

Original researches

Study on the Prevalence of Subclinical Mastitis in Goat Milk

N. N. Zazharska, S. O. Rosenko

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Received: 06 August 2018

Revised: 13 August 2018

Accepted: 14 August 2018

Dnipro State Agrarian and Economic
University, Sergii Efremov Str., 25,
Dnipro, 49600, Ukraine

Tel.: +38-056-268-54-87

E-mail: zazharskayan@gmail.com

Cite this article: Zazharska, N. N.,
& Rosenko, S. O. (2018). Study on the
prevalence of subclinical mastitis in goat milk.
Theoretical and Applied Veterinary Medicine,
6(3), 50–53. doi: 10.32819/2018.63010

Abstract. The study on the prevalence of subclinical mastitis in goat milk and comparison of different methods of determining the number of somatic cells in goat milk were carried out. The goat herds of German white, Anglo-Nubian, Alpine and local breeds, were studied twice to determine the subclinical mastitis: 83 dairy goats were examined in autumn, and 144 animals in spring. The first portions of milk were examined by mastoid test and the California mastitis test (CMT). Samples of milk were studied at the Laboratory of Food Hygiene at the Department of Parasitology, Veterinary and Sanitary Expertise at the Dnipro State Agrarian and Economic University. The settling test was conducted and the determination of somatic cell count in milk was carried out by viscosimetric method. We also made milk films and stained them by the May-Grunwald method. After that the number of somatic cells using microscope was calculated. As a result of bacteriological research of milk on pathogens, mastitis *Staphylococcus aureus* was isolated in autumn. In six months, the number of goats suffering from subclinical mastitis decreased from 12% to 8%, by improving the control of the udder health of farm animals. The mastoid test was better than the California mastitis test with goat milk, due to the formation of a tighter clot. From the milk samples which were positive or questionable on mastoid test, 29% samples were found consistent with the requirements of DSTU 7006:2009 for second-rate quality milk by viscosimetric method and settling test. Using the arbitration method (direct microscopy), it was found that the number of somatic cells did not meet the requirements of DSTU in all tests. The exact somatic cell count in goat milk should be determined only by direct microscopic or fluoroptoelectronic calculation. In samples that showed the largest somatic cell count in milk films (> 20 million/cm³), only $2\ 818 \pm 956 \times 10^3$ cells/cm³ were determined by viscometric method, which proves the accuracy of the arbitration method. For continuous milk production and good-quality goods with a low number of somatic cells using viscometric method (< 600 thousand/cm³), it is recommended to continuously renovate the goat herd, since the lowest number of somatic cells in milk is observed in goats of the first lactation (firstborns).

Keywords: goat milk, somatic cells, mastoid test, california mastitis test, viscosimetric method, milk films.

Дослідження молока кіз на субклінічний мастит

Н. М. Зажарська, С. О. Росенко

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Анотація. Проведено діагностику субклінічного маститу кіз і порівняння різних методів визначення кількості соматичних клітин у козиному молоці. Двічі на субклінічний мастит досліджено стадо кіз альпійської, англо-нубійської, німецької білої та місцевої порід: восени 83 дійні кози, навесні – 144 тварини. Перші порції молока досліджували мастидиновою пробою та каліфорнійським маститним тестом у господарстві. Лабораторні дослідження виконували в лабораторії гігієни харчової продукції кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Проведено пробу відстоювання, визначення кількості соматичних клітин у молоці за допомогою приладу “Соматос” загальноприйнятими методами. Виготовляли мазки молока та забарвлювали за Май-Грюнвальдом, після чого визначали кількість соматичних клітин під мікроскопом. За результатами бактеріологічного дослідження молока на збудники маститу восени виділено *Staphylococcus aureus*. За півроку кількість кіз, хворих на субклінічний мастит, знизилася з 12% до 8%, чому сприяв посилений контроль здоров'я вимені тварин і своєчасне його лікування в господарстві. Під час дослідження виявлено, що в пробі з мастидином реакція відбувається краще, ніж у каліфорнійському маститному тесті, за рахунок утворення щільнішого згустку. Із проб молока, позитивних або сумнівних за мастидиновою пробєю, виявили 29% проб, які відповідали вимогам ДСТУ 7006:2009 для козиного молока другого ґатунку за допомогою віскозиметричного методу і проби відстоювання. Але за арбітражним методом (пряма мікроскопія) кількість соматичних клітин не відповідала вимогам ДСТУ в усіх пробах. Точну кількість соматичних клітин у козиному молоці потрібно встановлювати тільки шляхом прямих мікроскопічним методом або з використанням флуорооптоелектронних лічильників. У пробах молока, де відмічена найбільша кількість соматичних клітин за підрахунку в мазках (> 20 млн/см³), за допомогою

приладу “Соматос” визначено лише $2\,818 \pm 956$ тис./см³, що доводить точність арбітражного методу. Для постійного отримання молока з низькою кількістю соматичних клітин віскозиметричним методом (< 600 тис./см³) з метою виготовлення високоякісного сиру господарству рекомендовано постійне оновлення стада дійних кіз, оскільки найнижчу кількість соматичних клітин у молоці мають кози першої лактації (первістки).

Ключові слова: козине молоко, соматичні клітини, мастидинова проба, каліфорнійський тест, віскозиметричний метод, мазки молока.

Вступ

Соматичні клітини є важливим компонентом молока. Кількість їх використовують як показник здоров'я молочної залози та якості молока. Здебільшого кількість досліджень присвячено саме вивченню різноманітних факторів, які впливають на кількість соматичних клітин у молоці різних тварин (Paare et al., 2018). Встановлено, що кількість соматичних клітин суттєво залежить від кількості бактерій у коров'ячому молоці, тоді як кількість соматичних клітин не корелює з показником віку тварин або кількості *Hypoderma lineatum* у корів. Результати дослідження вказують на те, що санітарна обробка вимені та процедура доїння, яку застосовують фермери, також впливає на кількість соматичних клітин у молоці (Kline, 2018).

Вітчизняними вченими з'ясовано вплив раціону на показники якості та безпечності козиного молока (Zazharska et al., 2018). Доведено, що концентрація молочного жиру та його склад залежать від типу і кількості корму, породи, стадії лактації, кількості лактацій, сезонних змін (Souza et al., 2009). Склад молока визначається регуляцією бар'єра між кров'ю та паренхімою вимені. Цілісність бар'єра найчастіше обумовлює стан здоров'я вимені. Мастит призводить до пошкодження цього бар'єра під дією мікробних токсинів і продуктів обміну речовин (Wagner et al., 2009; Leitner et al., 2004).

Індійські вчені виявили, що за маститу кількість нейтрофілів збільшується в овець ($74,08 \pm 4,02\%$) та кіз ($79,10 \pm 3,75\%$), тоді як у молоці від здорових овець переважають макрофаги ($54,60 \pm 4,40\%$). Для молока від здорових кіз характерна більшість нейтрофілів ($64,10 \pm 5,91\%$), що показує видові особливості (Shah et al., 2017).

Пошук можливих критеріїв субклінічного маститу в кіз ускладнений відсутністю порогових значень для диференціювання молока від здорової та хворої тварини (Ying et al., 2002; Min et al., 2007). Учені вказують на максимальне значення кількості соматичних клітин для кіз у діапазоні від 200 тис./см³ до декількох мільйонів клітин на 1 см³ (Raynal-Ljutovac et al., 2007). Під час дослідження збірного молока від 1400 кіз отримано середню кількість 779 тис./см³ соматичних клітин (Souza et al., 2009). Іншими дослідниками виявлено середньогометричне значення кількості соматичних клітин (1345 тис./см³) і середньоарифметичне (1403 тис./см³) від 642 проб збірного козиного молока. Після цього проводили бактеріологічні дослідження проб молока пізньої лактації з кількістю соматичних клітин > 1 млн/см³ ($n = 94$), з яких тільки 29,76% класифіковані як вільні від мікроорганізмів (Vasiu et al., 2008).

Отже, вчені продовжують вести пошук непрямих досліджень, які вказують на субклінічний мастит кіз, крім методу бактеріологічного виявлення збудників (Stuhr & Aulrich, 2010).

Мета нашої дослідження – порівняти різні методи визначення кількості соматичних клітин у козиному молоці для можливості діагностики субклінічного маститу кіз.

Матеріал і методи досліджень

Двічі на субклінічний мастит досліджено стадо кіз альпійської, англо-нубійської, німецької білої та місцевої порід приватного підприємства “Укрсільгоспром”, розташоване в місті Підгороднє Дніпропетровського району Дніпропетров-

ської області. У жовтні 2017 року досліджено 83 дійні кози, у квітні 2018 року – 144. Відбирали перші порції молока, після чого їх досліджували за допомогою мастидинової проби та каліфорнійським маститним тестом у лабораторії гігієни харчової продукції кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Проби відстоювання, визначення кількості соматичних клітин у молоці проводили за допомогою приладу “Соматос” загальноприйнятими методами. У виготовлених мазках молока й забарвлених за Май-Грюнвальдом підраховували кількість соматичних клітин під мікроскопом з об'єктивом $\times 100$ (Zazharska, 2018).

Результати та їх обговорення

У жовтні 2017 року, під час дослідження 83 кіз на субклінічний мастит, у 37 тварин виявили позитивний результат мастидиновою пробую. Для остаточного діагнозу від цих тварин відібрали молоко та провели пробу відстоювання. Виявлено 10 тварин, хворих на субклінічний мастит, що становить 12% від стада. Проби від 20 кіз показали сумнівний результат (24%). У 7 кіз субклінічний мастит не виявили, проте спостерігали підвищення кількості соматичних клітин, яке можливо викликано статевим збудженням. Оскільки відсоток хворих тварин високий (12%), то проводили бактеріологічне дослідження молока на збудника маститу, за результатами якого виділено *Staphylococcus aureus*.

Через 6 місяців повторно обстежували стадо зі 144 дійних кіз, з яких 51 тварину відділили в окрему групу зі субклінічним маститом або з підозрою на захворювання. Під час проведення дослідження порівнювали 2 методи виявлення прихованого маститу: мастидинову пробу та каліфорнійський маститний тест. З'ясувалося, у пробі з мастидином реакція відбувається краще, що можна пояснити утворенням більш щільного згустка (рис. 1).



Рис. 1. Дослідження на субклінічний мастит каліфорнійським тестом (ліва частина пластини) і мастидиновою пробую (права частина)

Для визначення кількості соматичних клітин і постановки проби відстоювання було відібрано 31 пробу молока у тварин, які показали позитивний чи сумнівний результат у швидких маститних тестах.



Рис. 2. Виявлений осад на склі пробірки під час оцінювання результатів проби відстоювання

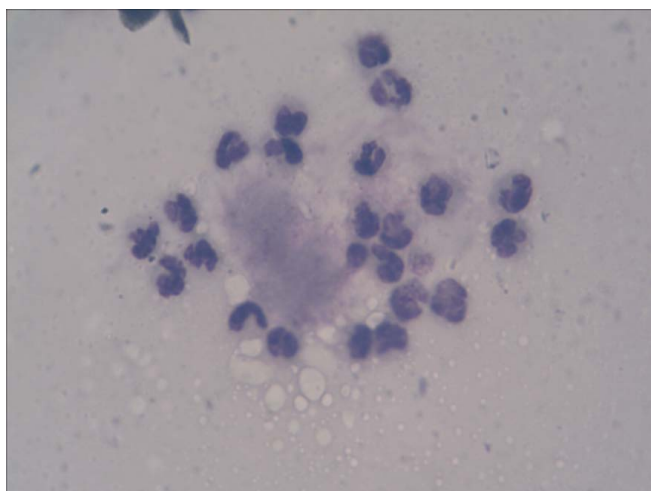


Рис. 3. Соматичні клітини в мазках козиного молока у разі субклінічного маститу. Заб. за Май-Грюнвальдом. $\times 1000$

Відзначимо деякі особливості обліку проби відстоювання з козином молоком. Краще проводити облік через 24–36 годин. Більш уважно розглядати пробірку з молоком. За субклінічного маститу в нижній половині стовпчика молоко водянисте (зі сіруватим відтінком) або на дні пробірки ледве помітний осад чи згусток. Якщо вилити вміст пробірки у чашку Петрі, то все змішується в однорідну суміш, проте на склі пробірки залишається слід від згустку (рис. 2). За відсутності субклінічного маститу – у пробірці звичайне молоко з шаром вершків.

По результатам визначення кількості соматичних клітин віскозиметричним методом і проведення проби відстоювання зареєстрована допустима кількість соматичних клітин у молоці 9-ти кіз. У процесі одужання, завдяки лікуванню вакциною, перебували 11 тварин, які мали одну уражену долю вимені та несуттєве збільшення кількості соматичних клітин. На нашу думку, збільшення кількості соматичних клітин викликано проямом статевої охоти, а не субклінічним маститом.

У 8 кіз виявлений субклінічний мастит за результатами аналізів. Рекомендовано подальше спостереження, лікування вакциною та часте здоювання. До вибракування рекомендовані 3 тварини через несприятливий прогноз лікування. Тобто визначення кількості соматичних клітин віскозиметричним методом і проведенням проби відстоювання 31 проби молока виявлено 9 здорових тварин. Але це попередні підсумки, які перевіряли підрахунком кількості соматичних клітин у мазках молока.

За прямого підрахунку соматичних клітин у мазках козиного молока, забарвлених будь-яким методом, виявляли більшу кількість клітин, ніж за допомогою приладів “Соматос” і “SomaCount Flow Cytometer”. Виходячи з цього, задля об’єктивного визначення, кількість соматичних клітин вимірювали апаратним і арбітражним методами прямого підрахунку клітин у мазках молока за методом Прескота-Бріда (рис. 3).

Арбітражним вважають метод підрахунку соматичних клітин молока за Прескота-Бріда, коли мазки козиного молока рекомендують забарвлювати піроніном, але барвники для проведення дослідження, зазначимо, мають високу вартість.

За попередніми дослідженнями встановлено, що якість мазків козиного молока для підрахунку кількості соматичних клітин, забарвлених методом Май-Грюнвальда, відповідає рекомендованому методу з піроніном Y, але вартість барвників у 28,4 раза нижча (Zazharska, 2018). Для спрощення обробки результати дослідження молока кіз розподілили на 3 діапазони за кількістю соматичних клітин (таблиця).

Кількість соматичних клітин $> 1,5$ млн/см³ на приладі “Соматос” точно встановити неможливо, тому показник визначали орієнтовно по залишку після витікання суміші з капіляра за хвилину.

У пробах молока, де відмічена найбільша кількість соматичних клітин (> 20 млн/см³) за підрахунку в мазках, за допомогою приладу “Соматос” визначено лише 2818 ± 956 тис./см³, що перекоштує в точності арбітражного методу. За підрахунком клітин у мазках не виявлено зразків із кількістю соматичних клітин до 1 млн/см³, натомість віскозиметричним методом у 7 пробах молока встановлено такий рівень. Це ще раз доводить, що віскозиметричний прилад “Соматос” є тільки непрямим

Таблиця. Підрахунок соматичних клітин у козиному молоці різними методами

Соматичні клітини у молоці, тис./см ³	Кількість соматичних клітин, визначених різними методами, тис./см ³	
	на приладі “Соматос”	у мазках молока, заб. за Май-Грюнвальдом
до 10 000	550 ± 104	7 020 ± 697
10 000–20 000	2 071 ± 318	15 558 ± 873
Понад 20 000	2 818 ± 956	29 652 ± 3 668

методом визначення кількості соматичних клітин, і в козиному молоці ця різниця між методами суттєвіша.

Від 5 до 10 млн соматичних клітин виявлено у 26% (8) мазків молока, від 10 до 20 млн – у 35% (11) зразків і більше 20 млн соматичних клітин знайдено у 39% (12) мазків.

За результатами підрахунку соматичних клітин на приладі “Соматос” взагалі не виявлено понад 4,5 млн, тому що цей метод є неточним. За результатами досліджень з використанням приладу “Соматос” 9 зразків молока (29%) мали кількість соматичних клітин до 800 тис./см³, що відповідає вимогам ДСТУ (другий гауноук) (Молоко козине. Сировина. Технічні умови: ДСТУ 7006:2009, 2010), у 22 зразках (71%) показник значно перевищував цей рівень. Отже, молоко від 9 кіз можна допускати на харчові цілі за результатами аналізу віскозиметричним методом, але за допомогою арбітражного методу (пряма мікроскопія) воно виявилось від кіз із субклінічним маститом і повинно бути утилізовано.

У попередніх дослідженнях визначено, що критеріями виявлення субклінічного маститу кіз є сукупність таких показників, як уміст хлорид-іонів > 300 мг%, кількість соматичних клітин > 2 млн/см³, хлорцукрове число 7 і вище, позитивні проби з мастидином і відстоювання (Zazharska et al., 2017). Для фермерів рекомендовано проводити пробу з мастидином, мастопримом або каліфорнійський маститний тест із молоком двох долей вимені окремо. Виявлення позитивного результату однієї з долей можна вважати субклінічним маститом вимені.

Використання фітозасобів для доїння (мазі для доїння “Дбайлива доярочка”, “Фітосепт”, крем “Зоряка”, гель “Ніжно-дій») покращує санітарно-гігієнічні показники козиного молока і може бути заходом профілактики субклінічного маститу кіз (Fotina et al., 2015).

Для постійного отримання молока з малою кількістю соматичних клітин віскозиметричним методом (< 600 тис./см³), з метою виготовлення високоякісного сиру, господарству рекомендовано регулярне оновлення стада дійних кіз, оскільки найменшу кількість соматичних клітин у молоці мають кози першої лактації (первістки).

Висновки

Точну кількість соматичних клітин у козиному молоці можна встановити тільки підрахунком прямим мікроскопічним методом або з використанням флуорооптоелектронних лічильників. Для виявлення субклінічного маститу в кіз у пробі з мастидином реакція відбувається краще, ніж у каліфорнійському маститному тесті за рахунок утворення щільнішого згустку.

References

Fotina, T. I., Zazharska, N. M., & Kostyuchenko, V. Y. (2015). Influence of facilities for milking on sanitary quality of goat's milk. *Visnik Sumського Nacionalnogo Agrarnogo Universitetu*, 7(37), 59–65 (in Ukrainian).

- Kline, K. E. (2018). Factors affecting Somatic Cell Count in milk of dairy cows in Costa Rica. *International Journal of Veterinary Science and Research*, 4(1), 001–008.
- Leitner, G., Merin, U., & Silanikove, N. (2004). Changes in Milk Composition as Affected by Subclinical Mastitis in Goats. *Journal of Dairy Science*, 87(6), 1719–1726.
- Min, B. R., Tomita, G., & Hart, S. P. (2007). Effect of subclinical intramammary infection on somatic cell counts and chemical composition of goats' milk. *Journal of Dairy Research*, 74: 204–210.
- Paape, M. J., Wiggans, G. R., Bannerman, D. D., Thomas, D. L., Sanders, A. H., Contreras, A., Moroni, P., Miller, R. H. (2007). Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research*, 68(1–2), 114–125.
- Raynal-Ljutovac, K., Pirisi, A., de Crémoux, R., & Gonzalo, C. (2007). Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Ruminant Research*, 68(1–2), 126–144.
- Shah, A., Darzi, M. M., Kamil, S. A., Mir, M. S., Maqbool, R., Ali, R., Kashani, B., Wani, H., Bashir, A., Dar, A., & Qureshi, S. (2017). Somatic cell alteration in healthy and mastitic milk of sheep and goats. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(6), 27–33.
- Souza, G. N. de, Brito, J. R. F., Brito, M. A. V. P., Lange, C., Faria, C. G. de, Moraes, L. C. D. de, Fonseca, R. G., & Silva, Y. D. A. (2009). Composição e contagem de células somáticas no leite de rebanhos caprinos do Sudeste do Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 46(1), 19.
- Stuhr, T., & Aulrich, K. (2010). Intramammary infections in dairy goats: recent knowledge and indicators for detection of subclinical mastitis. *Landbauforschung Applied Agriculture and Forestry Research*, 4(60): 267–280.
- Vasiu, C., Bogolin, I., & Bolfă, P. (2008). Relation between the geometrical mean of somatic cells from bulk milk and the prevalence of subclinical intramammary infections in sheep and goats. *Bulletin USAMV Veterinary Medicine*, 65(2), 339–344.
- Wagner, S. A., Jones, D. E., & Apley, M. D. (2009). Effect of endotoxic mastitis on epithelial cell numbers in the milk of dairy cows. *American Journal of Veterinary Research*, 70(6), 796–799.
- Ying, C., Wang, H.-T., & Hsu, J.-T. (2002). Relationship of somatic cell count, physical, chemical and enzymatic properties to the bacterial standard plate count in dairy goat milk. *Livestock Production Science*, 74(1), 63–77.
- Zazharska, N. M. (2018). Criteria for safety and quality assessment of goat's milk. The thesis for the scientific degree of doctor of the veterinary science by specialty 16.00.09 – veterinary and sanitary expertise. Sumy National Agrarian University (in Ukrainian).
- Zazharska, N. M., Neverkovets, N. Y., & Danyliuk, V. O. (2017). Parameters of subclinical mastitis in goats. *News of Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University*, 3(45), 77–81 (in Ukrainian).
- Zazharska, N., Boyko, O., & Brygadyrenko, V. (2018). Influence of diet on the productivity and characteristics of goat milk. *Indian Journal of Animal Research*, 52(5), 711–717.