

Каменская Т.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент
Кривенюк Л.Л., старший научный сотрудник
Лукияничук С.А., кандидат сельскохозяйственных наук

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселеского», г. Минск

ИЗУЧЕНИЕ ОБСЕМЕНЕННОСТИ КРЫЛАТЫХ НАСЕКОМЫХ ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ МИКРООРГАНИЗМАМИ И ИХ РОЛЬ В ЭТИОЛОГИИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ МАСТИТА

Резюме

В статье представлены материалы об исследовании насекомых, отловленных в животноводческих хозяйствах молочной направленности. Выделены и описаны культуры микроорганизмов (стафилококка, стрептококка, энтеробактерий), выявленных как на поверхности, так и внутри организма мух. В условиях *in vitro* проведён эксперимент по скормливанию мухам питательного корма, обсемененного культурами микроорганизмов от маститных коров, были выделены исходные культуры стафилококка. Вышеописанный опыт даёт нам основание сделать предварительный вывод о возможности переноса летающими насекомыми культур микроорганизмов, вызывающих маститы у коров.

Ключевые слова: животноводческие помещения, летающие насекомые, мухи, заболевания животных, мастит, микроорганизмы, обсемененность, перенос микроорганизмов, стафилококк, стрептококк, энтеробактерии, молоко.

Summary

The article deals with the study of insects caught in dairy farms, cultures of microorganisms (staphylococcus, streptococcus, enterobacteria) were isolated and described, which were identified both on the surface and inside the body of these flies. Under the conditions of *in vitro* an experiment was carried out, on feeding the flies with nutritious food seeded with cultures of microorganisms from mastitis cows, the initial cultures of staphylococcus were isolated. The above experience gives us grounds to draw a preliminary conclusion about the possibility of transfer by flying insects of cultures of microorganisms that cause mastitis in cows.

Keywords: livestock buildings, flying insects, flies, animal diseases, mastitis, microorganisms, contamination, transfer of microorganisms, staphylococcus aureus, streptococcus, enterobacteria, milk.

Поступила в редакцию 24.08.2022 г.

ВВЕДЕНИЕ

В течение длительного времени остается актуальной проблема патологии молочной железы животных [3, 7, 8, 9, 13–26]. В распространении возбудителей инфекционных заболеваний некоторые летающие насекомые имеют немаловажное эпидемиологическое и эпизоотологическое значение [2]. К наиболее вредоносным двукрылым насекомым относится гнус – слепни, комары, мошки и мокрецы. Есть данные ряда зарубежных авторов о переносе вредоносными насекомыми из семейства мух множества видов патогенных бактерий, грибов, вирусов. При недостаточном обеспечении профилактических, ветеринарно-санитарных мероприятий, включающих репеллентные и инсектоцидные обработки, возможны энзоотии инфекционных болезней [2, 4, 5, 12].

По некоторым данным, в условиях массового распространения гнуса мясное и молочное животноводство теряет большую часть рентабельности из-за недополучения продукции [10].

Летающие вредоносные насекомые являются не только переносчиками особо опасных инфекций, но могут участвовать в переносе от больного к здоровому животному возбудителей, вызывающих заболевания молочной железы коров. Большинство разновидностей летающих насекомых предпочитают нежные, безволосые участки кожи, поэтому вымя коров страдает в первую очередь. Кожа вымени коров более нежная, чем на других участках тела животного, пронизана обширной сетью поверхностных капилляров, является менее защищенной и более уязвимой к воздействию вредоносных насекомых.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась на базе хозяйств Минской и Могилевской областей.

Для проведения опыта по выявлению влияния насекомых на распространение мастита в летний период времени нами были отловлены на территориях ферм по содержанию животных из окружающей среды, а также в непосредственной близости от животных двукрылые летающие насекомые.

Отловленные образцы мух были доставлены в лабораторию и исследованы на бактерионосительство (внешнее и внутреннее) [1, 11]. Насекомое (муха) помещали на 2 часа в жидкую питательную среду – сывороточный мясо-пептонный бульон (МПБ) при температуре 4 °С и периодически осторожно встряхивали. Затем отбирали 1 см³

бульона и высевали на кровяной мясо-пептонный агар (МПА). Находившуюся в бульоне муху извлекали из бульона стерильным пинцетом и отмывали от бульона поочередно сначала в 70%-ном спирте, затем в 0,9%-ном физиологическом растворе. Далее насекомое измельчали в стерильной ступке с добавлением 0,1 см³ 0,9%-ного физиологического раствора и полученную мацерированную взвесь наносили на кровяной МПА. Чашки с кровяным МПА инкубировали 48 часов при температуре 37 °С.

Результаты бактериологических исследований по наличию/отсутствию роста колоний микроорганизмов на кровяном МПА, выделяемых с поверхности насекомых и из мацерированной взвеси, представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Наличие микрофлоры у отловленных мух

Объект	Внешнее бактерионосительство		Внутреннее бактерионосительство	
	рост	мазки	рост	мазки
Насекомые с МТФ 1 (n=24)	+	грамотрицательные палочки, грамположительные кокки в виде гроздей винограда	+	грамположительные кокки в виде гроздей винограда
Насекомые с МТФ 2 (n=29)	+	грамотрицательные палочки, грамположительные кокки, в виде коротких цепочек	+	грамположительные кокки в виде коротких цепочек
Насекомые с МТФ 3 (n=21)	+	грамотрицательные палочки, грамположительные кокки в виде гроздей винограда	-	-
Насекомые с МТФ 4 (n=27)	+	грамотрицательные палочки, грамположительные кокки в виде гроздей винограда	+	грамположительные кокки в виде гроздей винограда

Примечание – «+» – наличие роста на питательной среде; «-» – отсутствие роста; МТФ – молочно-товарная ферма

Как видно из таблицы 1, у отловленных мух наблюдалось как внешнее, так и внутреннее бактерионосительство.

В дальнейшем для изучения роли насекомых в этиологии заболеваний коров маститами на фермах нами был поставлен ряд опытов. Вначале нами были проведены диагностические исследования на маститы и от положительно реагирующих и нелеченных коров выделены микроорганизмы, способные вызывать маститы (стафилокок-

ки, стрептококки и энтеробактерии) по общепринятым методикам. Для выделения кишечной палочки делали посевы на среду Кода, кокковой микрофлоры – на солевой и кровяной МПА, споровых форм бактерий – на МПБ и МПА после прогрева молока, анаэробов – на среду Китта-Тароцци. Результаты бактериологических исследований молока от маститных и нелеченных коров отражены в таблице 2.

Таблица 2. – Бактериологические исследования молока от мастных коров

Объект	Среда Кода	Солевой МПА	Среда Карташовой	Кровяной МПА	Среда Китта- Тароцци	МПА и МПБ после прогревания смывов (выделение спорных форм)
Животные на МТФ 1 (n=7)	-	+	+	+	-	-
Животные на МТФ 2 (n=5)	-	+	+	+	-	-
Животные на МТФ 3 (n=9)	+	+	+	+	-	-
Животные на МТФ 4 (n=7)	-	+	+	+	-	-

Примечание – «+» – наличие роста на питательной среде; «-» – отсутствие роста; МТФ – молочно-товарная ферма

Для выделения стафилококков все пробы молока были высеваны на кровяной агар. Через 24 часа инкубации в термостате при температуре 37 °С учитывали рост колоний с гладкой блестящей поверхностью желтого окрашивания, с зоной гемолиза. Из колоний делали мазки и микроскопировали их после окраски по Граму. В мазках обнаруживали гроздевидные скопления грамположительных кокков. Выделенная культура обладала каталазной активностью и была отнесена к стафилококкам.

Кроме того, на кровяном агаре наблюдался рост мелких росинчатых колоний, вызывающих гемолиз среды. При посеве проб молока от больных маститом коров на среду Карташовой цвет среды изменялся из сине-фиолетового в зеленый. В мазках, приготовленных из этих колоний и окрашенных по Граму, обнаруживали короткие цепочки грамположительных кокков. При постановке реакции на наличие каталазной активности выделенные культуры были каталазоотрицательными, что дало нам основание считать наличие стрептококков в пробах.

Для выделения энтеробактерий пробы молока были посеяны на среду Кода. Цвет среды изменился из фиолетового в зеленый, что позволило считать их наличие в пробах.

После первичной идентификации выделенных культур был поставлен опыт на мухах. Для этого в городских помещениях были отловлены мухи и помещены в специальную герметичную камеру. Мухи в

течение 10 дней выдерживались в камере изолированно, при этом получая стерильное искусственное питание (смесь сыворотки крови и раствора глюкозы). По истечении вышеуказанного срока часть насекомых проверялись на бактерионосительство, как описывалось в опыте выше, и при отрицательном результате использовались в опыте оставшиеся насекомые.

Для постановки опыта в камеру с голодными мухами (в среднем 50 насекомых) на 2–4 часа помещали кормушку с питательным раствором, содержащим смесь сыворотки крови, раствора глюкозы с внесением микробной взвеси культуры стафилококка, выделенного от маститных коров с нагрузкой $1,0 \times 10^6$ КОЕ/см³. Для измерения мутности суспензии бактерий использовали денситометр DEN-1. В последующем от подопытных насекомых отбирали по 10 мух сразу и через 2 и 4 часа после кормления для выявления внешнего и внутреннего наличия исходных микроорганизмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе опыта было установлено, что у подопытных мух сразу после скармливания питательного корма, обсемененного культурой стафилококка, а также через 2 и 4 часа после скармливания с поверхности выделяли исходную культуру (таблица 3). Внутреннее бактерионосительство у мух проявлялось через 2 часа после скармливания им питательного корма, обсемененного культурой стафилококка.

Таблица 3. – Результаты по наличию бактерий стафилококка на поверхности и внутри организма мух, которым скармливали питательный корм, обсемененный искомой культурой

Объект	Внешнее бактерионосительство		Внутреннее бактерионосительство	
	рост на кровяном МПА	мазки	рост на кровяном МПА	мазки
Мухи сразу после скармливания ПР	+	грамположительные кокки в виде гроздей винограда	-	-
Мухи через 2 часа после скармливания ПР	+		+	грамположительные кокки в виде гроздей винограда
Мухи через 4 часа после скармливания ПР	+		+	

Примечание – ПР – питательный раствор с добавлением культуры стафилококка; «+» – наблюдался рост в виде средних выпуклых колоний золотистого цвета; «-» – отсутствие роста

На следующем этапе в камеру, где содержались мухи, которым в течение 10 дней скармливали свободный от микроорганизмов питательный корм (сыворотка крови и глюкоза), помещали две кормушки: в одной находился питательный раствор сыворотки крови, глюкозы и микроорганизмов, выделенных из молока маститных коров, в другой – стерильный питательный раствор без микробов. Мухи в камере находились 10 часов. После этого из кормушки с питательной средой без микроорганизмов производили посевы на питательные среды для выявления искомых микроорганизмов. В результате бактериологических исследований установлено, что из первоначально стерильного питательного корма выделялись культуры стафилококка.

ВЫВОДЫ

На основании проведенных опытов установлено:

1. На поверхности и внутри тела мух,

отобранных с территории животноводческих ферм и в непосредственной близости от нахождения животных, выделялись культуры стафилококка, стрептококка, энтеробактерии.

2. При постановке опыта на мухах, выдержанных на стерильном питательном корме, при скармливании им питательного корма, обсемененного культурой стафилококка, выделялись исходные культуры, как с поверхности, так и из мацерированных тел мух.

3. Из первоначально стерильного питательного корма для мух и после помещения его в камеру с мухами, где находился питательный корм, обсемененный стафилококком, была выделена культура стафилококка.

Вышеописанный опыт дает нам основание сделать предварительный вывод о возможности переноса летающими насекомыми культур микроорганизмов, вызывающих маститы у коров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонов, Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии: справочник ; сост., Б. И. Антонов, В. В. Борисова, П. М. Волкова, Л. П. Каменева, Л. В. Кошеленко, Г. А. Михальский, В. В. Поповцев, Л. И. Прянишникова, В. Е. Храпова; под ред. Б. И. Антонова. – М. : Агропромиздат, 1986. – 352 с.
2. Богданова, Е. Н. Научные основы интегрированной медико-биологической системы регуляции численности синантропных членистоногих : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Е. Н. Богданова. – М., 2007. – 49 с.
3. Богуш, А. А. Противомаститные мероприятия на животноводческих комплексах / А. А. Богуш, Т. Н. Каменская, В. Е. Иванов // Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария. – 2005. – № 4. – С. 66–69.
4. Весёлкин, Г. А. Мухи – спутники домашних животных и человека в южной части Тюменской области / Г. А. Весёлкин, // Энтомологическое обозрение. – 1966. – Т. 45. – С. 779–793.
5. Горбань, Н. И. Заболевание крупного рогатого скота и лошадей от укусов мошек (мелюзиотоксикоз) / Н. И. Горбань, М. М. Воробьев // Ветеринария. – 1949. – № 6. – С. 30–31.

6. Спектр микрофлоры, выделяемой при мастите коров / Э. Д. Джавадов [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 4. – С. 66–68.
7. Каменская, Т. Н. Дезинфекционные мероприятия в условиях интенсивного животноводства / Т. Н. Каменская, Л. Л. Кривенок, С. А. Лукьянчик // Экология и животный мир. – 2021. – № 1. – С. 45–49.
8. Каменская, Т. Н. Антисептик на основе лекарственных трав для обработки кожи вымени сосков / Т. Н. Каменская, О. В. Хендогина // Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария. – 2012. – № 3. – С. 31–35.
9. Комаров, В. Ю. Диагностика мастита и оценка эффективности проводимой терапии / В. Ю. Комаров, Б. Л. Белкин // Инновации в АПК: проблемы и перспективы. – 2016. – № 1 (9). – С. 97–102.
10. Лемехов, П. А. Применение препарата репеллента Флайблок против кровососущих насекомых и влияние его на молочную продуктивность / П. А. Лемехов, С. А. Бирюков // Молочно-хозяйственный вестник. – 2014. – № 3 (15), III кв. – С. 22–27.
11. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных: справочник / Д. И. Скородумов [и др.]. – М. : Изографъ, 2005. – 656 с.
12. Омарова, П. А. Зоофильные мухи и меры борьбы с ними / П. А. Омарова, А. М. Атаев // Ветеринария. – 2008. – № 4. – С. 9–11.
13. Степанова, Е. А. Возбудители мастита у коров и эффективность антимикробной терапии / Е. А. Степанова, И. И. Кузьминский, А. В. Лиленко // Экология и животный мир. – 2019. – № 2. – С. 68–72.
14. Abera, M. Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitic milk and their drug resistance patterns in Adama town, Ethiopia / M. Abera // Journal of Veterinary Medicine and Animal Health. – 2010. – 2. – P. 29–34.
15. Blowey, R. Milking machines and mastitis / R. Blowey, P. Edmondson In Blowey R and Edmondson P (eds.) Mastitis control in dairy herds 2nd Edition. UK: CAB eBooks, CAB International. – 2010. – P. 60–94.
16. Boyso, J. O. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis / J. O. Boyso, J. J. V. Alrcón, M. C. Juárez // J. Infect. – 2007. – V. 54. – P. 399–409.
17. Dego, O. K. Bovine intramammary infection associated immunogenic surface proteins of *Streptococcus uberis* / O. K. Dego, R. A. Almeida, A. M. Saxton // Microbial Pathogenesis. – 2018. – 115. – P. 304–311.
18. Duarte, C. M. Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. / C. M. Duarte, P. P. Freitas, R. J. Bexiga // Veterin. Diagnost. Invest. – 2015, 27 (6). – P. 665–672.
19. Gomes, F. Bovine mastitis disease/ pathogenicity: evidence of the potential role of microbial biofilms / F. Gomes, M. J. Saavedra, M. Henriques // Pathogens and Disease. – 2016. – 74, P. 1–19.
20. Hogan, J. S. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. Madison, WI / J. S. Hogan, R. N. Gonzalez, R. J. Harmon // National Mastitis Council. – 1999.
21. Molecular diagnostics applied to mastitis problems on dairy farms. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 28, – P. 565–576.
22. Kuang, Y. Characterization of bacterial population of raw milk from bovine mastitis by culture-independent PCR-DGGE method / Y. Kuang, K. Tani, A. J. Synnott // Biochemical Engineering Journal. – 2009. – 45. – P. 76–81.
23. Madouasse, A. Somatic cell count dynamics in a large sample of dairy herds in England and Wales / A. Madouasse, J.N., Huxley W.J. Browne // Preventive Veterinary Medicine. – 2010. – 96. – P. 56–64.
24. Petzl, W. Pathogen-specific responses in the bovine udder. Models and immunoprophylactic concepts. Research in Veterinary / W. Petzl, H. Zerbe, J. Günther. – 2018. – Science 116. – P. 55–61.
25. Sordillo, L. M. Mammary gland immunobiology and resistance to mastitis. Veterinary Clinics: Food Animal Practice. – 2018. – 34. – P. 507–523.
26. Viguier, C. Mastitis detection: current trends and future perspectives / C. Viguier, S. Arora, N. Gilmartin // Trends in Biotechnology. – 2009. – 27. – P. 486–493.