

УДК: 619: 636.2:618.19-002:579.887:852.13  
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2026.1.77

## СЛУЧАЙ ВЫЯВЛЕНИЯ МИКОПЛАЗМЕННОГО МАСТИТА У КОРОВ НА ФОНЕ ВТОРИЧНОЙ АНАЭРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ

**Исакова М.Н.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела репродуктивной биологии и неонатологии (ORCID 0000-0001-7130-5627); **Безбородова Н.А.** \* – канд. ветеринар. наук, зав. отделом геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0003-2793-5001); **Мартынов Н.А.** – лаборант отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0001-9251-0056); **Зубарева В.Д.** \* – канд. ветеринар. наук, ст. спец. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0003-0284-0276); **Кожуховская В.В.** – науч. сотр. отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией (ORCID 0000-0001-7924-6844).

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр  
Уральского отделения Российской академии наук»

\*n-bezborodova@mail.ru.

**Ключевые слова:** коровы, мастит, абсцесс, отек, вымя, мышцы бедра, микоплазменная инфекция, клостридии, этиологически значимые патогены, полимеразная цепная реакция, культуральный метод, масс-спектрометрия.

**Key words:** cows, mastitis, abscess, edema, udder, thigh muscles, mycoplasma infection, clostridia, etiologically significant pathogens, polymerase chain reaction, culture method, mass spectrometry.

**Финансирование:** Материалы подготовлены в рамках государственного задания Минобрнауки России по теме «Изучение современных особенностей приоритетных патогенов и восприимчивых сельскохозяйственных животных и разработка актуального комплекса диагностических, иммунобиологических препаратов и подходов для управления, прогнозирования и обеспечения эпизоотической и биологической безопасности» (0532-2026-0006).

Поступила: 05.12.2025

Принята к публикации: 05.03.2026  
Опубликована онлайн: 01.04.2026



### РЕФЕРАТ

В статье представлены данные о сочетанном поражении молочного стада коров микоплазмозом и клостридиозом, вызывающих у животных стойкую хронизацию мастита, гнойную форму с абсцессами молочной железы, отёк и гнилостное разложение мышц задних конечностей. Проведённая комплексная лабораторная диагностика (культуральные исследования, MALDI-TOF масс-спектрометрия, ПЦР) выявила высокую распространённость хронических (5,3%) и субклинических (53,3%) маститов, а также гнойно-некротических поражений мышц (16,6%). Основными возбудителями маститов стали *M. bovis genitalium* (22,2%), *S. aureus* (16,7–60%) и *T. pyogenes*, а гнойных инфекций — *B. pyogenes* (21,4%) и *Clostridium perfringens* тип А. Выявлена значительная антибиотикорезистентность: 75% *E. coli*

устойчивы к фторхинолонам и цефалоспорином I поколения, 33,3% *S. aureus* — к цефалоспорином II поколения (MecA), *S. agalactiae* и *Staphylococcus* spp. — к макролидам (ErmB). Рекомендованы препараты выбора: цефтиофур — против *T. pyogenes* и чувствительных *S. aureus*, гентамицин — при грамотрицательных инфекциях, тилозин — при микоплазменных маститах, фторхинолоны — при клостридиозах. Лечение должно быть основано на тестировании чувствительности, с строгим соблюдением дозировок и курса. Ключевое значение имеют профилактика (гигиена доения, вакцинация, дезинфекция) и регулярный мониторинг резистентности.

#### ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Микоплазменная инфекция у коров представляет серьезную проблему в молочном животноводстве, приводя к снижению продуктивности, ухудшению качества молока и экономическим потерям [12, 13, 25]. Наибольшую опасность для молочного животноводства наносят такие виды микоплазм как *M. bovis genitalium*, *M. bovis mastitidis*, *M. agalactiae*, *M. bovis*, вызывая поражения в молочной железе и репродуктивных органах у коров [4, 8, 18,]. Особый риск также представляет развитие вторичных анаэробных инфекций (например, *Trueperella pyogenes*, *Bacteroides pyogenes*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*), усугубляющих течение болезни и повышающих риск возникновения гангренозных процессов в вымени [11, 16].

Из зарубежных источников литературы известно, что *Mycoplasma* spp. выявляются у крупного рогатого скота как вторичная инфекция при маститах, артритах, пневмониях, отитах, вульвовагинитах и эндометритах [5, 9, 14, 19]. Ранее считалось, что микоплазмы как правило, играют второстепенное значение в развитии инфекций, усугубляя уже существующее заболевание [19]. Однако позже было доказано, что микоплазмы могут играть ведущую роль в развитии патологического процесса различной локализации [23]. Микоплазмы, как правило являются высококонтагиозными патогенами, способными вызывать тяжелое течение заболеваний, плохо поддающихся антибиотикотерапии, за счет способности образовывать биопленки [1, 10, 17].

Известно, что клостридиозы могут быть причиной спорадических острых маститов у коров, возбудителем которых является *Clostridium perfringens* и *Clos-*

*tridium difficile*, особенно у животных в ранний лактационный период, после антибиотикотерапии, а также в стадах с нарушением гигиены доения [2, 6, 24].

Для предотвращения вспышек заболеваний вызванных *Mycoplasma* spp. и *Clostridium* spp. необходима быстрая и точная комплексная диагностика. В связи с чем целью нашей работы стало комплексное изучение этиологической структуры маститов и сопутствующих инфекционных поражений у крупного рогатого скота с определением спектра возбудителей, их антибиотикорезистентности и разработкой рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике.

Были поставлены следующие задачи: провести клинический осмотр поголовья стада; оценить условия содержания, кормления и технологии машинного доения коров; произвести отбор проб от животных с клиническими признаками; провести лабораторную диагностику биологического материала (секрет молочной железы, раневое отделяемое, содержимое полости абсцесса, фекалии) и патологического материала; определить чувствительность к антимикробным препаратам; установить наличие генов резистентности, отвечающих за устойчивость к разным группам антимикробных препаратов.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили в течение 2023 года в отделе геномных исследований и селекции животных, отделе репродуктивной биологии и неонатологии и в лаборатории вирусных инфекций Уральского НИВИ – структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН в рамках государственного задания Минобрнауки России по теме «Изучение современных особенностей приоритетных патоген-

нов и восприимчивых сельскохозяйственных животных и разработка актуального комплекса диагностических, иммунобиологических препаратов и подходов для управления, прогнозирования и обеспечения эпизоотической и биологической безопасности» (0532-2026-0006).

Работу проводили на базе молочно-товарной фермы, расположенной в Артинском районе Свердловской области, в которой содержится 945 коров с продуктивностью более 5500 кг и 595 голов молодняка.

На начальном этапе изучали журналы ветеринарного учета и формы отчетности. А именно журнал регистрации больных животных и журнал учета противоэпизоотических мероприятий, форма №1-вет «Отчет о заразных болезнях животных» и форма №2-вет «Отчет о незаразных болезнях животных».

Затем проводили осмотр поголовья животных и условий их содержания, наблюдение за организацией процесса доения коров. Мастит диагностировали в соответствии с Наставлением по диагностике терапии и профилактике мастита у коров (Семиволос А.М. и др., 2009). Клиническую форму мастита устанавливали с помощью клинического обследования молочной железы. Для диагностики субклинической формы мастита использовали экспресс-тест «Кенотест» (CID LINES, Бельгия). Абсцессы диагностировали на основании клинического осмотра, пальпации и пробного прокола. Анализ условий содержания и организации процесса доения выполняли с использованием визуального метода, выявленные нарушения фиксировали на бумажном носителе.

Для проведения лабораторной диагностики осуществляли отбор биологического материала: секрет молочной железы от коров с признаками субклинического мастита, для проведения микробиологических исследований с помощью культурального метода (10 проб); секрет молочной железы от коров с хроническим маститом (5 проб) и экссудат из абсцесса вымени при гнойной форме клинического мастита (1 проба), для проведения микро-

биологических исследований с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии и ПЦР – диагностики; раневое отделяемое с мышц бедра, для проведения микробиологических исследований с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии и ПЦР (5 и 7 проб соответственно); биологические пробы от коров с гнилостным разложением мышц бедер, для проведения ПЦР исследования (7 проб). Для выявления путей передачи возбудителя дополнительно отбирались пробы фекалий от животных (n=10, объединённая проба). Биоматериал собирали в соответствии с рекомендациями по забору проб с применением правил асептики [3].

Микробиологические исследования с использованием культурального метода проводили в соответствии с методическими рекомендациями «Методы бактериологического исследования условно-патогенных микроорганизмов в клинической микробиологии от 19.12.1991 г.». Из проб делали посевы на жидкие и плотные агаризованные питательные среды: Эндо, Сабуро, Чапека, Левина, Плоскирева, №10, мясо-пептонный бульон (МПБ), бульон для выделения стрептококков, Энтерококкагар, Висмут-сульфит агар, Цетримидный агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Идентификацию выделенных изолятов проводили путем посева на среды Гисса с сахарами, руководствовались определителем бактерий по Берджи [7] и определителем патогенных и условно-патогенных грибов [15]. Для дифференциации выделенных микроорганизмов применяли дифференциально-диагностические тест системы (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия).

Исследования с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии проводили на базе лаборатории медицинского центра ООО «Кволити Мед». Посев на питательные среды осуществляли методом истощающего посева на следующие питательные среды: 5% агар с кровью барана (основа Колумбийский агар, Bio-Rad, пр-во Франция; кровь барана дефи-

бринарованная, E&O Laboratories, пр-во Шотландия), желточно-солевой агар (питательный агар для культивирования микроорганизмов ГРМ-агар, ФБУН ГНЦ ПМБ, пр-во Россия), хромогенный агар (UriSelect 4, Bio-Rad, пр-во Франция), агар Сабуро с 2% глюкозы и хлорамфениколом (SIFIN diagnostics, пр-во Германия). Идентификацию выросших колоний производили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на приборе Vitek MS (BioMerieux, пр-во Франция).

Определение чувствительности к антимикробным препаратам определяли у выделенных изолятов культуральным методом и методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. Чувствительность к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом по стандартной методике, описанной EUCAST, а также с использованием инструкций к тест-системам.

ДНК выделяли с помощью наборов «Diatom DNA Prep 200» (ООО «ИзоГен», Москва). ПЦР-диагностику проводили с применением тест-систем «РеалБест-Вет ДНК Clostridium difficile/Clostridium perfringens», «РеалБест-Вет ДНК M.bovigenitalium, M.bovis» (Россия). Типизацию клостридий на наборе реагенти-ки «РеалБест-Вет ДНК Clostridium difficile tcdA/tcdB/CDT» (АО «Вектор-Бест», Москва). Амплификацию в режиме реального времени осуществляли на приборе QuantStudio 5 (Thermo FS, США), термоциклере модели 2720 (Applied Biosystems, Сингапур).

Токсинотипы *C. perfringens* определяли методом ПЦР на основании наличия генов, кодирующих  $\epsilon$ -токсин – *etx*,  $\iota$ -токсин – *iap*, фосфолипазу C – *plc*, энтеротоксин – *cpe* и  $\beta$ -токсин – *cpb* по протоколу, предложенному Julian I. Rood [21].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По данным ветеринарного учета и отчетности на момент исследования у 5,3% коров установили хронический мастит, рецидивы которого наблюдаются в течение 6 месяцев, 6,7% животных имели отек бедра и области пяточного сустава, при вскрытии которого наблюдали отсут-

ствие гнойных или гнилостных выделений, при проведении разреза диагностировали большое количество светлой жидкости, воздух между мышцами; мышцы плотные, отечные и в фасциях. Из журнала учета противозооотических мероприятий установили, что иммунизация животных с применением вакцин «Хипрабовис-4» и «Токсипра Плюс» проходит согласно схеме вакцинации, но с нарушением сроков вакцинации, из-за смены вакцины «Когловакс-8» от анаэробной инфекции на «Токсипра Плюс».

Клиническим осмотром у 30 животных установлен субклинический (53,3%) и клинический (16,7%) мастит, при котором у 6,6% наблюдали гнойную форму, характеризующуюся образованием абсцессов вымени. Также были обнаружены абсцессы мышц бедер с гнойными воспалениями (16,6%), при вскрытии которых наблюдали ихорозный запах, наличие пузырьков воздуха, жидкие гнилостные массы.

При проведенном анализе условий содержания и организации процесса доения был выявлен ряд нарушений, способный приводить к инфекционным заболеваниям и их последствиям в стаде. Основные из них представлены в схеме 1.

Для получения более обширных данных о возбудителях способных проявлять установленные клинические признаки в молочной железе и мышечной ткани бедер, а также подбора рациональной терапии применяли разные методы исследования биологического материала, используемые для выделения микроорганизмов, что представлено в таблице 1, на рисунке 1.

Из таблицы №1 видно, что из 5 проб секрета молочной железы коров с хроническим маститом методом ПЦР в одинаковом количестве (22,2%) были выделены гены *Mycoplasma bovis*, *Clostridioides difficile* типа A, B, CDT, *Escherichia coli*. В 16,7% и 11,1% проб выявлены ДНК *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus spp.* соответственно. Гены *Streptococcus agalactiae* были обнаружены в наименьшем количестве в 5,6% проб.

Также ПЦР-исследованиями было установлено, что 75,0% *E.coli* имели гены резистентности *blaCTX-M/ blaOXA-10*, отвечающие за устойчивость к фторхинолонам, цефалоспорином I поколения и ампициллинам. У выявленного изолята *S. agalactiae* обнаружили ген *ErmB*, определяющий резистентность к группе макролидов, линкозамидов и стрептограмину В. Выявленные ДНК *S. aureus* имели гены устойчивости (*MecA*) к цефалоспорином 2

поколения в 33,3% проб. Все изоляты *Staphylococcus spp.* обладали генами мутации (*ErmB*), отвечающими за резистентность к группе макролидов, линкозамидов и стрептограмину В. В то же время как во всех изолятах *Staphylococcus spp.* были выявлены генетические детерминанты (*ErmB*), опосредующие устойчивость к группе макролидов, линкозамидов и стрептограмину В.

**Таблица 1 – Выделенные изоляты микроорганизмов из проб секрета молочной железы коров с хроническим маститом, с использованием разных методов идентификации (n=5)**

| Биологический материал                        | Метод MALDI-TOF масс-спектрометрии  |                 |      | Метод ПЦР                                      |      |
|---|-------------------------------------|-----------------|------|--|------|
|   | Изоляты                             | КОЕ /мл         | %    | ДНК  | %    |
| Секрет вымени от коров с хроническим маститом | <i>Enterococcus faecalis</i>        | 10 <sup>5</sup> | 12,5 | <i>Mycoplasma bovigenitalium</i>               | 22,2 |
|   | <i>Acinetobacter lwoffii</i>        | 10 <sup>2</sup> | 12,5 | <i>Clostridioides difficile</i> типа А, В, СДТ | 22,2 |
|   | <i>Empedobacter brevis</i>          | 10 <sup>2</sup> | 12,5 | <i>Escherichia coli</i>                        | 22,2 |
|   | <i>Aerococcus viridans</i>          | 10 <sup>2</sup> | 12,5 | <i>Staphylococcus aureus</i>                   | 16,7 |
|   | <i>Candida catenulata</i>           | 10 <sup>3</sup> | 12,5 | <i>Staphylococcus spp.</i>                     | 11,1 |
|   | <i>Staphylococcus sciuri</i>        | 10 <sup>2</sup> | 12,5 | <i>Streptococcus agalactiae</i>                | 5,6  |
|   | <i>Bacillus altitudinis/pumilus</i> | 10 <sup>2</sup> | 12,5 |  |      |
|   | <i>Corynebacterium bovis</i>        | 10 <sup>4</sup> | 12,5 |  |      |

С помощью классической микробиологии с применением метода MALDI-TOF масс-спектрометрии из проб секрета молочной железы было выделено 8 изолятов с частотой встречаемости 12,5% каждый соответственно. В зависимости от титра колониеобразующих единиц установлены этиологически значимые в развитии мастита у коров изоляты: *Enterococcus faecalis* (10<sup>5</sup> КОЕ/мл) и *Corynebacterium bovis* (10<sup>4</sup> КОЕ/мл). При этом у *Enterococcus faecalis* была выявлена чувствительность при стандартном дозировании к левофлоксацину и ципрофлоксацину (группа фторхинолоны), ампициллину (группа пенициллины) и гентамицину (аминогликозиды). У изолята *Corynebacterium bovis* определена чувствительность

к пенициллинам, цефалоспорином и фторхинолонам. *Bacillus altitudinis/pumilus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Empedobacter brevis*, *Aerococcus viridans*, *Staphylococcus sciuri* в титре 10<sup>2</sup> КОЕ/мл и дрожжевые грибы *Candida catenulata* (10<sup>3</sup> КОЕ/мл) не являлись значимой причиной в развитии установленных клинических признаков.

При микробиологическом исследовании 10 проб секрета молочной железы от животных, имеющих субклиническое течение мастита, с использованием культурального метода было выделено 39 изолятов микроорганизмов. В подавляющем случае (25,6%) культивированы изоляты *Staphylococcus aureus*. Количество изолятов непатогенного типа *E. coli* и условно-

патогенной группы *Streptococcus spp.* составило 17,9%. Количество изолятов, относящихся к роду грибов-аскомицетов *Penicillium spp.* составило 12,8%. Изоляты

*Enterococcus faecium* выделили в 5,1%. Установили также единичное количество (2,6%) изолятов *Enterobacter spp.* и плесневых грибов *Mucor* (рисунок 1).

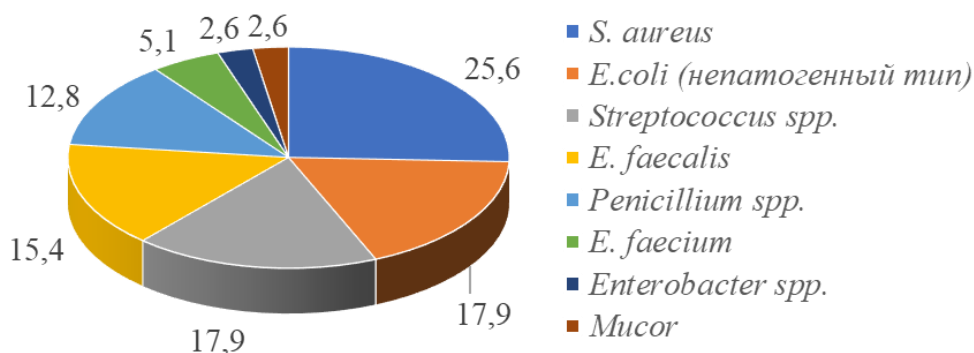


Рисунок 1 – Выделенные изоляты из проб секрета молочной железы коров с субклиническим маститом при использовании культурального метода исследования, n=39.

При определении резистентности к антибиотикам у всех выделенных изолятов *E. coli* и у 90% изолятов *S. aureus*, *E. faecalis* и *E. faecium* выявлена чувствительность к антибактериальным препаратам комбинированного типа (ампициллин/кловксациллин, цефотаксим/неомицина сульфат, неомицин/тетрациклин) применяемым на молочно-товарной ферме.

При исследовании содержимого полости абсцесса молочной железы выделены следующие микроорганизмы: *Bacillus altitudinis/pumilus* ( $10^2$  КОЕ/мл), *Bacteroides pyogenes* ( $10^4$  КОЕ/мл), *Candida catenulata* ( $10^3$  КОЕ/мл), *Leuconostoc mesenteroides* ( $10^2$  КОЕ/мл) и *Trueperella pyogenes* ( $10^5$  КОЕ/мл). Известно, что *Trueperella pyogenes* является этиологически значимым в развитии воспалительных процессов в молочной железе [20]. При проведении дополнительного исследования экссудата абсцесса методом ПЦР были выявлены гены *C. difficile* тип А.

ПЦР-исследования биоматериала с раневых поверхностей от коров показали присутствие во всех ДНК *C. difficile* нетоксигенного типа.

Культуральными исследованиями с

идентификацией микроорганизмов методом MALDI-TOF масс-спектрометрией из этиологически значимых микроорганизмов в преобладающим количестве (21,4%) выделены изоляты *Bacteroides pyogenes* ( $10^4$ - $10^5$  КОЕ/мл) которые являются возбудителями гнойно-воспалительных заболеваний. Количество обнаруженных изолятов *T. pyogenes* (КОЕ/мл  $10^4$ - $10^5$ ) и *Proteus mirabilis* (КОЕ/мл  $10^3$ - $10^6$ ), которые также являются возбудителями гнойных инфекций у коров (в том числе метрита, эндометрита, мастита), сопровождающихся септическим процессом и развитием абсцессов различной локализации составило по 10,7%. Установлено, что изоляты *T. pyogenes* обладали чувствительностью к цефтиофуру (цефалоспорины) и гентамицину (аминогликозиды). К клинически значимым микроорганизмам также были отнесены выделенные изоляты *Klebsiella oxytoca* (7,1%) с КОЕ/мл  $10^3$ , которые обладали чувствительностью при стандартном дозировании к гентамицину (аминогликозиды), левофлоксацину и ципрофлоксацину (фторхинолоны) (таблица 2).

Таблица 2 – Выделенные изоляты микроорганизмов из проб раневого отделяемого мышц бедра коров, с использованием разных методов идентификации, n=12

| Метод исследования           | Количество проб | Количество изолятов | Изолят   | %     |
|------------------------------|-----------------|---------------------|--|-------|
| MALDI-TOF масс-спектрометрия | 7               | 28                  | <i>Aerococcus viridans</i>                       | 7,1   |
|                              |                 |                     | <i>Bacteroides pyogenes</i>                      | 21,4  |
|                              |                 |                     | <i>Candida catenulata</i>                        | 17,9  |
|                              |                 |                     | <i>Klebsiella oxytoca</i>                        | 7,1   |
|                              |                 |                     | <i>Empedobacter brevis</i>                       | 3,6   |
|                              |                 |                     | <i>Prevotella melaninogenica</i>                 | 10,7  |
|                              |                 |                     | <i>Trueperella pyogenes</i>                      | 10,7  |
|                              |                 |                     | <i>Helcococcus kunzii</i>                        | 3,6   |
|                              |                 |                     | <i>Proteus mirabilis</i>                         | 10,7  |
|                              |                 |                     | <i>Candida rugosa</i>                            | 3,6   |
|                              |                 |                     | <i>Streptococcus sanguinis</i>                   | 3,6   |
| ПЦР                          | 5               | 5                   | <i>Clostridium difficile</i> нетоксигенного типа | 100,0 |
|                              |                 |                     | <i>C.perfringens</i> mun A                       | 100,0 |

В 100% проб от коров с гнилостным разложением мышц бедер обнаружены ДНК *C.perfringens* тип А и *C. difficile* нетоксигенного типа.

При исследовании фекалий выделены следующие изоляты микроорганизмов: *Aspergillus niger* ( $10^3$  КОЕ/мл), *Candida rugosa* ( $10^3$  КОЕ/мл), *Bacillus subtilis* ( $10^5$  КОЕ/мл), *Proteus mirabilis* ( $10^5$  КОЕ/мл) с превышением колониеобразующих единиц (КОЕ), что свидетельствует о дисбиозе на фоне микоплазменной и клостридиальной инфекции. Изоляты *Proteus mirabilis* обладали резистентностью к антибиотикам группы цефалоспоринов II поколения и полусинтетическим антибиотикам широкого спектра действия группы пенициллинов в комбинации. Данные микроорганизмы были чувствительны при стандартном дозировании к гентамицину (аминогликозиды), левофлоксацину и ципрофлоксацину (фторхинолоны).

#### ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведённые исследования секрета молочной железы коров выявили, что основными этиологическими агентами мастита являлись *Mycoplasma bovis* (обнаружен в 80% проб), *Staphylo-*

*coccus aureus* (60%) и *Streptococcus agalactiae* (20%). Основной путь передачи этих патогенов — контактный (через доильный аппарат, руки оператора, подстилку). *Trueperella pyogenes*, ассоциированный с окружающей средой, мог распространяться насекомыми или при контакте с загрязнёнными поверхностями.

Вторичная микрофлора, осложняющая воспаление молочной железы - *E. coli*, энтерококки (*E. faecalis*, *E. faecium*), *Clostridium difficile* и другие. Источником клостридий в молоке являлись загрязнённые навозом помещения и оборудование. Основными возбудителями раневых инфекций стали *Bacteroides pyogenes*, *T. pyogenes* и *C. perfringens* тип А.

Исследования показали высокую распространённость антибиотикорезистентности: 75% *E. coli* были резистентны к фторхинолонам и β-лактамам, 33,3% *S. aureus* — к цефалоспорином II поколения. *S. agalactiae* и *Staphylococcus* spp. проявляли устойчивость к макролидам. *M. bovis* природно устойчива к β-лактамам, *C. difficile* — ко многим стандартным антибиотикам.

На основании данных чувствительно-

сти рекомендована таргетная терапия: цефтиофур — против *T. pyogenes* и *S. aureus*; гентамицин — при грамотрицательных инфекциях; тилозин — при микоплазменных маститах; фторхинолоны — при клостридиозах. Ключевое значение имеют строгое соблюдение курса лечения, регулярный мониторинг резистентности и усиление профилактических мер (гигиена доения, вакцинация).

Таким образом, на молочно-товарной ферме у коров установили наслоение двух инфекций, которое происходит при смешанном течении бактериальных заболеваний, вызванных *Mycoplasma bovis* и *Clostridium spp.* (*C. perfringens*, *C. difficile*) с присоединением вторичной бактериальной микрофлоры. Ключевыми факторами распространения инфекций стало — нарушение гигиены доения, загрязненная подстилка, несоблюдение сроков регламентов вакцинопрофилактики клостридиозов у крупного рогатого скота.

Микоплазменный мастит обуславливает длительное хроническое течение воспаления, наличие абсцессов в молочной железе. Клостридиоз характеризует клиническое проявление в виде наличия гнойных поражений мышц бедра и абсцессов мышечной ткани задних конечностей. Заражение коров несколькими патогенами усугубляет клиническое проявление и является причиной применения более сложных схем лечебных и профилактических мероприятий, включающих преждевременную выбраковку хронически больных животных с подтвержденным диагнозом, тщательную дезинфекцию животноводческих помещений, регулярную чистку поверхности тела животных для снижения контаминации кожных покровов вероятными патогенами, подбор и ротацию разных схем антибиотикотерапии, строгое соблюдение технологического процесса доения коров.

Проведенные исследования подчеркивают необходимость комплексного подхода к диагностике и лечению маститов и гнойно-некротических поражений у коров.

#### A CASE OF MYCOPLASMA MASTITIS DETECTION IN COWS WITH SECONDARY ANAEROBIC INFECTION

**Isakova M.N.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher in the Department of Reproductive Biology and Neonatology (ORCID 0000-0001-7130-5627); **Bezborodova N.A.** \* – Candidate of Veterinary Sciences, Head of the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0003-2793-5001); **Martynov N.A.** – Laboratory Assistant in the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0001-9251-0056); **Zubareva V.D.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Specialist in the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0003-0284-0276); **Kozhukhovskaya V.V.** – Research associate of the department of veterinary laboratory diagnostics with a testing laboratory (ORCID: 0000-0001-7924-6844).

Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Science, Yekaterinburg, Russia

\*n-bezborodova@mail.ru.

#### ABSTRACT

The article presents data on the concurrent infection of a dairy herd with mycoplasmosis and clostridiosis, leading to persistent chronic mastitis, a purulent form with mammary gland abscesses, edema, and putrefactive decomposition of the muscles in the hind limbs. Comprehensive laboratory diagnostics (cultural studies, MALDI-TOF mass spectrometry, PCR) revealed a high prevalence of chronic (5.3%) and subclinical (53.3%) mastitis cases, as well as purulent-necrotic muscle lesions (16.6%). The primary causative agents of mastitis were *M. bovis* (22.2%), *S. aureus* (16.7–60%), and *T. pyogenes*, while purulent infections were predominantly caused by *B. pyogenes* (21.4%) and *Clostridium perfringens* type A. Significant antibiotic resistance was identified: 75% of *E. coli* isolates were resistant to fluoroquinolones and first-generation cephalosporins, 33.3% of *S. aureus* were resistant

to second-generation cephalosporins (MecA gene), and *S. agalactiae* and *Staphylococcus* spp. showed resistance to macrolides (ErmB gene). The following first-line treatments are recommended: ceftiofur for *T. pyogenes* and susceptible *S. aureus*, gentamicin for Gram-negative infections, tilmicosin or tylosin for mycoplasmal mastitis, and fluoroquinolones for clostridial infections. Antimicrobial therapy must be based on sensitivity testing, with strict adherence to dosages and treatment duration. Prophylaxis (milking hygiene, vaccination, disinfection) and regular monitoring of resistance are of paramount importance.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Горбатова, Х.С. Микоплазменный мастит в молочных стадах / Х.С. Горбатова, И.С. Коба // В сборнике: Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения. Сборник трудов научно-практической конференции. Под общей редакцией С.В. Позябина, Л.А. Гнездиловой. – 2022. – С. 168-179.
2. Методические указания по диагностике клостридиозов сельскохозяйственных животных / ФГБУ "ВНИИЗЖ". - Москва, 2022. - 48 с. - Рег. № 0125/2022
3. Правила и методы отбора проб в животноводстве и ветеринарии для лабораторных исследований / Методические рекомендации под ред. Соколовой О.В., Шкуратовой И.А., Порываевой А.П., Безбородовой Н.А., Лысова А.В. и др. – Екатеринбург, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук. - 2025. – 52 с.
4. Шнейдер, Э.Д. Идентификация и диагностика возбудителей микоплазменных маститов коров при помощи бактериологических и молекулярно-генетических методов / Э.Д. Шнейдер, С.А. Макавчик // Бактериология. - 2018. - Т. 3. - № 1. - С. 22-25
5. Alhussen, M.A. *Mycoplasma bovis*, *M. bovisgenitalium* and *M. dispar* as bovine pathogens: brief characteristics of the pathogens (review) / M.A. Alhussen, A. Sprygin, V.V. Kirpichenko A.A. Nesterov // Agricultural Biology. - 2021. - 56(2). – P. 245-260.
6. Bandelj, P. Identification of risk factors influencing *Clostridium difficile* prevalence in middle-size dairy farms / P. Bandelj, R. Blagus, F. Briski, O. Frlic, et al. // Vet Res. – 2016. – P. 41-47.
7. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: in 5 vols. / ed. by D.R. Boone, R.W. Castenholz. 2nd ed. New York: Springer, 2001-2012. Vol. 3: The Firmicutes / ed. by P. De Vos et al. 2009. 1450 p.
8. Calcutt, M.J. Antimicrobial resistance in *Mycoplasma bovis*: Emerging threats and therapeutic alternatives / M.J. Calcutt, I. Lysnyansky, K. Sachse, L.K. Fox // Frontiers in Veterinary Science. – 2023. – p. 10.
9. Dawood, A. *Mycoplasmas* as Host Pantropic and Specific Pathogens: Clinical Implications, Gene Transfer, Virulence Factors, and Future Perspectives / A. Dawood, S.A. Algharib, G. Zhao, T. Zhu, et al // Front Cell Infect Microbiol. – 2022. – P. 3-12.
10. Daubenspeck, J.M. *Mycoplasma genitalium* Biofilms Contain Poly-GlcNAc and Contribute to Antibiotic Resistance / J.M. Daubenspeck, A.H. Totten, J. Needham, M. Feng, et al. / Front Microbiol. – 2020. – P. 11-27.
11. Dudek, K. Anaerobic co-infections in *Mycoplasma*-associated bovine mastitis: Pathological and diagnostic aspects / K. Dudek, R.A.J. Nicholas, E. Szacawa, D. Bednarek // Journal of Comparative Pathology. – 2021. - №186. – P. 1-12.
12. Fox L.K. *Mycoplasma mastitis* in dairy herds: Current trends and challenges / L.K. Fox // Journal of Dairy Science. – 2021. - № 104(3). - P. 2650-2664.
13. Gomes, F. Molecular detection of *Mycoplasma bovis* in milk samples from mastitic cows in Brazil / F. Gomes, M. Henriques, R. Oliveira // Brazilian Journal of Microbiology. – 2020. - №51(4). – P. 1783-1790.
14. Jacobson, B.T. Innovative Methodology for Antimicrobial Susceptibility Determination in *Mycoplasma* Biofilms / B.T. Jacobson, J. DeWit-Dibbert, E.T. Selong, M. Quirk, et al. // Microorganisms. – 2024. - №12(12). – P. 26-50.

15. Larone, D.H. Larone's medically important fungi: A guide to identification (6th ed.) / D.H. Larone // ASM Press. – 2018.
16. Maunsell, F.P. Co-infections of *Mycoplasma bovis* and anaerobic bacteria in bovine mastitis: Clinical and microbiological features / F.P. Maunsell, G.A. Donovan, C. Risco, M.B. Brown // *Veterinary Microbiology*. – 2022. – P 268.
17. Nishi, K. Biofilm characterisation of *Mycoplasma bovis* co-cultured with *Trueperella pyogenes* / K. Nishi, S. Gondaira, Y. Hirano, M. Ohashi, et al. // *Vet Res.* – 2025. – №56(1). – p. 22.
18. Oliver, S.P. Antimicrobial Resistance of Mastitis Pathogens / S.P. Oliver, S.E. Murinda // *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*. – 2012. – № 28(2). – P. 165-185.
19. Parker, A.M. A review of mycoplasma diagnostics in cattle / A.M. Parker, P.A. Sheehy, M.S. Hazelton, K.L. Bosward, et al. // *Journal of Veterinary Internal Medicine*. – 2018. – №32(3). – P. 1241-1252.
20. Ribeiro, M.G. Biofilm formation and antimicrobial resistance profiles of *Trueperella pyogenes* isolated from bovine mastitis in Brazil / M.G. Ribeiro, R.M. Riseti, C.A.D. Bolaños, K.A. Caffaro et al. // *Veterinary Microbiology*. – 2021. – P. 109-156.
21. Rood, J.I. Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme / J.I. Rood, V. Adams, J. Lacey, D. Lyras // *Anaerobe*. – 2018. – P. 5-10.
22. Silva, R.O.S. *Clostridioides difficile* in bovine mastitis: Toxinotyping and antimicrobial resistance patterns / R.O.S. Silva, M.L. D'Elia, C.A. de Oliveira Junior, R.L. Santos // *Veterinary Microbiology*. – 2021. – №256. – P. 109-153.
23. Tolboom, R.K. *Mycoplasma mastitis* in dairy cattle / R.K. Tolboom, J.J. Snoep, O.C. Sampimon, J. Sol et al. // *Tijdschr Diergeneeskde*. – 2008. – №133(3). – P. 96-101.
24. Uzal, F.A. Clostridial mastitis in dairy cattle: Diagnostic and therapeutic challenges / F.A. Uzal, M.A. Navarro, J. Asin, E.E. Henderson // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. – 2022. – №34(2). – P. 202-210.
25. World Health Organization. Guidelines for the control of mycoplasma infections in cattle. WHO Animal Health Technical Report Series No. 15. Geneva: World Health Organization. – 2023. – pp. 48.

#### REFERENCES

1. Gorbatova, H.S. *Mycoplasma mastitis* in dairy herds / H.S. Gorbatova, I.S. Koba // In the collection: Current problems of veterinary medicine, animal science, biotechnology and expertise of raw materials and products of animal origin. Proceedings of the scientific and practical conference. Under the general editorship of S.V. Pozyabin, L.A. Gnezdilova. – 2022. – pp. 168-179.
2. Guidelines for the diagnosis of clostridiosis of farm animals / FSBI "VNIIZH". – Moscow, 2022. – 48 p. – Reg. No. 0125/2022
3. Rules and methods of sampling in animal husbandry and veterinary medicine for laboratory research / Methodological recommendations ed. Sokolova O.V., Shkuratova I.A., Poryvaeva A.P., Bezborodova N.A., Lysova A.V. and others – Yekaterinburg, Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. – 2025. – 52 p.
4. Schneider, E.D. Identification and diagnosis of causative agents of mycoplasma mastitis in cows using bacteriological and molecular genetic methods / E.D. Schneider, S.A. Makavchik // *Bacteriology*. – 2018. – Vol. 3. – No. 1. – pp. 22-25
5. Alhussen, M.A. *Mycoplasma bovis*, *M. bovis genitalium* and *M. dispar* as pathogens of cattle: a brief description of pathogens (review) / M.A. Alhussen, A.A. Sprygin, V.V. Kirpichenko, A.A. Nesterov // *Agricultural Biology*. – 2021. – 56(2). – Pp. 245-260.
6. Bandel, P. Identification of risk factors affecting the prevalence of *Clostridium difficile* on medium-sized dairy farms / P. Bandel, R. Blagus, F. Brisky, O. Frilich et al. // *Veterinary Journal*. – 2016. – pp. 41-47.
7. *Bergey's Guide to Systematic bacteriology*: in 5 volumes / edited by D.R. Boone, R.V. Kastenholz. 2nd ed. New York: Springer, 2001-2012. Volume 3: The Firmicutes / edited by P. De Vos et al., 2009. 1450 p.
8. Calcutta, M.J. Antimicrobial resistance in *Mycoplasma bovis*: new threats and thera-

- peutic alternatives / M.J. Calcutt, I. Lisnyansky, K. Sachse, L.K. Fox // *Frontiers of Veterinary Science*. - 2023. - p. 10.
9. Davud, A. Mycoplasmas as pantropical and specific host pathogens: clinical consequences, gene transfer, virulence factors and future prospects / A. Davud, S.A. Algarib, G. Zhao, T. Zhu et al. // *Microbiol. Infection of the anterior cells*. - 2022. - pp. 3-12.
10. Daubenspec, J.M. Mycoplasma genitalium biofilms contain Polyglcnac and promote antibiotic resistance / J.M. Daubenspec, A.H. Totten, J.Needham, M.Feng et al. // *Front Microbiol*. - 2020. - pp. 11-27.
11. Dudek, K. Anaerobic concomitant infections in mycoplasma-associated mastitis of cattle: pathological and diagnostic aspects / K. Dudek, R.A.Nicholas, E. Shakava, D. Bednarek // *Journal of Comparative Pathology*. - 2021. -No. 186. - pp. 1-12.
12. Fox L.K. Mycoplasma mastitis in dairy herds: current trends and challenges / L.K. Fox // *Journal of Dairy Science*. - 2021. - № 104(3). - Pp. 2650-2664.
13. Gomez, F. Molecular determination of Mycoplasma bovis in milk samples from cows with mastitis in Brazil / F. Gomez, M. Henriques, R. Oliveira // *Brazilian Journal of Microbiology*. - 2020. - №51(4). - P. 1783-1790.
14. Jacobson, B.T. Innovative methodology for determining sensitivity to antimicrobial drugs in Biofilms of mycoplasmas / B.T. Jacobson, J. Dewitt-Dibbert, E.T. Selong, M. Quirk et al. // *Microorganisms*. - 2024. - №12(12). - Pp. 26-50.
15. Larone, D.H. Fungi, important from a medical point of view: an identification guide (6th ed.) / D.H. Larone // *ASM Press*. - 2018.
16. Maunsell, F.P. Coinfection with mycoplasma bovis and anaerobic bacteria in cattle mastitis: clinical and microbiological features / F.P. Maunsell, G.A. Donovan, K. Risko, M.B. Brown // *Veterinary microbiology*. - 2022. - p. 268.
17. Nishi, K. Characterization of Mycoplasma bovis biofilm in co-cultivation with Trueperella pyogenes / K. Nishi, S. Gondaira, Y. Hirano, M. Ohashi et al. // *Veterinary Medicine*. - 2025. - №56(1). - Article 22.
18. Oliver, S.P. Resistance of mastitis pathogens to antimicrobial drugs / S.P. Oliver, S.E. Murinda // *Veterinary clinics: The practice of using food animals*. - 2012. - № 28 (2). - Pp. 165-185.
19. Parker, A.M. Review of diagnostic methods for mycoplasmas in cattle / A.M. Parker, P.A. Sheehy, M.S. Hazelton, K.L. Bosward et al. // *Journal of Veterinary Internal Medicine*. - 2018. - №32(3). - Pp. 1241-1252.
20. Ribeiro, M.G. Biofilm formation and profiles of resistance to antimicrobial drugs Trueperella pyogenes isolated in cattle mastitis in Brazil / M.G. Ribeiro, R.M. Riseti, S.A.D. Bolanos, K.A. Caffaro et al. // *Veterinary Microbiology*. - 2021. - pp. 109-156.
21. Rood, J.I. Extension of the Clostridium perfringens toxin-based typing scheme / J.I. Rood, V. Adams, J. Lacey, D. Liras // *Anaerobes*. - 2018. -pp. 5-10.
22. Silva, R.O.S. Clostridioides difficile in cattle mastitis: toxin typing and models of antimicrobial resistance / R.O.S. Silva, M.L. D'Elia, K.A. de Oliveira Junior, R.L. Santos // *Veterinary microbiology*. - 2021. - No.256. - pp. 109-153.
23. Tolbum, R.K. Mycoplasma mastitis in dairy cattle / R.K. Tolbum, J.J. Snope, O.S. Sampimon, J. Sol et al. // - 2008. - №133 (3). - Pp. 96-101.
24. Uzal, F.A. Clostridial mastitis in dairy cattle: problems of diagnosis and treatment / F.A. Uzal, M.A. Navarro, J. Asin, E.E. Henderson // *Journal of Veterinary Diagnostic Research*. - 2022. - №34(2). - Pp. 202-210.
25. World Health Organization. Guidelines for the control of mycoplasma infections in cattle. WHO Technical Reports Series on Animal Health No. 15. Geneva: World Health Organization. - 2023. - p. 48.