

УДК: 619:636.2

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2021.4.29

СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ЭТИОЛОГИЮ, ПАТОГЕНЕЗ И ДИАГНОСТИКУ МАСТИТА У КОРОВ

Ладанова М.А. - доц. каф. акушерства и оперативной хирургии (0000-0002-2195-6752); Джавадов Э.Д. - академик РАН, профессор каф. эпизоотологии (0000-0002-1589-6300); Племяшов К.В. - член-кор. РАН, профессор, зав. каф. акушерства и оперативной хирургии (0000-0002-5952-0436); Стекольников А.А. - академик РАН, профессор, зав. каф. общей и частной хирургии (0000-0002-9519-2839); Новикова О.Б. - Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства – филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН, зав. отделом микробиологии (0000-0003-0046-625X)

Ключевые слова: мастит, этиология, исследования, микрофлора, патогенез.

Key words: mastitis, etiology, research, microflora, pathogenesis.



РЕФЕРАТ

Мастит у коров в настоящее время патология, которая наносит большой экономический ущерб животноводческим хозяйствам во всем мире. Снижаются количественные и качественные показатели молока. Профилактика и лечение воспаления

молочной железы у коров одна из основных задач ветеринарных врачей. Для успешного лечения необходимо понимание этиологии, особенно при инфекционном мастите. Степень воспалительной реакции зависит от вторгающегося патогена и состояния организма животного, включающего такие показатели, как стадия лактации, возраст, иммунный статус, генетика и рацион кормления. Было идентифицировано почти 200 микроорганизмов, вызывающих мастит крупного рогатого скота, включая бактерии, дрожжи, грибы и вирусы. Идентифицировано более 150 видов бактерий, вызывающих мастит у коров, при этом бактериальный мастит наиболее распространен. Мастит могут вызывать грамположительные бактерии, самые распространённые из них это стафилококки и стрептококки, и грамотрицательные бактерии, чаще *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*. Лабораторная диагностика необходима для выделения и идентификации соответствующего патогена, что необходимо для успешной профилактики и лечения мастита. Наиболее часто используемым методом диагностики мастита у коров является измерение количества соматических клеток. Часто используются экспресс-диагностикумы, которые не дают численного результата, а указывают только на низкие или высокие показатели, при этом не идентифицируется возбудитель мастита. Метод культивирования по-прежнему является основным критерием для выявления микроорганизмов, но это очень трудоемкий и дорогостоящий способ. С развитием молекулярных методов стала возможной быстрая и точная диагностика заболеваний у животных. Недавно разработанные диагностические анализы показали высокую специфичность и чувствительность.

ВВЕДЕНИЕ

Профилактика и лечение мастита у крупного рогатого скота является актуальной проблемой для ветеринарных спе-

циалистов и молочной промышленности в современном мире [9, 28]. Мастит имеет большее клиническое и экономическое значение для промышленного скотовод-

ства. Причины мастита носят многофакторный характер и могут вовлекать большое число патогенов, что затрудняет контроль распространения, течения, профилактики и лечения [24]. В результате воспаления молочной железы происходит снижение производства молока, что приводит к значительным финансовым потерям. Имеются данные об исследовании финансовых потерь при мастите, вызванных разными патогенами, а так же сделан вывод, что потери не были одинаковыми для всех патогенов. Было обнаружено что, *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* наносят больший ущерб в результате снижения молочной продуктивности по сравнению с другими патогенами. Следует отметить, что снижение выработки молока при мастите обусловлено типом возбудителя, стадией воспалительного процесса, лактации в начале заболевания и тяжестью инфекционного процесса [14].

Канал соска служит основным барьером, защищающим внутреннюю часть вымени от проникновения бактерий, вызывающих мастит. Гладкие мышцы сфинктера соска вымени сокращаются, плотно закрывая канал соска между доениями, предотвращая вытекание молока из вымени и попадания патогенов внутрь. Внутренняя поверхность канала соска покрыта воскообразной субстанцией «кератином», клетки которого действуют по типу клеящего вещества, способного лишать бактерий подвижности, в результате патогены не способны попадать через канал внутрь вымени. Механическая травма соска делает его более уязвимым для бактериальной обсемененности из-за повреждения кератина и слизистой оболочки, выстилающих синус соска. Степень воспалительной реакции зависит от вторгающегося патогена и состояния организма животного, включающего такие показатели, как стадия лактации, возраст, иммунный статус, генетика и рацион кормления [13].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для написания данного обзора проводился анализ современных научных публикаций с использованием литературного

поиска в базах данных SciVerse Scopus, MEDLINE/PubMed Database, Web of Science Core Collection, SCI-HUB за период с 2004 – 2020 гг. В обзор включено 28 зарубежных научно-исследовательских работ и крупных обзоров по этиологии, распространению, патогенезу и диагностике мастита у крупного рогатого скота.

Снижение содержания лактозы жира белка и азота мочевины в молоке при мастите наблюдается при различных инфекциях, главным образом из-за коагулазонегативного золотистого стафилококка (CNS) и других бактериальных патогенов. Иммунологические реакции, вызванные инвазиями патогенов, приводят к внутримаммарной инфекции и воспалению [1, 17].

Мастит крупного рогатого скота является сложным заболеванием и его можно в широком, смысле разделить на два типа: клинический мастит и субклинический мастит. Клинический мастит может быть дополнительно классифицирован как острый и подострый в зависимости от тяжести течения и симптомов. Различные факторы, влияющие на развитие инфекционного процесса, включают возбудителя болезни, возраст животного, его иммунологическое состояние и период лактации [16]. Клинический мастит — это тяжелое состояние, при котором проявляются местные и системные изменения, проявляющиеся местной гиперемией, общей и местной гипертермией, болезненностью, снижением аппетита, снижением удоя и изменениями в составе молока, в тяжелых случаях наблюдаются сгустки крови в молоке [6, 19]. Субклинический мастит характеризуется нормальным внешним видом молочной железы, при этом отмечается повышение количества соматических клеток в молоке. К другим признакам субклинического мастита относится увеличение бактериальной микрофлоры в молоке, изменение количественных и качественных показателей молока. Выявление субклинического мастита имеет решающее значение в профилактике и лечении мастита у коров [3, 15]. Лабораторная диагностика необ-

ходима для выделения и идентификации соответствующего патогена. Этиология мастита полностью неизвестна, при этом постоянно выявляются и регистрируются новые патогены, при этом патогенные микроорганизмы являются основной причиной мастита [20, 25]. Было идентифицировано почти 200 микроорганизмов, вызывающих мастит крупного рогатого скота, включая бактерии, дрожжи, грибы и вирусы. Идентифицировано более 150 видов бактерий, вызывающих мастит у коров, при этом бактериальный мастит наиболее распространен. Мастит могут вызывать грамположительные бактерии, самые распространенные из них это стафилококки и стрептококки, и грамотрицательные бактерии, чаще *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* [4, 5, 18].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выделяют три основные категории бактерий, которые могут вызывать мастит у коров – это контактные, экзогенные и оппортунистические патогены [12]. Контактные патогены находятся на вымени и передаются от инфицированных сосков на неинфицированные соски во время дойки.

Чаще среди таких патогенов выделяют: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* и *Mycoplasma bovis*. Оппортунистические патогены имеют сильно выраженные адгезивные свойства, которые помогают им проникать во внутреннюю оболочку железы, они могут вызывать периодические эпизоды клинического мастита. При мастите у коров часто выделяют из молока: *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, в том числе *E. faecalis* и *E. faecium*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Proteus* [10].

Патофизиологические исследования мастита в основном направлены на изучение связи патогена и хозяина с целью улучшения результативности профилактических мероприятий мастита. Врожденная и приобретенная иммунные системы молочных желез работают совместно и обеспечивают максимальную защиту от патогенных микроорганизмов, которые вызывают мастит. Воспалительный про-

цесс в молочной железе — это реакция иммунной системы хозяина на вторжение микроорганизмов. Ответ иммунной системы меняется в зависимости от патогена. Мастит, вызванный *Escherichia coli* - грамотрицательными бактериями, генерируют очень быстрый и агрессивный иммунный ответ клетками молочной железы хозяина, а мастит вызванный *Streptococcus uberis* - грамположительными бактериями, отвечает за медленный или умеренный иммунный ответ, а *Staphylococcus aureus* приводит к очень медленному или иногда незаметному врожденному иммунному ответу [8, 22]. В результате проводимого исследования установлено, что вероятная причина такого дискриминационного поведения внутримаммарного иммунного ответа обусловлена сигнализацией Toll-подобного рецептора (TLR), индуцируемой грамотрицательными бактериями. Грамположительные бактерии не индуцируют сигнальный ответ TLR и именно поэтому они приводят к медленному или умеренному ответу иммунной системы у коров [23]. Исследования сигнальных путей рецепторов распознавания патогенов, таких как TLR, NOD-подобные (NLR) и RIG-1-подобные (RLR) рецепторы, могут быть полезны для лучшего понимания взаимодействия хозяина и патогена [2, 26]. В другом исследовании у *Streptococcus uberis* были идентифицированы некоторые гены, такие как *exsbP1*, *iihK*, *iirR slp*, *exsbP2*, которые активируются на ранней стадии развития патологического процесса в молочной железе. Эти гены показали связь с адгезией и интернализацией бактерий в клетки хозяина. Было подтверждено иммуногенное действие этих белков, что в дальнейшем может привести к использованию этих рекомбинантных белков в качестве вакцинного антигена для мастита, вызванного *Streptococcus uberis* [7].

Первичный диагноз основывается на физиологических признаках, таких как отек и воспаление молочной железы или изменения в качестве и количестве молока. Наиболее часто используемым методом диагностики мастита у коров является измерение количества соматических

клеток. Часто используются экспресс-диагностикумы, которые не дают численного результата, а указывают только на низкие или высокие показатели, при этом не идентифицируется возбудитель мастита. Метод культивирования по-прежнему является основным критерием для выявления микроорганизмов, но это очень трудоемкий и дорогостоящий способ [28]. За последние несколько десятилетий были разработаны методы молекулярной диагностики, позволяющие идентифицировать микроорганизмы с большой специфичностью. Эти молекулярные диагностические тесты имеют много преимуществ перед традиционными бактериологическими методами с точки зрения низкой стоимости и более точного обнаружения. В патогенезе мастита участвует очень большое количество патогенных микроорганизмов и поэтому проведение индивидуальных тестов для каждого из них затруднительно и дорогостояще. Соответственно исследования были направлены на разработку мультиплексной ПЦР, которая может обнаруживать множество патогенов в одной реакции. Были разработаны различные анализы на основе мультиплексной ПЦР, нацеленные на более чем пять патогенов мастита в одном тесте. Недавно разработанные диагностические анализы показали высокую специфичность и чувствительность. С развитием молекулярных методов стала возможной быстрая и точная диагностика заболеваний у животных [11].

ВЫВОДЫ

Масс-спектрометрия с матричным лазерным методом десорбции/ионизации является надежным и быстрым методом идентификации распространенных микроорганизмов, вызывающих мастит крупного рогатого скота. Расширение базы данных за счет большего числа видов еще больше улучшает результаты [21]. В настоящее время проводится изучение идентификации белков в острой фазе в качестве биомаркеров при мастите, вызванном различными патогенами, и в пробном исследовании были получены многообещающие результаты [27].

MODERN VIEW ON THE ETIOLOGY, PATHOGENESIS AND DIAGNOSIS OF MASTITIS IN COWS. Ladanova M.A. - Candidate of Veterinary Sciences, associate professor Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine; Javadov E.D. - PhD of vet. Sc., professor, academician of RAS, Department of Epizootology at the St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine; Plemyashov K. V. - PhD of vet. Sc., professor, academician, corresponding member, Head of the Department of Obstetrics and Operative Surgery at the St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine; Stekolnikov A. A. - PhD of vet. Sc., professor, academician of RAS, Head of the Department of General and Private Surgery at the St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine; Novikova O.B. - Candidate of Veterinary Sciences, veterinarian Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry" of Russian Academy of Sciences.

ABSTRACT

Mastitis in cows is currently a pathology that causes great economic damage to livestock farms around the world. The quantitative and qualitative indicators of milk are decreasing. Prevention and treatment of breast inflammation in cows is one of the main tasks of veterinarians. For successful treatment, it is necessary to understand the etiology, especially in infectious mastitis. The degree of inflammatory reaction depends on the invading pathogen and the state of the animal's body, including such indicators as the stage of lactation, age, immune status, genetics and feeding diet. Almost 200 microorganisms that cause bovine mastitis have been identified, including bacteria, yeast, fungi and viruses. More than 150 species of bacteria that cause mastitis in cows have been identified, with bacterial mastitis being the most common. Mastitis can be caused by gram-positive bacteria, the most common of which are staphylococci and streptococci, and gram-negative bacteria, more often *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Laboratory diagnostics is necessary to isolate and identify the relevant pathogen, which is necessary for the suc-

cessful prevention and treatment of mastitis. The most commonly used method of diagnosing mastitis in cows is to measure the number of somatic cells. Express diagnostics are often used, which do not give a numerical result, but indicate only low or high indicators, while the causative agent of mastitis is not identified. The cultivation method is still the main criterion for detecting microorganisms, but it is a very time-consuming and expensive method. With the development of molecular methods, rapid and accurate diagnosis of diseases in animals has become possible. Recently developed diagnostic tests have shown high specificity and sensitivity.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abera M, Demie B, Aragaw K, Regassa F and Regassa A (2010) Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitic milk and their drug resistance patterns in Adama town, Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health* 2, P. 29–34.
2. Bhattarai D, Worku T, Dad R, Rehman ZU, Gong X and Zhang S (2018) Mechanism of pattern recognition receptors (PRRs) and host pathogen interplay in bovine mastitis. *Microbial Pathogenesis* 120, 64–70.
3. Bian Y, Lv Y and Li Q (2014) Identification of diagnostic protein markers of subclinical mastitis in bovine whey using comparative proteomics. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 58, P. 385–392.
4. Blowey R and Edmondson P (2010) Milking machines and mastitis. In Blowey R and Edmondson P (eds.) *Mastitis control in dairy herds*, 2nd Edition. UK: CAB eBooks, CAB International, P. 60–94
5. Contreras GA and Rodríguez JM (2011) Mastitis: comparative etiology and epidemiology. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 16, P. 339–356
6. De Vlieghe S, Fox LKK, Piepers S, McDougall S and Barkema HW (2012) Invited review: mastitis in dairy heifers: nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *Journal of Dairy Science* 95, P. 1025–1040.
7. Dego OK, Almeida RA, Saxton AM, Abdi RD, Ensermu DB and Oliver SP (2018) Bovine intramammary infection associated immunogenic surface proteins of *Streptococcus uberis*. *Microbial Pathogenesis* 115, 304–311.
8. Genini S, Badaoui B, Sclep G, Bishop SC, Waddington D, van der Laan MH, Klopp C, Cabau C, Seyfert HM, Petzl W and Jensen K (2011a) Strengthening insights into host responses to mastitis infection in ruminants by combining heterogeneous microarray data sources. *BMC Genomics* 12, 225.
9. Gomes F, Saavedra MJ and Henriques M (2016) Bovine mastitis disease/ pathogenicity: evidence of the potential role of microbial biofilms. *Pathogens and Disease* 74, P. 1–19.
10. Günther J, Esch K, Poschadel N, Petzl W, Zerbe H, Mitterhuemer S, Blum H and Seyfert HM (2011) Comparative kinetics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* specific activation of key immune pathways in mammary epithelial cells demonstrates that *S. aureus* elicits a delayed response dominated by interleukin-6 (IL-6) but not by IL-1A or tumor n. *Infection and Immunity* 79, 695–707.
11. Gurjar A, Gioia G, Schukken Y, Welcome F, Zadoks R and Moroni P (2012)
12. Molecular diagnostics applied to mastitis problems on dairy farms. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 28, 565–576.
13. Hawari AD and Hassawi DS (2008) Mastitis in one humped she-camels (*Camelus dromedarius*) in Jordan. *The Journal of Biological Sciences* 8, 958–961.
14. Harmon RJ (1994) Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science* 77, P. 2103–2112.
15. Heikkilä AM, Liski E, Pyörälä S and Taponen S (2018) Pathogen-specific production losses in bovine mastitis. *Journal of Dairy Science* 101, P. 9493–9504
16. Hoque MN, Das ZC, Talukder AK, Alam MS and Rahman ANMA (2015) Different screening tests and milk somatic cell count for the prevalence of subclinical bovine mastitis in Bangladesh. *Tropical Animal Health and Production* 47, P. 79–86.
17. Hurley WL and Theil PK (2011) Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients* 3, P. 442–474
18. Kayano M, Itoh M, Kusaba N, Hayashi-

- guchi O, Kida K, Tanaka Y, Kawamoto K and Gröhn YT (2018) Associations of the first occurrence of pathogen-specific clinical mastitis with milk yield and milk composition in dairy cows. *Journal of Dairy Research* 85, P. 309–316.
19. Kuang Y, Tani K, Synnott AJ, Ohshima K, Higuchi H, Nagahata H and Tanji Y (2009) Characterization of bacterial population of raw milk from bovine mastitis by culture-independent PCR–DGGE method. *Biochemical Engineering Journal* 45, P. 76–81.
20. Lehtolainen T, Røntved C and Pyörälä S (2004) Serum amyloid A and TNF alpha in serum and milk during experimental endotoxin mastitis. *Veterinary Research* 35, P. 651–659.
21. Madouasse A, Huxley JN, Browne WJ, Bradley AJ and Green MJ (2010) Somatic cell count dynamics in a large sample of dairy herds in England and Wales. *Preventive Veterinary Medicine* 96, 56–64.
22. Nonnemann B, Lyhs U, Svennesen L, Kristensen KA, Klaas IC and Pedersen K (2019) Bovine mastitis bacteria resolved by MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Dairy Science* 102, 2515–2524.
23. Oviedo-Boyso J, Valdez-Alarcón JJ, Cajero-Juárez M, Ochoa-Zarzosa A, López-Meza JE, Bravo-Patino A and Baizabal-Aguirre VM (2007) Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection* 54, 399–409.
24. Petzl W, Zerbe H, Günther J, Seyfert HM, Hussen J and Schuberth HJ (2018) Pathogen-specific responses in the bovine udder. Models and immunoprophylactic concepts. *Research in Veterinary Science* 116, 55–61.
25. Ruegg PL, Erskine RJ and Morin DE (2014). *Mammary Gland Health. Large Anim Intern Med, 5th Edn.* St Louis, MO: Mosby Elsevier, P. 1015–1043
26. Shaheen M, Tantary H and Nabi S (2016) A treatise on bovine mastitis: disease and disease economics, etiological basis, risk factors, impact on human health, therapeutic management, prevention and control strategy. *Journal Advances in Dairy Research* 4, P. 1–10.
27. Sordillo LM (2018) Mammary gland immunobiology and resistance to mastitis. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice* 34, 507–523.
28. Thomas FC, Geraghty T, Simões PB, Mshelbwala FM, Haining H and Eckersall PD (2018) A pilot study of acute phase proteins as indicators of bovine mastitis caused by different pathogens. *Research in Veterinary Science* 119, 176–181.
29. Viguier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K. and O’Kennedy, R., 2009. Mastitis detection: current trends and future perspectives, *Trends in Biotechnology*, 27, P. 486–493