимичните свойства бяха определени с помощта на Polymicrotest (БУЛ БИО - НЦЗПБ ЕООД – София) и проби за оксидаза

и каталаза. Изолирането и идентифицирането на бактериите се осъществяваше в съответствие с Международния определител на Bergey.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

По време на експеримента бяха получени общо 52 стерилни млечни проби след предварително изследване на всяка половина с бърз маститен тест и отчитане степента на реакцията (фиг.1).

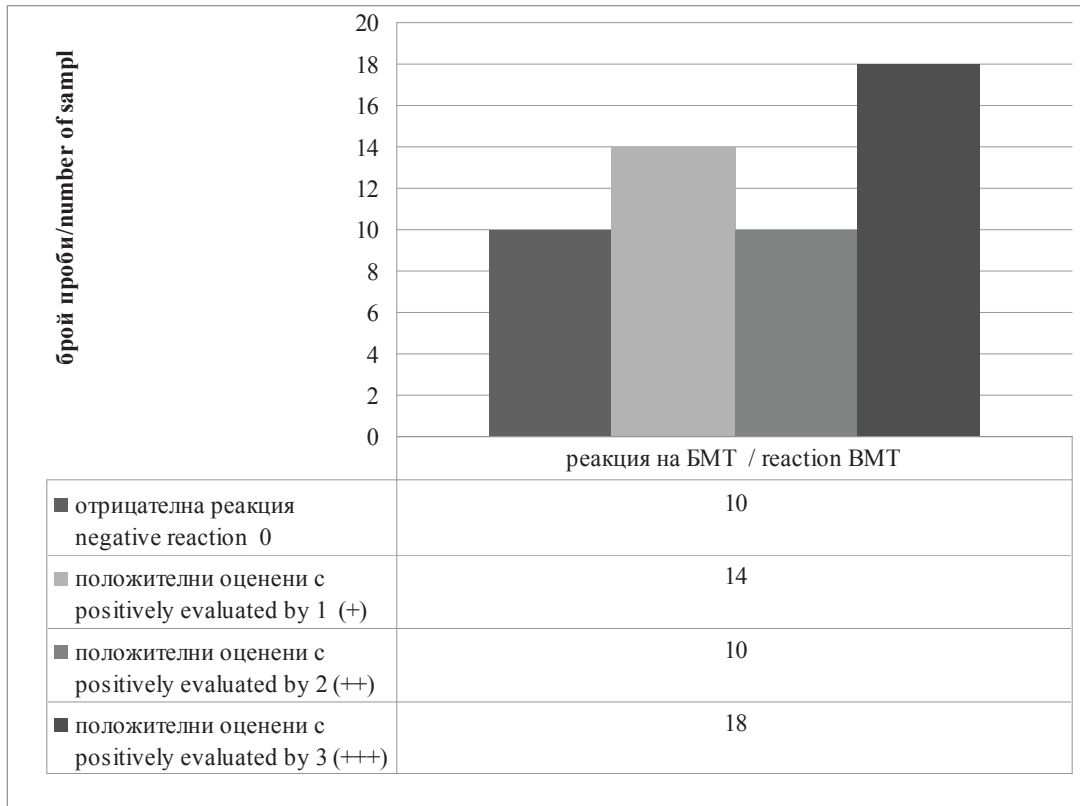
От фиг. 1 се вижда, че пробите, оценени при изследването с БМТ с 0 и 1 са 24 бр., докато тези, отценени със оценка 2 и 3 са общо 28 бр., което е 53.85% от всички изследвани половини. Резултатите от лабораторното изследване на всички проби за броя на соматичните клетки и наличието на патогенни микроорганизми са представени в табл. 1

Процентното разпределение на микроорганизмите, изолирани от положителните проби, е представено на фиг.2

Тя показва, че от всички изолирани микроорганизми, най-висок е дялът на *Enterobacter* spp. (23.54%) и различни видове стафилококи, които са чести причинители на субклиничните мастити при козите, както посочват и **Silva et al.** (2011).

При 6 бр. кози възпалителен процес е засегнал едностранно млечната жлеза, а при 8 бр. от субклиничен мастит са засегнати и двете млечни половини, както е показано на фиг. 3.

Високият процент на положителни проби на БМТ



Фиг.1. Резултати от изследване с БМТ

Fig. 1. Results from a study with CMT-Test and Porta SCC

Таблица 1. Брой на соматичните клетки и наличие на патогенни микроорганизми
Table 1. Somatic cells count and the presence of pathogenic microorganisms

Брой на соматичните клетки somatic cells count	Брой проби number of samples	Брой проби без патогенни микроорганизми number of samples without pathogenic microorganisms	Брой проби с изолирани патогенни микроорганизми number of samples of isolated pathogens
	n	n^0	n^1
Соматичните клетки до $500 \times 10^3 / \text{ml}$ Somatic cells to $500 \times 10^3 / \text{ml}$	24	24	-
Соматичните клетки от 500 до $1000 \times 10^3 / \text{ml}$ Somatic cells from 500 to $1000 \times 10^3 / \text{ml}$	8	6	2
Соматичните клетки от 1000 до $1500 \times 10^3 / \text{ml}$ Somatic cells from 1000 to $1500 \times 10^3 / \text{ml}$	14	-	14
Соматичните клетки над $1500 \times 10^3 / \text{ml}$ Somatic cell $1500 \times 10^3 / \text{ml}$	6	-	6
Общо Total	52	30	22

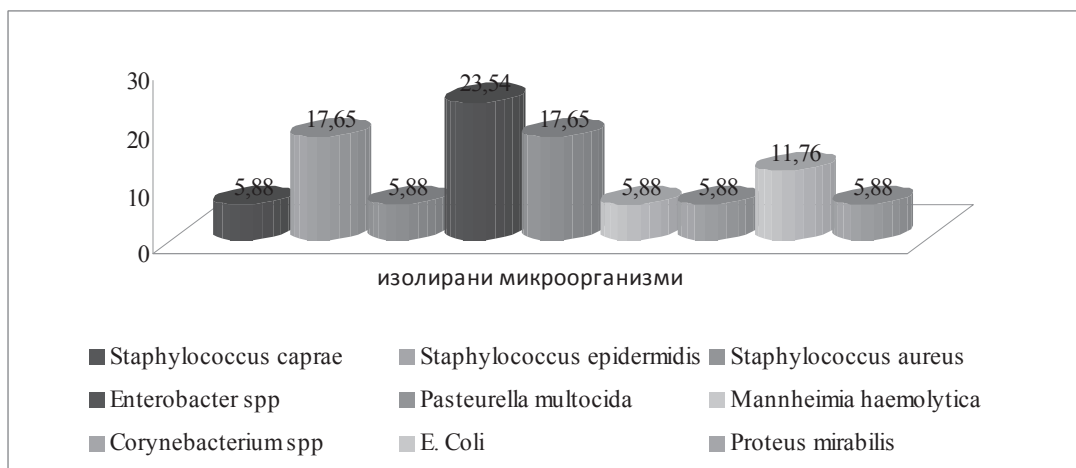
при първоначалното изследване на животните на място във фермата, не може да бъде единствен критерий за реалното разпространение на субклиничните мастити в изследваната група. Това се определя от факта, че БМТ реагира с промяна в консистенцията при повишаване на броя на соматичните клетки. При козите обаче, нормално соматичните клетки в млякото са повече от тези в кравето мляко, без да са налице възпалителни процеси. Този факт до известна степен ограничава индивидуалното приложение на БМТ за диагностика на скритите мастити, но въпреки това той може да се използва като средство за селектиране при получаване на проби за лабораторно изследване, което е задължително условие при поставяне на окончателна диагноза. Влияние върху резултатите от БМТ оказва и прекалено ранното изследване на животните след раждането, когато все още има отделяне на коластра.

Поради липсата на единен стандарт като гранична стойност на соматичните клетки за разграничаване на инфектирани и незасегнати от инфекция млечни половици ние приехме $500 \times 10^3 / \text{ml}$, стойност използвана и други автори (Poutrel et al., 1997; Божкова и кол., 2003; Vasiu et al., 2008; Persson and Olofsson, 2011).

Нашите резултати показват, че при 46.15% ($n=24$) от изследваните проби броят на соматичните клетки е в рамките на приетата от нас норма от $500 \times 10^3 / \text{ml}$, докато при останалите проби ($n=28$), соматичните клетки са над тази граница. Това по-високо количество на соматичните клетки обаче не е достатъчен критерий за диагностициране на субклиничните мастити, което налага задължително да се направи микробиологично изследване за наличие на патогенни микроорганизми.

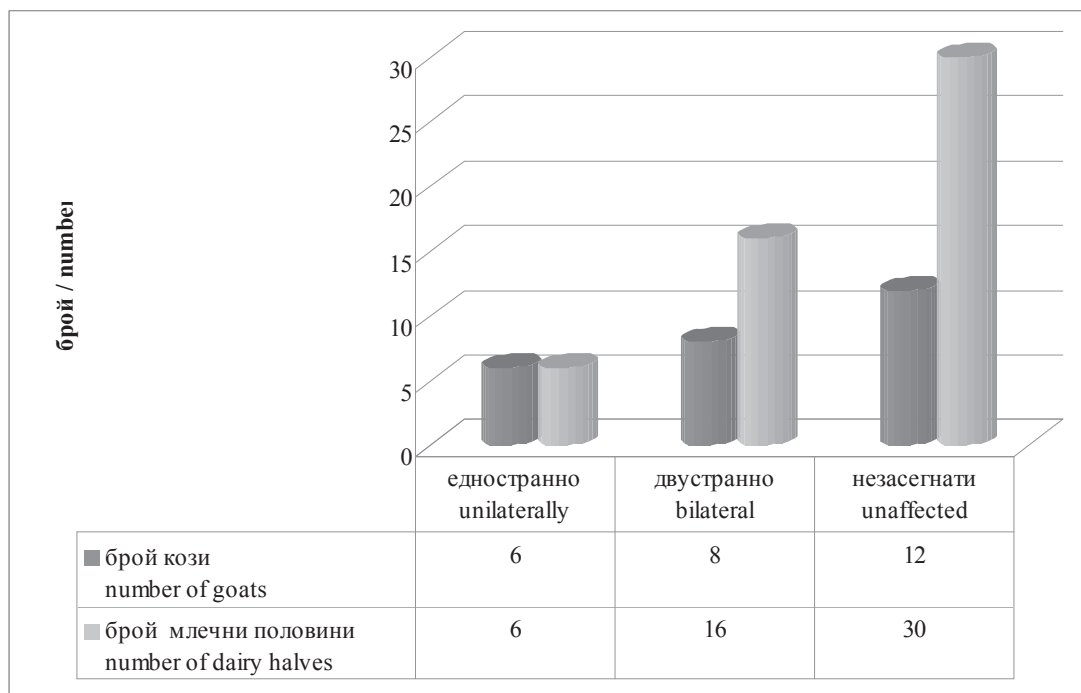
При направените микробиологични изследвания на

всички проби ($n=52$) беше установено, че 30 бр. ($n^0=30$) от тях са отрицателни за патогенни микроорганизми, независимо от нивото на соматичните клетки, като такива се откриват при 22 бр. ($n^1=22$) от пробите. При всяка от тези 22 проби броят на соматичните клетки е над $500 \times 10^3 / \text{ml}$, и положителна реакция на БМТ с оценка с 2 и 3. Най-честите причинители, изолирани от положителните проби, са от групата на стафилококите и ентеробактериите, но също така са изолирани пастюрели, коринебактерии и колибактерии, което е в съответствие с твърдението за широка гама потенциални причинители на субклиничния мастит при козите. Само при 6 бр. проби (11.54%) със соматичните клетки над $500 \times 10^3 / \text{ml}$, не бяха изолирани патогенни микроорганизми, което подкрепя ефективността на избраната от нас гранична стойност на соматичните клетки. Ако бъде използвана приетата класификация за основните състояния на млечната жлеза при кравите, тези млечни половици се определят със състояние на секреторно разстройство. При козите обаче трудно може да говорим за подобно състояние на млечната жлеза при подобен брой соматични клетки, поради нормално по-високото им количество в млякото, дължащо се холокринен и апокринен тип млечна секреция при този вид животни. Именно поради това някои автори приемат и двойно по-висока норма на соматичните клетки. Установеното от нас разпространение на субклиничните мастити от 42.31% в началото на лактацията е близко до регистрираното по-рано от Божкова и кол. (2000) – 39.05% и чувствително по-високо от резултатите на McDougall et al. (2002), които установяват 27.3% разпространение на субклиничните маститите в периода след раждането.



Фиг. 2. Изоларани микроорганизми

Fig. 2. Isolated microorganisms



Фиг. 3. Брой засегнати / незасегнати кози и млечни половини

Fig. 3. Number of affected / unaffected goats and dairy halves

ИЗВОДИ

Индиректните методи самостоятелно не могат да служат за диагностика на субклинични мастити при козите в началото на лактационния период, но могат да се използват за селектиране на вземаните стерилни млечни проби за лабораторна диагностика.

Субклиничният мастит при козите в началото на лактационния период по-често засяга и двете половини на млечната жлеза.

Брой на соматичните клетки от $500 \times 10^3 / \text{ml}$ е под-

ходящ като гранична стойност при диагностиката на субклиничните мастити при козите.

ЛИТЕРАТУРА

1. Божкова, Г., Т. Гълабинова, Н. Коруджийски, В. Филипов, Ж. Байчев, Р. Бечева, 2000. Проблемът за маститите и млечната продуктивност при козите., Селскостопанска наука, 6, 24-26.

2. **Божкова, Г., Т. Гълабинова, Н. Коруджийски, Л. Ангелов, П. Зунев, Г. Узунунов, М. Макавеева**, 2003. Цитологични и биохимични промени в млякото на кози със субклиничен мастит. *Животновъдни науки*, 5, 99-102.
3. **Косев, К. и М. Колева.**, 1989. Приложение на тест Bernburg за откриване на скрити мастити при кози., *Ветеринарна сбирка*, 6, 36-37
4. **Ajuwape, A. T. P., A. Roberts, O. Solarin and A. Adetosoye**, 2005. Bacteriological and haematological studies of clinical mastitis in goats in Ibadan, OYO State, Nigeria. *Small Ruminant Research*, 60, 307-310
5. **Aydin, K., H. Celik**, 2009. Identification and antimicrobial susceptibility of subclinical mastitis pathogens isolated from hair Goats 'Milk. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (6): 1086-1090
6. **Bergonier, D., R. Crémoux, R. Rupp, G. Lagriffoul and H. Berthelot**, 2003. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.* 34, 689-716
7. **Christodouloupoulos, G., N.Solomakos, P. Katsoulos, A. Minas and S. Kritas**, 2008. Influence of oestrus on the heat stability and other characteristics of milk from dairy goats. *J. Dairy Res.* 75, 64-68.
8. **Contreras, A., C. Luengo, A. Sánchez and J. Corrales**, 2003. The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livestock Production Science*, 79, 2-3, 273-283
9. **Contreras, A., D. Sierra, J. Corrales, A. Sanchez and J. Marco**, 1996. Physiological threshold of somatic cell count and California mastitis test for diagnosis of caprine subclinical mastitis. *Small Rumin. Res.*, 21, 259-264
10. **Delgado-Pertinez, M., M. Alcalde, J. Guzman-Guerrero, J. Castel, Y. Mena and F. Caravaca**, 2003. Effect of hygiene-sanitary management on goat milk quality in semi-extensive systems in Spain. *Small Rumin. Res.* 47, 51-61.
11. **Jendretzke, K.**, 2009, Untersuchungen zu Laktosegehalt, somatischer Zellzahl und bakteriologischer Beschaffenheit von Ziegenmilch aus hessischen Beständen. *Gießen : WB Lauferweiler*, 120 p.
12. **Luengo, C., A. Sanchez, J. Corrales, C. Fernandez and A. Contreras**, 2004. Influence of intramammary infection and non-infection factors on somatic cell counts in dairy goats. *J. Dairy Res.* 71, 169-174.
13. **Marogna, G., C. Pilo, A. Vidili, S. Tola, G. Schianchi and S. Leori.**, 2012. Comparison of clinical findings, microbiological results and farming parameters in goat herds affected by recurrent infectious mastitis, *Small Ruminant Research*, 102, 74- 83.
14. **McDougall, S., Pankey W., Delaney C., Barlow J., Murdough P.A. and Sruton D.**, 2002. Prevalence and incidence of subclinical mastitis in goats and dairy ewes in Vermont, USA. *Small Ruminant Research*. 46, 115-121
15. **McDougall, S., K. Supré, S. De Vlieghe, F. Haesebrouck, H. Hussein, L. Clausenand and C. Prosser**, 2010. Diagnosis and treatment of subclinical mastitis in early lactation in dairy goats, *Journal of Dairy Science*, 93, 10, 4710-4721.
16. **Moroni, P., G. Pisoni, G. Savoini, E. Lier, S. Acuna, J. Damian and A. Meikle**, 2007. Influence of estrus of dairy goats on somatic cell count, milk traits, and sexsteroid receptors in the mammary gland. *J. Dairy Sci.* 90, 790-797.
17. **Paape, M., G. Wiggins, D. Bannerman, D. Thomas, A. Sanders, A. Contreras, P. Moroni and R. Miller**, 2007. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts, *Small Ruminant Research* 68 , 114-125
18. **Persson, Y., and I. Olofsson**, 2011. Direct and indirect measurement of somatic cell counts as indicator of intramammary infection in dairy goats, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53, 15-20.
19. **Poutrel, B., R. Crémoux, M. Ducelliez and D.**, 1997. Control of intramammary infections in goats: Impact on somatic cell counts. *J. Anim. Sci.*, 75, 566-570.
20. **Schaeren, W., and J. Maurer**, 2006. Prevalence of subclinical under infections and individual somatic cell counts in three dairy goatherds during a full lactation. *Schweiz Arch Tierh* 148, 641-648
21. **Silva, M. C. A., M. P. Cavalcante, M. G. A. R., Almeida, C. G. G. Barros, W. L. R., Costa, N. S. Silva, and Alzamora Filho, F.**, 2011. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from mastitis milk samples from goats in Brazil. *Animal hygiene and sustainable livestock production. Proceedings of the XVth International Congress of the International Society for Animal Hygiene, Vienna, Austria, 3-7 July 2011, Volume 3, pp. 1419-1422*
22. **Souza, G., J. Brito, M. Aparecida, V. Brito, C. Lange, C. Faria, L. Moraes, R. Fonseca and Y. Silva**, 2009. Composition and bulk somatic cell counts of milk from dairy goatherd sin Southeastern Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 46, 19-24.
23. **Vasiu, C., I. Bogolin, and P. Bolfa.** 2008. Relation between the geometrical mean of somatic cells from bulk milk and the prevalence of subclinical intramammary infection sin sheep and goats. *Bulletin USAMV Veterinary Medicine* 65, 339-344

PREVALENCE AND DIAGNOSIS OF SUBCLINICAL MASTITIS
IN GOATS IN EARLY LACTATION

*K. Hristov, P. Parvanov, T. Popova, B. Kashamov**

University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine - Sofia

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

SUMMARY

The purpose of this study was to investigate the effectiveness of direct and indirect methods for diagnosis of subclinical mastitis in goats and prevalence of the disease in early lactation. The study included 26 animals of the breed Bulgarian white dairy goat and its crosses, first or second lactation found in early lactation period (15-20 days after birth). The express diagnostics of subclinical mastitis was carried out using a rapid mastitis test CMT-Test (Kruuse, Denmark) and test Porta SCC (Porta Check, USA). After an initial screening for the accurate diagnosis to determine the number of somatic cells by Fossomatic and microbiological testing for isolation of pathogenic microorganisms. The results showed 42.31% prevalence of subclinical mastitis in the early stages of lactation. The isolated microorganisms included: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter spp.*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Corynebacterium spp.*, *E. Coli*, and *Proteus mirabilis*. Final analysis showed that the self-administration of the indirect tests for the diagnosis of subclinical mastitis in goats is ineffective in early lactation, but can be used for selection of animals which produce a sterile milk samples for laboratory analysis. In early lactation sub-clinical inflammation mostly affects both halves of the breast, as proof of 500×10^3 somatic cells in 1 ml of milk secretion is the appropriate limit for the diagnosis of subclinical mastitis in goats.

Key words: *goats, diagnostics, subclinical mastitis, mammary gland, somatic cells*

e-mail: kalin_ss@abv.bg