

19 Boxx G.M. The Roles of Type I Interferon in Bacterial Infection / G.M. Boxx, G. Cheng // CellHost Microbe. 2016 № 19(6). – p. 760-769. DOI: 10.1016/j.chom.2016.05.016.

20 Shabunin S.V. Using biferonb for the prevention of mastitis in cow/S.V.Shabunin, A. Pashentsev, N.T. Klimov, V.I. Morgunova, V.A. Gritsyuk // BIOWeb of Conferences. International Scientific-Practical Conference "Agriculture and Food Security: Technology, Innovation, Markets, HumanResources"(FIES2019).2020. –P. 00099.

21 Shepherd, Francesca Chylinski, Caroline Hutchings, Michael R. Lima, Joana Davidson, Ross/Comparative analysis of the anthelmintic efficacy of European heather extracts on Teladorsagia circumcincta and Trichostrongylus colubriformis egg hatching and larval motility/Parasites and Vectors/Tom 15, Vypusk 1December 2022 409/ ISSN17563305 DOI10.1186/s13071-022-05531-0

22 Hamilton, Kyra M.Waghorn, Tania S.;de Waal, Theo;/In vitro evaluation of fitness parameters for isolates of Teladorsagia circumcincta resistant and susceptible to multiple anthelmintic classes/Veterinary Parasitology/Tom 310October 2022 Nomer stat'i 109791/ISSN03044017 DOI10.1016/j.vetpar.2022.109791

РЕЗЮМЕ

В рамках доклинических исследований были изучены эмбриотоксические и тератогенные свойства разработанной лекарственно-кормовой смеси (ЛКС^а) для лечения и профилактики инвазивных заболеваний сельскохозяйственных животных. Для приготовления ЛКС использовались фитобиотик и препараты группы бензимидазолов (альбендазол — производства компании RHYTOBIOTICS, Китай, Германия). Оптимизированная партия лекарственно-кормовой смеси с альбендазолом и фитобиотиком «Сангровит Экстра» была приготовлена в лабораторных условиях на кафедре ветеринарной медицины. В эксперименте использовали 24 самки белых крыс (m=180-200 г), разделенных на опытную и контрольную группы. ЛКС давали в дозе 8-12 г/крыс в сутки в течение 15 дней. Каждая группа состояла из 6 самок, размещенных в четырех клетках. Вечером самок подсаживали к самцам, и день, когда в вагинальных мазках были обнаружены сперматозоиды, считался первым днем беременности. Чтобы определить эмбриотоксическое действие добавки на 20-й день беременности, половина самок в каждой группе была эвтаназирована, и оценивались эмбрионы и плацента; вторая половина самок оставалась для оценки тератогенного эффекта до естественных родов. Установлено, что при исследуемой дозе лекарственно-кормовая добавка не имеет эмбриотоксического и тератогенного действия.

УДК 618.19-002:575.22:636.234.1
МРНТИ 68.41.49

DOI 10.52578/2305-9397-2024-4-1-122-136

Муслимова Ж. У., магистр сельскохозяйственных наук, **основной автор**, <https://orcid.org/0000-0003-3485-7240/print>

НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, пр. Абая 8, 050010, Казахстан, info@kaznaru.edu.kz

Хусаинов Д.М., кандидат ветеринарных наук, <https://orcid.org/0000-0002-0244-8381>

НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, пр. Абая 8, 050010, Казахстан, info@kaznaru.edu.kz

Нусупова С. Т., кандидат ветеринарных наук, <https://orcid.org/0000-0002-3706-7802>

НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, пр. Абая 8, 050010, Казахстан, info@kaznaru.edu.kz

Омарбекова У. Ж., кандидат ветеринарных наук, <https://orcid.org/0000-0002-2459-5438>

НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, пр. Абая 8, 050010, Казахстан, info@kaznaru.edu.kz

Орынханов К. А., кандидат ветеринарных наук, <https://orcid.org/0000-0001-6736-0498>

НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, пр. Абая 8, 050010, Казахстан, info@kaznaru.edu.kz

Кузербаяева А.Т., доктор PhD, доцент, <https://orcid.org/0000-0003-4748-9037>

«Южно-Казахстанский университет имени М. Ауэзова», г. Шымкент, пр. Тауке хана 5, 160012, Казахстан, info@aeuzov.edu.kz

Усенбеков Е. С., кандидат биологических наук, <https://orcid.org/0000-0001-9508-4179>

НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, пр. Абая 8, 050010, Казахстан, info@kaznaru.edu.kz

Muslimova Zh. U., Master of Agricultural Sciences, **the main author**, <https://orcid.org/0000-0003-3485-7240/print>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Khussainov D.M., Candidate of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-0244-8381> NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Nussupova S. T., Candidate of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-3706-7802> NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Omarbekova U. Zh., Candidate of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-2459-5438> NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Orynkhanov K. A., Candidate of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0001-6736-0498> NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Kuzerbayeva A.T., doctor of PhD, associate professor, <https://orcid.org/0000-0003-4748-9037> M.Auezov South Kazakhstan University, Shymkent, 160012, Tauke khan Ave 5, Kazakhstan, info@aeuzov.edu.kz

Ussenbekov Y. S., Candidate of Biological Sciences, <https://orcid.org/0000-0001-9508-4179> NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

**ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ SCC И ОСТАТОЧНОГО
КОЛИЧЕСТВА АНТИБИОТИКОВ В МОЛОКЕ И ДЕТЕКЦИЯ ПАТОГЕННОЙ
МИКРОФЛОРЫ МЕТОДОМ ПЦР
PRACTICAL SIGNIFICANCE OF DETERMINING SCC AND RESIDUAL ANTIBIOTICS
IN MILK AND DETECTION OF PATHOGENIC MICROFLORA BY PCR**

Аннотация

В статье приводятся результаты скрининга на субклинический мастит у коров гоштинской породы молочной фермы Алматинской области. Определение количества соматических клеток в молоке проведено с помощью оборудования FOSSOMATICTM FC. Исследованиями, установлено пороговое значение содержания соматических клеток в 1,0 мл молока, которое составляет более 100 тыс клеток. Эксперименты по определению количества соматических клеток в молоке проведены трижды, в марте, апреле, мае месяцах 2023 года и по результатам скрининга у исследуемой популяции коров распространенность субклинического мастита составила 27,2%. В качестве альтернативного способа диагностики субклинического мастита в условиях хозяйства был использован экспресс метод диагностики с помощью тестов компании Delaval mastitis test, Kenotest. Доля лактирующих коров, у которых содержание соматических клеток минимальное, т.е. менее 50 тыс клеток, составила от 27,8% до 31,4%. Наоборот, процент коров у которых выявлено максимальное количество клеток, более 500 тыс клеток был низким и составил 3,4%. Анализ содержания остаточного количества четырех групп антибиотика (хлорамфеникола, стрептомицина, тетрациклиновой и β-лактамовой групп) проводился с помощью прибора ANKAR 100. Всего протестированы 62 образца молока на содержание остаточного количества антибиотиков и в 16,1% случаях зафиксированы факты превышения содержания антибиотиков в исследуемых образцах молока: хлорамфеникола (в 5 образцах), стрептомицина (в 4 образцах), тетрациклиновой группы (в 1 образце), β-лактамовой группы (не обнаружено). В качестве точного и быстрого метода идентификации патогенных

микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* в клиническом материале был использован метод ПЦР диагностики. Преимуществом использования праймеров, подобранных к консервативному участку гена *fimH* *E. Coli*, является тот факт, что обнаружение фрагмента длиной 508 п.н. указывает на то, что обнаруженный микроорганизм относится к группе *E. Coli* и она обладает свойством образования биопленки, которая обеспечивает для микроорганизма свойство резистентности к антибиотикам.

ANNOTATION

The article presents the results of screening for subclinical mastitis in Goshtinskaya cows of a dairy farm in the Almaty region. The number of somatic cells in milk was determined using FOSSOMATICTM FC equipment. The studies established the threshold value for the content of somatic cells in 1.0 ml of milk, which is more than 100 thousand cells. Experiments to determine the number of somatic cells in milk were carried out three times, in March, April, May 2023, and according to the screening results, the prevalence of subclinical mastitis in the studied population of cows was 27.2%. As an alternative method for diagnosing subclinical mastitis on the farm, an express diagnostic method was used using Delaval mastitis test, Kenotest. The proportion of lactating cows with a minimal somatic cell count, i.e. less than 50 thousand cells, ranged from 27.8% to 31.4%. On the contrary, the percentage of cows with the maximum number of cells, more than 500 thousand cells, was low and amounted to 3.4%. The analysis of the content of residual amounts of four groups of antibiotics (chloramphenicol, streptomycin, tetracycline and β -lactam groups) was carried out using the ANKAR 100 device. A total of 62 milk samples were tested for the content of residual antibiotics and in 16.1% of cases, the facts of excess antibiotic content in the analyzed milk samples were recorded: chloramphenicol (in 5 samples), streptomycin (in 4 samples), tetracycline group (in 1 sample), β -lactam group (not detected). As an accurate and rapid method for identifying pathogenic microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* in clinical material, the PCR diagnostic method was used. The advantage of using primers selected for the conservative region of the *fimH* gene of *E. Coli* is that the detection of a 508 bp fragment indicates that the detected microorganism belongs to the *E. Coli* group and has the property of forming a biofilm, which provides the microorganism with the property of resistance to antibiotics.

Ключевые слова: субклинический мастит, соматические клетки, SCC, подсчет соматических клеток, ПЦР детекция патогенных микроорганизмов, резистентность к антибиотикам, остаточное количество антибиотиков в молоке.

Key words: subclinical mastitis, somatic cells, SCC, somatic cell count, PCR detection of pathogenic microorganisms, antibiotic resistance, residual antibiotics in milk.

Введение. Количество соматических клеток (SCC) в молоке используется в качестве ключевого показателя в программах скрининга мастита, обычно применяемых в рамках программ тестирования улучшения молочного стада (Dairy Herd Improvement - DHI). В качестве альтернативного способа определения количества соматических клеток, разработан метод определения дифференциального количества соматических клеток (differential somatic cell count - DSCC), который позволяет в отдельных образцах молока с использованием проточной цитометрии количество SCC. DSCC представляет собой объединенную долю полиморфноядерных лейкоцитов (PMN) и лимфоцитов, выраженную в процентах [1]. Мастит, особенно в его субклинической форме, является широко распространенным заболеванием, которое снижает фертильность дойных коров. Основная причина низкого риска зачатия была связана с задержкой овуляции у коров с субклиническим маститом. Вероятность зачатия маститных и контрольных коров после применения Овсинх была изучена у 1553 животных и результаты были проанализированы с помощью многовариантной логистической модели с использованием процедуры GLIMMIX SAS. Таким образом, протокол OVS может улучшить фертильность коров с субклиническим маститом, вероятно, из-за «скорректированного» срока овуляции у коров [2]. Мастит является наиболее распространенным заболеванием молочных коров и оказывает неблагоприятное воздействие на благополучие животных и прибыльность молочной фермы. Десятилетиями исследователи работали над выявлением эффективных стратегий контроля мастита, вызванного *Streptococcus agalactiae* и *Staphylococcus aureus*. Чтобы разработать успешные программы контроля, работникам, занимающимся маститом, сначала

пришлось выявить механизмы заражения, определить клинические и субклинические состояния заболевания, обнаружить соответствующие скрининговые тесты [3]. Причиной возникновения мастита являются такие полиэтиологические факторы, как резистентность организма, неправильное кормление, нарушение гигиенических норм содержания коров. При маститах часто можно обнаружить следующие условно патогенные микроорганизмы: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, которые попадают в молочную железу галактогенным или лимфагенным путем [4]. В настоящее время мастит имеет широкую распространенность на молочных фермах, поэтому вопросы диагностики, лечения и профилактики мастита является актуальной проблемой [5].

Хорошо известно, что субклинический мастит (SCM), характеризующийся количеством соматических клеток (SCC) >200 000 клеток/мл, отрицательно влияет на продуктивность, репродуктивную эффективность. Однако, в органических стадах, где использование антимикробных препаратов ограничено для лечения и контроля интрамаммарных инфекций (IMI) у молочных коров, мало что известно о влиянии SCM на производительность и выживаемость. Коровы с SCC >200 000 клеток/мл в первый месяц лактации считались имеющими SCM. Учеными были использованы модели пропорциональных рисков Кокса для оценки влияния SCM на риск беременности и выбраковки [6]. Лучшее понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе мастита крупного рогатого скота, имеет основополагающее значение для улучшения управления этим заболеванием, которое по-прежнему вызывает серьезную озабоченность у молочной промышленности, особенно в субклинической форме. Тяжесть и прогрессирование заболевания зависят от многочисленных аспектов, таких как генетика скота, и взаимодействие между возбудителем, хозяином и окружающей средой. В этом контексте эпигенетические механизмы, как было доказано, играют роль в контроле реакции животного на воспаление. Поэтому, учеными проведено изучение метилирования ДНК молочных соматических клеток (SCC) по всему геному у здоровых коров (n= 15) и коров, пораженных субклиническим маститом, вызванным *Streptococcus agalactiae* (n= 12) и *Prototheca spp.* (n= 11), чтобы лучше понять роль метилома SCC в реакции организма на болезнь. Дифференциально метилированные регионы (DMR) оценивались путем сравнения: (1) инфицированные *Strep. agalactiae* против здоровых; (2) инфицированные *Prototheca* против здоровых, и (3) мастит против здоровых и (4) инфицированные *Strep. agalactiae* против инфицированных *Prototheca*. В целом, установлена четкая регуляция иммунного ответа организма, обусловленной метилированием ДНК при субклиническом мастите [7].

Антибиотическая терапия сухостойных коров (Antibiotic dry cow - DCT) является важной частью большинства программ по борьбе с маститом. Обновление рекомендаций DCT является актуальной темой из-за глобальной проблемы устойчивости к противомикробным препаратам. Независимо от подхода DCT фермы, годовое производство молока увеличивалось с годами, в то время как среднее SCC было достаточно постоянным. Изменчивость SCC и производства молока во всех группах DCT была низкой между годами, и большая часть изменчивости была между фермами. Результаты исследования показывают, что можно поддерживать низкий средний по стаду SCC и хорошее производство молока при использовании селективного DCT и соблюдении рекомендаций по разумному использованию антимикробных препаратов [8]. Одним из наиболее распространенных возбудителей маститов коров является *Str. agalactiae*, который также потенциально опасен для человека и животных. Постоянное использование антимикробных препаратов способствует появлению полирезистентных микроорганизмов, что показывает актуальность рациональной фармакотерапии животных. Для исследований, было отобрано 398 проб молока, выделено и идентифицировано 26 изолятов *Str. agalactiae* (6,5%). По результатам исследования установлено, что наибольшее количество изолятов были резистентны к группе β – лактамных антибиотиков: бензилпенициллин (76,9%), амоксициллин (65,3%), ампициллин (65,3%); аминогликозидам – канамицин (61,5%) и макролидам – тилозин (50,0%). Менее устойчивы к тетрациклинам: доксициклин (42,3%) тетрациклин (30,7%). Самую низкую резистентность исследованные штаммы *Str. agalactiae* проявили к левомицетину – 23,0% [9].

Несоблюдение правил применения антибиотиков или сроков выдачи молока от коров, подвергнутых антибиотикотерапии, приводит к попаданию остаточных количеств лекарственных средств в организм человека с молочными продуктами. Для практики необходимы простые, но достаточно чувствительные и специфичные экспресс-тесты для

определения безопасности молока. Такие тесты могут быть разработаны на основе иммунохроматографического анализа (ИХА). Разработанный авторами мультиплексный тест ИХА показал чувствительность на уровне лучших мировых аналогов, обнаружив СТР, ТС и КАП в молоке в концентрациях, равных или превышающих предельно допустимые концентрации (ПДК) для этих антибиотиков: 200 нг/мл, 10 нг/мл, 0,3 нг/мл соответственно. Учеными разработана тест-система ИХА для одновременного экспресс-анализа молока на содержание стрептомицина, тетрациклина и хлорамфеникола [10]. Учеными была проведена оценка взаимосвязи между остатками антибиотиков и значением количества соматических клеток (SCC) в молоке коров. Образцы молока ($n=200$) были случайным образом собраны в летний и зимний сезоны на молочных фермах. В исследовании были изучены наличие остатков антибиотиков в сыром коровьем молоке, оценка значения SCC и взаимосвязь между SCC молока и значением остатка антибиотика в сыром молоке. Из 200 проверенных образцов 115 были положительными на остатки антибиотиков. Остаток антибиотиков в зимний сезон был значительно выше, чем в летний сезон ($P < 0,05$). Также уровень SCC был значительно выше в зимний сезон по сравнению с летними образцами ($P < 0,05$). Значение SCC было значительно выше для образцов молока с положительным остатком антибиотика ($P < 0,05$). Результаты показали положительную значимую корреляцию ($P < 0,01$) между остатками антибиотиков и SCC ($r^2=0,305$, $P=0,002$) [11]. В связи с актуальностью проблемы маститов коров, разнообразием выделяемой при этом микрофлоры, а также для планирования лечебно-профилактических мероприятий в хозяйствах были проведены исследования по выявлению сходства и различия видового состава микроорганизмов при субклинической и клинической формах маститов. Доказано, что при субклиническом мастите из молока чаще всего выделяли культуры золотистого стафилококка (17,9% случаев), патогенные стрептококки (9,8% случаев), из них доля *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* составила 6,5 и 3,3% соответственно. Следует отметить, что при клиническом мастите энтеробактерии были выявлены только в одном из тринадцати обследованных молочных ферм [12].

Интрамаммарные инфекции молочных коров, наряду с другими перипартуриентными заболеваниями, стали проблемой в молочной промышленности, поскольку они приводят к потере молочной продуктивности. Основной целью этого исследования было определить, связано ли повышенное количество соматических клеток (SCC) у коров перед запуском с частотой других перипартуриентных заболеваний. Результаты показали, что повышенное SCC перед запуском было связано с частотой кетоза. Коровы с высоким SCC при сухостое также показали повышенную вероятность задержки плаценты, метрита и хромоты после отела. Содержание лактозы в молоке было ниже у коров с высоким SCC, тогда как содержание белка было ниже после отела. Производство молока было ниже у коров с повышенным SCC перед отелом, особенно у коров с задержкой плаценты, кетозом и маститом [13]. Мастит является дорогостоящим заболеванием у молочного скота из-за снижения производства молока, выбраковки молока и других экономических факторов, таких как затраты на лечение. Использование антибиотиков для лечения мастита может быть реализовано после диагностики, основанной на обнаружении повышенного количества соматических клеток молока (SCC). Подход к повышению показателей излечения мастита может заключаться в оценке SCC молока до назначения лечения. Для того чтобы исследовать этот потенциальный инструмент, решающее значение имеет эффективный и надежный метод подсчета SCC. В обзорной статье рассмотрены различные методы определения количества соматических клеток в молоке, доступные методы подсчета SCC и факторы, которые связаны с излечением интрамаммарной инфекции с акцентом на SCC [14].

Лечение случаев мастита антимикробными препаратами имеет важное значение для снижения SCC и улучшения качества молока. Нерациональное использование антимикробных препаратов на молочных фермах увеличило развитие устойчивых к антимикробным препаратам бактерий. Поэтому учеными были изучены следующие задачи: выделение и идентификация этиологических агентов мастита, определение профилей устойчивости к антимикробным препаратам бактериальных изолятов. Была протестирована устойчивость бактериальных изолятов к 10 обычно используемым антимикробным препаратам. Всего было выделено 193 бактерии, включающие шесть видов бактерий, в том числе *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* и *Klebsiella pneumoniae*.

Staphylococcus aureus были преобладающими изолятами, за которым следовали *Strep. spp.*, *E. coli* и *Klebsiella spp.* Непрерывное тестирование устойчивости к противомикробным препаратам и выявление резервуаров признаков устойчивости на молочных фермах имеют важное значение для реализации надлежащих мер по смягчению последствий [15]. В Дании ПЦР-тестирование молочного скота обычно используется для отбора животных для антибактериального лечения интрамаммарной инфекции (ИМИ) в период сухостоя. Целью исследования было сравнение кривых SCC в течение лактации среди молочных коров с положительными и отрицательными результатами ПЦР-теста на четыре основных патогена. Результаты показали, что средние значения кривых SCC были выше для животных с положительным результатом ПЦР во всех группах и в зависимости от полученных результатов можно оптимизировать схему лечения коров в сухостойный период [16]. По результатам исследования инфицированные четверти имеют более высокий средний уровень SCC ($210,52 \times 10^3$ клеток/мл) по сравнению с неинфицированными ($32,72 \times 10^3$ клеток/мл). Средний SCC был самым высоким для инфицированных патогенным агентом *Enterobacter spp.* ($338,00 \times 10^3$ клеток/мл), за которым следовали *Bacillus spp.* ($319,20 \times 10^3$ клеток/мл), коагулазонегативные *Staphylococci* (CNS) ($268,17 \times 10^3$ клеток/мл), *Staphylococcus aureus* ($218,31 \times 10^3$ клеток/мл) и *Escherichia coli* ($200,75 \times 10^3$ клеток/мл), а самый низкий для *Pseudomonas aeruginosa* ($66,33 \times 10^3$ клеток/мл). Молоко из задних четвертей имело значительно более высокий уровень SCC, чем из передних четвертей. SCC увеличивалось с увеличением возраста, числа отела и стадии лактации независимо от того, инфицированы ли коровы или нет. ИМИ был более распространен в задних четвертях (42,2%) и у коров на ранней (≤ 7 дней) лактации (100,0%) [17].

Целью другого исследования было установление рабочего порога количества соматических клеток (SCC) для прогнозирования наличия интрамаммарной инфекции (ИМИ) в образцах молока. Оценки дисперсии для доли образцов четверти, давших положительный результат, были скорректированы с учетом отсутствия их независимости в пределах отдельных коров. ИМИ при порогах SCC 150 000 клеток/мл и 200 000 клеток/мл отличались только на 3,26% в составных образцах молока [18]. Для сбора данных по отдельным коровам и стадам использовался предварительно протестированный вопросник. Факторы риска, связанные с SCM, анализировались с использованием бинарной логистической регрессии в обобщенных линейных смешанных моделях. Влияние SCM на интервал от отела до зачатия и дней от отела до искусственного осеменения было проанализировано с помощью анализа выживаемости с использованием пропорциональной регрессии рисков Кокса и оценки функции выживаемости Каплана-Майера. Модель регрессии Пуассона была запущена для определения влияния SCM на количество искусственных осеменений на зачатие [19].

Использование селективной антимикробной терапии сухостойных коров требует точной дифференциации коров с интрамаммарной инфекцией. Всего в исследовании были включены 2074 коровы из 21 молочного стада с весенним отелом со средним ежемесячным содержанием соматических клеток в молочном резервуаре $\leq 200\,000$ клеток/мл. В общей сложности 18,7% коров были классифицированы как имеющие субклинический мастит, причем у коров первого отела доля субклинического мастита была выше (29,3%) по сравнению с коровами повторного отела (16,1%) [20]. Соматические клетки молока (SCC) представляют собой смесь клеток, вырабатывающих молоко и иммунных клеток. Эти клетки секретируются в молоко во время нормального процесса доения и используются в качестве индекса для оценки здоровья молочной железы. SCC молока зависит от продуктивности коровы, здоровья, количества отела, стадии лактации и породы животного [21]. По результатам исследования морфологическая характеристика содержания лейкоцитов в здоровом и маститном молоке разных видов животных составляет: нейтрофилы 12–15 μm , макрофаги 20–30 μm , лимфоциты 9–16 μm [22,24]. Использование метода мультиплексной ПЦР для выявления генов резистентности и патогенности свидетельствует, что все изоляты в своем геноме содержат: blaTEM, sul1, tetA, qnrS, blaCTX-M и fimH (100%), papC (40%), и hlyA (10%). Известно, что fimH был самым распространенным геном, связанным с свойством образования биопленки. Проведенные исследования показывают высокую встречаемость *E. coli* с множественной лекарственной устойчивостью, при патологиях молочной железы у коров. Отечественными учеными оптимизированы протокол выделения ДНК из биологических материалов и условия ПЦР идентификации гена fimH из изолятов коров, больных эндометритом, маститом [25].

Обычно протокол лечения больных животных включает применение противомикробных препаратов, в том числе антибиотиков, сроки выведения антибиотиков из организма молочных коров остаточного количества антибиотиков составляет приблизительно 15-20 дней после последнего применения антибиотиков. В молоке встречаются в основном остаточное количество антибиотиков, которое снижает пригодность молока технологической обработке. Следует отметить, что в ветеринарной практике контролируются количество четырех антибиотиков: левомицетин, стрептомицин, тетрациклин и пенициллин.

Целью исследования было - изучение динамики содержания соматических клеток в молоке коров племенного хозяйства Алматинской области и оптимизация методики определения остаточного количества четырех групп антибиотика в молоке с помощью экспресс-тест Garant 4 Ultra Milk системы и прибора ANKAR 100.

Материалы и методы исследований. Экспериментальные работы по определению содержания соматических клеток в молоке и остаточного количества антибиотиков проводились на молочной ферме Алматинской области в период с марта по май месяцы 2023 года на коровах голштинской породы с молочной продуктивностью 8500-9000 кг за лактацию. Диагностика субклинического мастита в условиях молочной фермы проводили с помощью экспресс тестов компании Delaval mastitis test, Kenotest с использованием молочной пластинки. Результаты экспресс оценки качества молока определяли по изменению цвета исследуемого материала и образованию желеобразного сгустка.

Сбор клинического материала для ПЦР диагностики проводился в 2023 году у коров молочной фермы, выделение ДНК из изолятов проводилось в лаборатории «Зеленой биотехнологии и клеточной инженерии» Казахстанско-Японского инновационного центра КазНАИУ. Образцы молока брали во время утренней дойки в стерильные пробирки, образцы молока были доставлены в референтную лабораторию молочной продукции КазНАИУ в течение 2-3 часов. Анализ содержания соматических клеток в молоке проводили с помощью лабораторного оборудования FOSSOMATICTM FC (Somatic cell counting for raw milk testing). Используемый прибор позволяет идентифицировать количество соматических клеток в 1 мл молока до 10 миллионов клеток. Основной принцип работы FOSSOMATICTM FC – это обнаружение и подсчет клеток в образцах исследуемого молока методом проточной цитометрии, данный принцип соответствует требованиям IDF и FDA/NCIMS для подсчета соматических клеток. Измерение количества SCC проводилось в 18 образцах молока, 8 образцов от двух коров, 5 образцов индивидуального молока, в том числе 1 образец от больной клинической формой мастита и 5 образцов сборного молока.

Исследование остаточного количества четырех групп антибиотика в исследуемых образцах молока коров проводилось с помощью прибора ANKAR 100 и коммерческого набора экспресс-тест Garant 4 Ultra Milk системы для одномоментного исследования антибиотиков β-лактамовой, тетрациклиновой групп, стрептомицина и хлорамфеникола (левомицитина) в образцах молока. Известно, что исследования используемого экспресс-теста основан на использовании высокоаффинных антител и белков, конкурирующих с β-лактамами, тетрациклинами, стрептомицином и хлорамфениколом, данный методологический подход позволяет быстро определить наличие потенциально вредных веществ в исследуемом материале. Предлагаемый способ довольно чувствительный и позволяет определить остаточное содержание антибиотиков качественно и количественно. Количество остаточного содержания антибиотиков в образцах можно определить визуально, т.е. наличие 4 полосок на тест полоске показывает о содержании в исследуемых образцах остаточного количества антибиотиков.

На первом этапе экспериментальной работы проводили диагностику клинического и субклинического мастита с помощью экспресс тестов, для молекулярно-генетических исследований взяли сектеры и экссудат из молочной железы, слизь из преддверия влагалища, влагалища коров. Выделение ДНК из клинического материала осуществлялось фенольным методом или с помощью коммерческих наборов. Для амплификации нужного фрагмента гена NUC *Staphylococcus aureus* были использованы: прямые F 5'- ATGAAGTCAAATAAATCGCT -3' и обратные R 5'- TTTGGTGAAAAATACTTCTC -3' праймеры, температура отжига 55°C, в случае положительного результата на электрофореграмме был выявлен фрагмент 458 п.н., который хорошо визуализируется в 3% агарозе (рис 2). Компоненты ПЦР реакции: 2,5 мкл 10 X буфера

для ПЦР, 1,5 мкл 25 мМ MgCl₂, 1,0 мкл 25 мкМ прямого и обратного праймеров, 2 мкл 0,2 мМ dNTP, 0,2 мкл Taq Polymerase 5u/μl, 2 мкл образца ДНК и 14,3 мкл H₂O [26,27,28].

Для ПЦРдиагностики были использованы следующие праймеры: для идентификации *Escherichia coli*, праймеры 16S rRNA, прямые F- 5'- GTTAATACSTTTGCTCATTTGA-3' и обратные R- 5'- ACCAGGGTATCTAATCCTGTT-3', размер амплификата 340 п.н., температура отжига праймеров 55°C. Использование праймеров к участку гена fimH *E. coli* позволяет определять одновременно наличие в исследуемом материале кишечной палочки и наличие свойства антибиотикоустойчивости, так как экспрессия гена fimH *E. coli* обеспечивает образование биопленки.

Для полимеразной цепной реакции участка гена fimH *E. coli* были использованы F 5'- TGCAGAACGGATAAGCCGTGG-3' и R 5'- GCAGTCACCTGCCCTCCGGTA-3', размер ПЦР продукта был 508 п.н. (рис 3). Температурный режим проведения ПЦР был: первоначальная денатурация 95 °C – 7 мин, второй шаг – денатурация 94 °C – 30 сек, отжиг праймеров - 57,0 °C -30 сек, элонгация - 72 °C 60 сек. Завершающий синтез 72 °C - 7 мин. Состав реакционной ПЦР смеси был: 2,5 мкл 10 X буфера для ПЦР, 1,5 мкл 25 мМ MgCl₂, 1,0 мкл 25 мкМ прямого и обратного праймеров, 2 мкл 0,2 мМ концентрации каждого dNTP, 0,2 мкл Taq полимеразы активностью 5u/μl, 2 мкл ДНК и 14,55 мкл дистиллированной воды [28]. Для визуализации результатов амплификации проводили в 3,0% агарозном геле горизонтальный электрофорез, обнаружение на полученной электрофореграмме фрагментов ДНК свидетельствовало об успешной амплификации и о положительном результате ПЦР теста.

Результаты и их обсуждение. Диагностику субклинического мастита провели с помощью Delaval mastitis test, первый раз обследовали указанным методом 147 коров, которые в основном находились на 1-3 месяце лактации, среднее суточный удой составил от 18 литров до 23 литров молока. По результатам экспресс диагностики были выявлены 36 коров с субклиническим маститом, у большинства коров были поражены 2-3 четверти вымени, у небольшой части коров были поражены все 4 четверти вымени. Также, наблюдается положительная корреляция результатов экспресс диагностики с результатами определения количества соматических клеток в молоке. После соответствующей пробаподготовки, с помощью прибора определяли количества соматических клеток в образцах молока, трижды – в марте в количестве 147 голов, в апреле в количестве 183, в мае – в количестве 194 коров, полученные результаты содержания соматических клеток в молоке приведены в таблице 1. Были трижды проверены количества соматических клеток в сборном молоке.

Таблица 1 – Содержание соматических клеток в молоке коров голштинской породы молочной фермы и в сборном молоке с помощью прибора FOSSOMATIC™ FC

Исследуемые коровы	Число животных с количеством соматических клеток в 1,0 мл молока				
	Здоровые животные		С субклиническим маститом		
	Менее 50 тыс клеток, голов	От 50 тыс до 100 тыс, голов	От 100 тыс до 300 тыс, голов	От 300 тыс до 500 тыс, голов	Более 500 тыс, голов
Результаты I тестирования, март 2023 г (n=147)	45/30,6%	62/42,2%	23/15,6%	12/8,2%	5/3,4%
В сборном молоке	432 тыс				
Результаты II тестирования, апрель 2023 г (n=183)	51/27,8%	87/47,5%	31/17,0%	6/3,4%	8/4,4%
В сборном молоке	428 тыс				
Результаты III тестирования, май 2023 г (n=194)	61/31,4%	93/47,9%	31/15,9%	4/2,0%	5/2,6%
Всего (n=524)	157/30,0%	242/46,2%	85/16,2%	22/4,2%	18/3,4%
В сборном молоке	443 тыс				

Анализ данных таблицы 1 показывает, что по результатам первого исследования из 183 животных, количество соматических клеток у 72,8% коров находилось в пределах физиологической нормы и число клеток в 1,0 мл молока составило до 100 тыс клеток. По результатам содержания соматических клеток в молоке коровы были распределены на следующие группы: число соматических клеток в 1,0 мл молока от 100 тыс до 300 тыс клеток, от 300 тыс до 500 тыс клеток и более 500 тыс клеток в 1,0 мл молока. Из проверенных 183 коров у 23 животных число клеток составило от 100 тыс до 300 тыс, у 12 особей от 300 тыс до 500 тыс клеток и у 5 коров более 500 тыс клеток в 1 мл молока, доля коров с соматической клеткой, превышающую физиологическую норму достигла 27,2%. Таким образом, по результатам первого диагностического обследования методом подсчета соматических клеток 27,2% животных оказались больными субклиническим маститом. Анализируя литературные сведения, животные, у которых число соматических клеток не превышает 100 тыс были отнесены в группу здоровых животных. По результатам второго и третьего тестирования у исследуемой группы коров наблюдается аналогичная тенденция, т.е. доля здоровых коров составляет соответственно, 75,3% и 79,3% (рис 1). Количество соматических клеток в сборном молоке колебалось от 428 тыс до 443 тыс в 1,0 мл исследуемого молока.

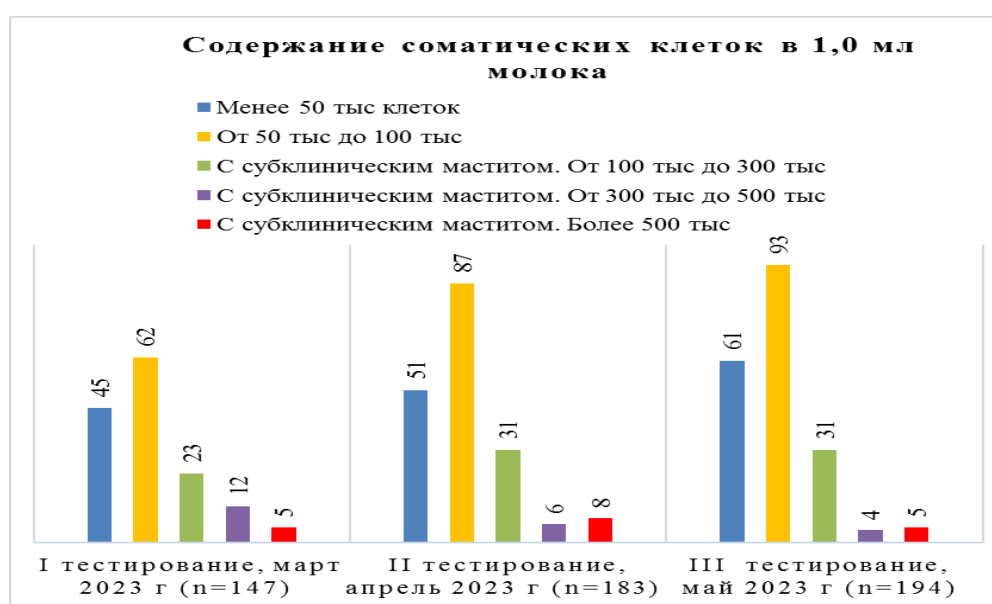


Рисунок 1 – Диаграмма содержания соматических клеток в 1,0 мл молока у коров голштинской породы молочной фермы Алматинской области.

Таблица 2 – Результаты содержания остаточного количества антибиотиков в образцах молока (хлорамфеникол, стрептомицин, тетрациклиновая группа, β-лактамовая группа антибиотиков)

Исследуемая группа	Хлорамфеникол		Стрептомицин		Тетрациклиновая группа		β-лактамовая группа антибиотиков	
1	2		3		4		5	
I группа (n=24) Март 2023 г	CAP	Пол (n=2)	STREP	Пол (n=1)	TETRA	Пол (n=0)	BETA	Пол (n=0)
		Отр (n=22)		Отр (n=23)		Отр (n=24)		Отр (n=24)
		Отр		Отр		Отр		Отр
II группа (n=18) Апрель 2023 г	CAP	Пол (n=0)	STREP	Пол (n=1)	TETRA	Пол (n=0)	BETA	Пол (n=0)
		Отр (n=18)		Отр (n=17)		Отр (n=18)		Отр (n=18)
		Отр		Отр		Отр		Отр
Сборное молоко		Отр		Отр		Отр		Отр

1	2		3		4		5	
III группа (n=20) Май 2023 г	CAP	Пол (n=3)	STREP	Пол (n=2)	TETRA	Пол (n=1)	BETA	Пол (n=0)
		Отр (n=17)		Отр (n=18)		Отр (n=19)		Отр (n=20)
Сборное молоко		Отр		Отр		Отр		Отр

Примечание: CAP - хлорамфеникол, STREP - стрептомицин, TETRA - тетрациклиновая группа, BETA - β-лактамовая группа, Пол – положительный, Отр -отрицательный

За период с марта по май месяцы 2023 года были проверены на содержание остаточного количества антибиотиков: хлорамфеникола, стрептомицина, тетрациклиновой группы, β-лактамовой группы в 62 образцах молока (таблица 2). По результатам первого исследования (n=24) из 24 коров у двух были обнаружены остаточные количества хлорамфеникола, у одной коровы стрептомицина, остаточное количество других двух антибиотиков, тетрациклиновой группы, β-лактамовой группы не обнаружено. Второе контрольное исследование качества молока нами проводилось в апреле 2023 года, всего 18 образцов и у одной коровы было зарегистрировано превышение остаточного количества стрептомицина. Третья контрольная проверка показала, что в исследуемых образцах молока превышает допустимую норму содержания остаточного количества следующих антибиотиков: хлорамфеникола, (3 образца), стрептомицина (2 образца), тетрациклиновой группы (1 образец). Как видно из таблицы 2, в сборном молоке не было обнаружено остаточное количество антибиотиков, результаты всех исследований были отрицательными.

В ветеринарной практике применение антибиотиков и антимикробных препаратов часто осуществляется фронтально, без учета результатов микробиологических исследований и молекулярно-генетических анализов. Поэтому, в нашей работе нами были использованы для детекции условно патогенной микрофлоры метод ПЦР идентификации патогенного агента в клиническом материале. Использованы две пары праймеров для идентификации в образцах клинического материала условно патогенных микроорганизма, стафилаккока были использованы специфические праймеры к консервативному участку гена NUC *Staphylococcus aureus*. Экспериментальным путем установлена оптимальная температура отжига праймеров для детекции *Staphylococcus aureus* и она составила 55°C. В качестве материала были использованы 35 образцов экссудата из пораженных четвертей вымени, больных клинической и субклинической формой мастита, 12 образцов слизи и экссудата из преддверия влагалища, из краниальной части влагалища коров, с диагнозом хронический эндометрит. Результаты амплификации проверяли горизонтальным электрофорезом и на электрофореграмме в случае обнаружения *Staphylococcus aureus*, был выявлен фрагмент ДНК размером 458 п.н. (рис 2).

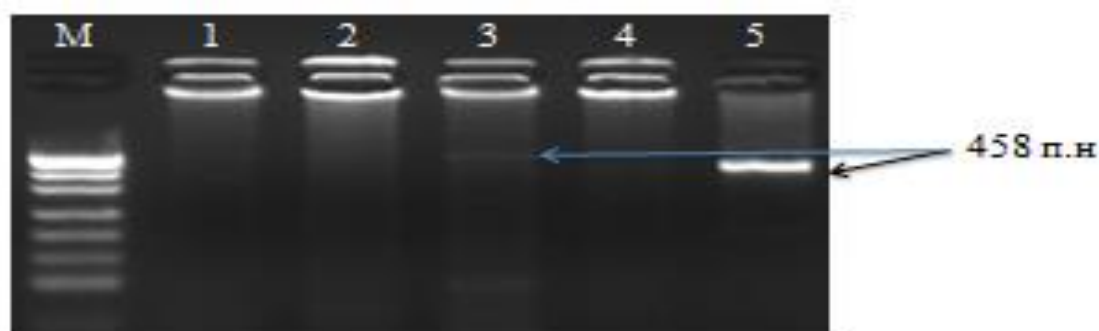


Рисунок 2 – Электрофореграмма амплификата фрагмента гена NUC *Staphylococcus aureus*, 3% агароза, 1,2,4 - лунки отрицательный результат, 3 - лунка положительный результат, амплификат размером 458 п.н., 5 – лунка, положительный контроль, М-ДНК маркер pUC19/MspI

Результаты ПЦР детекции условно патогенной микрофлоры *Escherichia coli* в клиническом материале проверяли в 3% агарозном геле методом горизонтального

электрофореза, обнаружение на электрофореграмме фрагмента ДНК размером 508 п.н. свидетельствует, что в исследуемом материале выявлен патогенный агент *Escherichia coli*. Преимущества использования использования праймеров, подобранных к консервативному участку гена *fimH* *E. Coli*, являет тот факт, что обнаружение фрагмента длиной 508 п.н. указывает на то, что обнаруженный микроорганизм относится к группе *E. Coli* и имеющиеся микрофлора обладает свойством образования биопленки, которая обеспечивает для микроорганизма свойство резистентности к антибиотикам (рис 3).

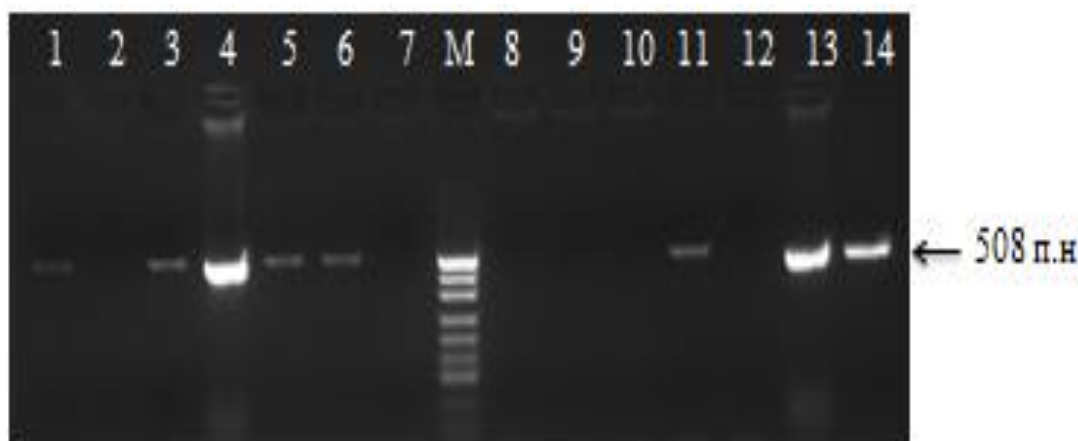


Рисунок 3 – Электрофореграмма амплификата фрагмента гена *fimH* *Escherichia coli*, 3% агароза, 4,13 - лунки положительный контроль с ДНК, выделенной из бактериальной культуры *Escherichia coli*, 1,3,5,6,11,14 - лунки положительный результат, клинические образцы, 2,7,8,9,10,12 – лунки, отрицательный результат, М-ДНК маркер pUC19/MspI

Выводы. Количество соматических клеток в молоке на молочных фермах определяют для диагностики субклинических форм мастита у коров, также для определения пригодности полученного молока для технологической переработки, так как технологические свойства молока тесно связаны с количеством соматических клеток в молоке. Исследуемые коровы по результатам содержания соматических клеток в молоке были распределены на пять групп, из них две группы здоровые животные с количеством соматических клеток в 1,0 мл до 100 тыс клеток и остальные три группы, где содержание соматических клеток превышает более 100 тыс клеток в 1,0 мл молока с субклиническим маститом. У исследуемых коров распространенность субклинического мастита была достаточно высокой и составила 27,2%. Нами на основании использования альтернативного способа, экспресс диагностики субклинического мастита с помощью тестов компании Delaval mastitis test, Kenotest установлено пороговое значение количества соматических клеток в молоке, которое составило более 100 тыс клеток в 1,0 мл исследуемого молока. Сортность полученного молока и его технологические свойства зависят прежде всего от содержания соматических клеток в молоке, от значения содержания остаточного количества антибиотиков в молоке. По результатам анализа содержания антибиотиков в 62 образцах молока, установлено, что в 10 образцах были обнаружены минимально допустимые количества следующих антибиотиков, хлорамфеникола (в 5 образцах), стрептомицина (в 4 образцах), тетрациклиновой группы (в 1 образце), β-лактамовой группы (не обнаружено), остаточное количество антибиотиков не выявлено в образцах сборного молока. Следует отметить, что превышение содержания остаточного количества антибиотиков в молоке приводит к снижению сортности молока, употребление такой молочной продукции, не отвечающим требованиям стандарта вызывает у людей аллергические заболевания, особенно у детей.

В нашей работе в качестве материала для исследования были использованы секреты молочной железы, смывы, экссудаты из преддверия влагалища, изолированная из этих биологических материалов ДНК использовалась для ПЦР детекции *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. Анализ протоколов лечения клинических и субклинических маститов, показывает что в настоящее время во многих хозяйствах антимикробные препараты

применяются фронтально без учета присутствующей микрофлоры у больного животного. Изучение циркуляции определенных видов микроорганизма на конкретной молочной ферме позволяет ветеринарному врачу составить эффективный протокол лечения и соответственно повышается терапевтическая эффективность схем лечения. Способ ПЦР диагностики позволяет достаточно быстро идентифицировать наличие *Staphylococcus aureus*, *E. coli* в клиническом материале. В случае с кишечной палочкой, успешная амплификация также косвенно свидетельствует о наличии в образцах популяции *E. coli*, способных образовывать биопленку, которая ассоциируется с антибиотикорезистентностью патогенного агента к противомикробным препаратам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Malin, D. Differential somatic cell count—A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs. [Text] / D. Malin // Journal of Dairy Science Vol. 100 No. 6, 2017 page 4926–4940
- 2 Lavon, Y. Two approaches to improve fertility of subclinical mastitic dairy cows. Journal of Dairy Science [Text] / Vol. 99 No. 3, 2016. 99:2268–2275 <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9745>
- 3 Pamela L. Ruegg. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. J. Dairy Sci. 100:10381–10397 [Text] / <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>
- 4 Ахметов, А.Н. Сиыр желінсауларының этиологиясы мен оның алдын алу шаралары. Университеттің 55 жылдығына арналған «Сәкен тағылымы -8» атты Республикалық ғылыми – теориялық конференция Материалдары [Текст] / А.Н. Ахметов // Материалы Республиканской конференции «Сейфуллинские чтения – 8 », посвященной 55-летию университета. - 2012. – Т.1 (преподаватели и магистранты). – Б.20-21
- 5 Қуанәлі, Ж. Ғуылшаруашылық саласында желінсаудың таралу көрсеткіші. Сейфуллин окулары – 16: Жаңа формациядағы жастар ғылыми-Қазақстанның болашағы»атты халықаралық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары. [Текст] / Ж. Қуанәлі // Материалы Международной научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 16: Молодежная наука, новой формации - будущее Казахстана. - 2020. - Т.І, Ч.1 - Б.254-255
- 6 Fernandes, L. Effect of subclinical mastitis detected in the first month of lactation on somatic cell count linear scores, milk yield, fertility, and culling of dairy cows in certified organic herds. [Текст] / L. Fernandes // J. Dairy Sci. 104:2140–2150 <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19153>
- 7 Prototheca, D. Methylome-wide analysis of milk somatic cells upon subclinical mastitis in dairy cattle. [Текст] / D. Prototheca // J. Dairy Sci. 107:1805–1820 <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23821>
- 8 Niemia, R.E. Antibiotic dry cow therapy, somatic cell count, and milk production: Retrospective analysis of the associations in dairy herd recording data using multilevel growth models. [Текст] / R.E. Niemia // Preventive Veterinary Medicine 180 (2020) 105028
- 9 Хасанова, М.А. Қостанай ауданы сиырларының сүтінен бөлініп алынған *Streptococcus agalactiae* изоляттарының негізгі биологиялық қасиеттері және антибиотиктерге төзімділігі [Текст] / М.А. Хасанова // 3i-3-2023-30-36.pdf
- 10 Assem, N. Using of immunochromatographic analysis to determine antibiotics in milk. Herald of Science of S.Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University: [Текст] / N. Assem // Veterinary Sciences. – Astana: S. Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University, 2024. – № 2 (006). – P. 36-44. [doi.org/ 10.51452/kazatuvc.2024.2\(006\).1685](https://doi.org/10.51452/kazatuvc.2024.2(006).1685)
- 11 Mahmoudi, R. Raw cow milk quality: Relationship between antibiotic residue and somatic cell count. [Текст] / Mahmoudi, R. // International Food Research Journal 20(6): 3347-3350 (2013)
- 12 Avduevskaya, N. N. Comparative analysis of species composition and quantitative analysis of udder microflora in cows with subclinical and clinical mastitis. [Текст] / N. N. Avduevskaya // VETERINARY SCIENCE TODAY. 2022; 11 (4): 296–302 | ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ. 2022; 11 (4): 296–302 DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-296-302
- 13 Ashley, E. Association of High Somatic Cell Counts Prior to Dry off to the Incidence of Periparturient Diseases in Holstein Dairy Cows. [Текст] / Ashley, E.// Vet. Sci. 2022, 9, 624. <https://doi.org/10.3390/vetsci9110624>

14 Jenna, W. Todd Callaway, Emmanuel Rollin and Valerie Ryman. Association of Milk Somatic Cell Count with Bacteriological Cure of Intramammary Infection [Текст] / Jenna, W. //A Review. Agriculture 2022, 12, 1437. <https://doi.org/10.3390/agriculture12091437>

15 Reta, D. Almeida and Oudessa Kerro Dego. Antimicrobial Resistance of Major Bacterial Pathogens from Dairy Cows with [Текст] / D. Reta // High Somatic Cell Count and Clinical Mastitis. Animals 2021, 11, 131. <https://doi.org/10.3390/ani11010131>

16 Maj Beldring Henningsen, Matt Denwood, Carsten Thure Kirkeby and Søren Saxmose Nielsen. Use of Danish National Somatic Cell Count Data to Assess the Need for Dry-Off Treatment in Holstein Dairy Cattle. [Текст] / Animals 2023, 13, 2523. <https://doi.org/10.3390/ani13152523>

17 S. M. Mostafizur Rahaman Sumon, Mst. Sonia Parvin, Md. Amimul Ehsan, Md. Taohidul Islam. Dynamics of somatic cell count and intramammary infection in lactating dairy cows. [Текст] / J. Adv. Vet. Anim. Res., 7(2): 314–319, June 2020

18 Inge-Marié Petzer. Somatic cell count thresholds in composite and quarter milk samples as indicator of bovine intramammary infection status. [Текст] / Inge-Marié Petzer // Onderstepoort Journal of Veterinary Research 84(1), a1269. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v84i1.1269> Published: 24 Mar. 2017

19 R. M. S. B. K. Ranasinghe. Subclinical mastitis in dairy cows in major milk-producing areas of Sri Lanka: . [Текст] / Prevalence, associated risk factors, and effects on reproduction Journal of Dairy Science Vol. 104 No. 12, 2021. 12900–12911 <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20223>

20 C. Clabby, A. Evaluation of test-day milk somatic cell count to predict intramammary infection in late lactation grazing dairy cows. [Текст] / Journal of Dairy Science Vol. 106 No. 7, 2023 4991–5001 <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22627>

21 Mohammed Naif Alhussien and Ajay Kumar Dang. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. Veterinary World, EISSN: 2231-0916 [Текст] / Available at www.veterinaryworld.org/Vol.11/May-2018/1.pdf

22 Li, N., Richoux. Role of somatic cells on dairy processes and products: [Текст] / A review. Dairy Sci. Technol., 94: 517-538.

23 Alhussien, M. A comparative study on the blood and milk cell counts of healthy, subclinical, and clinical mastitis Karan fries cows. [Текст] / M. Alhussien // Vet. World, 8: 685-689

24 Ismail Abd Elhafez Radwan Raheel, Walid Hamdy Hassan, Shaaban Salem Radwan Salem, Hala Sayed Hassan Salam. [Текст] / Ismail Abd Elhafez Radwan Raheel// Biofilm forming potentiality of *Escherichia coli* isolated from bovine endometritis and their antibiotic resistance profiles. J. Adv. Vet. Anim. Res., 7(3): 442–451, September 2020

25 Зиябек, Д.Б. Детекция *Escherichia coli* в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции. Материалы X юбилейной международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны», . [Текст] / Д.Б. Зиябек // посвященной году науки и технологий Санкт-Петербург, 2021 стр 129-130

26 Ismail Abd Elhafez Radwan Raheel. Biofilm forming potentiality of *Escherichia coli* isolated from bovine endometritis and their antibiotic resistance profiles / Ismail Abd Elhafez Radwan Raheel, Walid Hamdy Hassan, Shaaban Salem Radwan Salem, Hala Sayed Hassan Salam [Текст] / Ismail Abd Elhafez Radwan Raheel. // J. Adv. Vet. Anim. Res., 2020, 7(3): 442–451

27 Усенбеков, Е.С. Способ детекции патогенного агента *Staphylococcus aureus* в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции. [Текст] / Е.С. Усенбеков // Патент 8656 на полезную модель РК

28 Усенбеков, Е.С. Способ детекции патогенного агента *Escherichia coli* в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции. [Текст] / Е.С. Усенбеков // Патент 8657 на полезную модель РК

REFERENCES

1 Malin, D. Differential somatic cell count—A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs. [Text] / D. Malin // Journal of Dairy Science Vol. 100 No. 6, 2017 page 4926–4940

2 Lavon, Y. Two approaches to improve fertility of subclinical mastitic dairy cows. Journal of Dairy Science [Text] / Vol. 99 No. 3, 2016. 99:2268–2275 <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9745>

- 3 Pamela L. Ruegg. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. J. Dairy Sci. 100:10381–10397 [Text] / <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>
- 4 Ahmetov, A.N. Cıyr zhelinsaularynyң etiologiyasy men onyң aldyn alu sharalary. Universitettiң 55 zhyldyғyna arnalған «Sәken tarylymy -8» atty Respublikalyқ ғыlymi – teoriyalық konferenciya Materialdary [Tekst] / A.N. Ahmetov // Materialy Respublikanskoj konferencii «Sejfullinskie chteniya – 8 », posvyashchennoj 55-letiyu universiteta. - 2012. – T.1 (prepodavateli i magistranty). – B.20-21
- 5 Kuanәli, ZH. Fuyлsharuashylyk salasynda zhelinsaudyn taralu kәrsetkishі. Sejfullin оқulary – 16: ZHana formaciyaдagy zhastar gylymi-Kazakstannyn bolashagy»atty halykaralyқ gylymi-teoriyalық konferenciya synyn materialdary. [Tekst] / ZH. Kuanәli // Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-teoreticheskoy konferencii «Sejfullinskie chteniya – 16: Molodezhnaya nauka, novoy formacii - budushchee Kazahstana. - 2020. - T.I, CH.1 - B.254-255
- 6 Fernandes, L. Effect of subclinical mastitis detected in the first month of lactation on somatic cell count linear scores, milk yield, fertility, and culling of dairy cows in certified organic herds. [Tekst] / L. Fernandes // J. Dairy Sci. 104:2140–2150 <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19153>
- 7 Prototheca, D. Methylo-me-wide analysis of milk somatic cells upon subclinical mastitis in dairy cattle. [Tekst] / D. Prototheca // J. Dairy Sci. 107:1805–1820 <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23821>
- 8 Niemia, R.E. Antibiotic dry cow therapy, somatic cell count, and milk production: Retrospective analysis of the associations in dairy herd recording data using multilevel growth models. . [Tekst] / R.E. Niemia // Preventive Veterinary Medicine 180 (2020) 105028
- 9 Hasanova, M.A. Kostanaj audany siylarynyn sytinen bolinip alyngan Streptococcus agalactiae izolyattarynyn negizgi biologiyalyk kasietteri zhane antibiotikterge tozimdiligi [Tekst] / M.A. Hasanova // 3i-3-2023-30-36.pdf
- 10 Assem, N. Using of immunochromatographic analysis to determine antibiotics in milk. Herald of Science of S.Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University: [Tekst] / N. Assem // Veterinary Sciences. – Astana: S. Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University, 2024. – № 2 (006). – P. 36-44. [doi.org/ 10.51452/kazatuvc.2024.2\(006\).1685](https://doi.org/10.51452/kazatuvc.2024.2(006).1685)
- 11 Mahmoudi, R. Raw cow milk quality: Relationship between antibiotic residue and somatic cell count. [Tekst] / Mahmoudi, R. // International Food Research Journal 20(6): 3347-3350 (2013)
- 12 Avduevskaya, N. N. Comparative analysis of species composition and quantitative analysis of udder microflora in cows with subclinical and clinical mastitis. [Tekst] / N. N. Avduevskaya // VETERINARY SCIENCE TODAY. 2022; 11 (4): 296–302 | VETERINARIYA SEGODNYA. 2022; 11 (4): 296–302 DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-296-302
- 13 Ashley, E. Association of High Somatic Cell Counts Prior to Dry off to the Incidence of Periparturient Diseases in Holstein Dairy Cows. [Tekst] / Ashley, E.// Vet. Sci. 2022, 9, 624. <https://doi.org/10.3390/vetsci9110624>
- 14 Jenna, W. Todd Callaway, Emmanuel Rollin and Valerie Ryman. Association of Milk Somatic Cell Count with Bacteriological Cure of Intramammary Infection [Tekst] / Jenna, W. //A Review. Agriculture 2022, 12, 1437. <https://doi.org/10.3390/agriculture12091437>
- 15 Reta, D. Almeida and Oudessa Kerro Dego. Antimicrobial Resistance of Major Bacterial Pathogens from Dairy Cows with [Tekst] / D. Reta // High Somatic Cell Count and Clinical Mastitis. Animals 2021, 11, 131. <https://doi.org/10.3390/ani11010131>
- 16 Maj Beldring Henningsen , Matt Denwood , Carsten Thure Kirkeby and Søren Saxmose Nielsen. Use of Danish National Somatic Cell Count Data to Assess the Need for Dry-Off Treatment in Holstein Dairy Cattle. [Tekst] / Animals 2023, 13, 2523. <https://doi.org/10.3390/ani13152523>
- 17 S. M. Mostafizur Rahaman Sumon, Mst. Sonia Parvin, Md. Amimul Ehsan, Md. Taohidul Islam. Dynamics of somatic cell count and intramammary infection in lactating dairy cows. [Tekst] / J. Adv. Vet. Anim. Res., 7(2): 314–319, June 2020
- 18 Inge-Marié Petzer. Somatic cell count thresholds in composite and quarter milk samples as indicator of bovine intramammary infection status. [Tekst] / Inge-Marié Petzer // Onderstepoort Journal of Veterinary Research 84(1), a1269. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v84i1.1269> Published: 24 Mar. 2017
- 19 R. M. S. B. K. Ranasinghe. Subclinical mastitis in dairy cows in major milk-producing areas of Sri Lanka: . [Tekst] / Prevalence, associated risk factors, and effects on reproduction Journal of Dairy Science Vol. 104 No. 12, 2021. 12900–12911 <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20223>

20 C. Clabby, A. Evaluation of test-day milk somatic cell count to predict intramammary infection in late lactation grazing dairy cows. [Tekst] / Journal of Dairy Science Vol. 106 No. 7, 2023 4991–5001 <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22627>

21 Mohanned Naif Alhussien and Ajay Kumar Dang. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. Veterinary World, EISSN: 2231-0916 [Tekst] / Available at www.veterinaryworld.org/Vol.11/May-2018/1.pdf

22 Li, N., Richoux. Role of somatic cells on dairy processes and products: [Tekst] / A review. Dairy Sci. Technol., 94: 517-538.

23 Alhussien, M. A comparative study on the blood and milk cell counts of healthy, subclinical, and clinical mastitis Karan fries cows. [Tekst] / M. Alhussien // Vet. World, 8: 685-689

24 Ismail Abd Elhafez Radwan Raheel, Walid Hamdy Hassan, Shaaban Salem Radwan Salem, Hala Sayed Hassan Salam. [Tekst] / Ismail Abd Elhafez Radwan Raheel// Biofilm forming potentiality of *Escherichia coli* isolated from bovine endometritis and their antibiotic resistance profiles. J. Adv. Vet. Anim. Res., 7(3): 442–451, September 2020

25 Ziyabek, D.B. Detekciya *Escherichia coli* v klinicheskom materiale metodom polimeraznoj cepnoj reakcii. Materialy X yubilejnoj mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii studentov, aspirantov i molodyh uchenyh «Znaniya molodyh dlya razvitiya veterinarnoj mediciny i APK strany», . [Tekst] / D.B. Ziyabek // posvyashchennoj godu nauki i tekhnologii Sankt-Peterburg, 2021 str 129-130

26 Ismail Abd Elhafez Radwan Raheel. Biofilm forming potentiality of *Escherichia coli* isolated from bovine endometritis and their antibiotic resistance profiles / Ismail Abd Elhafez Radwan Raheel, Walid Hamdy Hassan, Shaaban Salem Radwan Salem, Hala Sayed Hassan Salam [Tekst] / Ismail Abd Elhafez Radwan Raheel. // J. Adv. Vet. Anim. Res., 2020, 7(3): 442–451

27 Usenbekov, E.S. Sposob detekcii patogennogo agenta *Staphylococcus aureus* v klinicheskom materiale metodom polimeraznoj cepnoj reakcii. [Tekst] / E.S. Usenbekov // Patent 8656 na poleznuyu model' RK

28 Usenbekov, E.S. Sposob detekcii patogennogo agenta *Escherichia coli* v klinicheskom materiale metodom polimeraznoj cepnoj reakcii. [Tekst] / E.S. Usenbekov // Patent 8657 na poleznuyu model' RK

ТҮЙІН

Мақалада Алматы облысындағы сүт фермасының голштейн тұқымдас сиырларында субклиникалық желінсауға скрининг жүргізі нәтижелері берілген. Сүттегі соматикалық жасушалардың санын анықтау FOSSOMATICTM FC кондырғысы арқылы жүзеге асырылды. Зерттеулерде 1,0 мл сүттегі соматикалық жасушалардың санының шекті мәнін анықталған, ол 100 мыңнан астам жасушаны құрайды. Сүттегі соматикалық жасушалардың санын анықтау бойынша тәжірибелер үш рет, 2023 жылдың наурыз, сәуір, мамыр айларында жүргізілді, ал сиырлардың зерттелген популяциясында скрининг нәтижелері бойынша субклиникалық желінсаудың таралуы 27,2% құрады. Шаруашылық жағдайында субклиникалық желінсауды балауға балама әдісі ретінде Delaval mastitis test және Kenotest компаниясының тестілерінің қолданылды. Соматикалық жасушалардың саны ең аз, яғни 50 мың жасушадан кем сауын сиырлардың үлесі 27,8%-дан 31,4%-ға дейін аралықта болды. Сонымен қатар жасушалардың ең көп саны 500 мыңнан асатын сиырлардың пайызы төмен болды және 3,4% құрады. Антибиотиктің төрт тобының (хлорамфеникол, стрептомицин, тетрациклин және β-лактам топтары) қалдық мөлшерін анықтау ANKAR 100 құрылғысын пайдалану арқылы жүзеге асырылды. Антибиотиктердің қалдық мөлшерінің болуына барлығы 62 сүт сынамасы тексерілді және 16,1% жағдайда зерттелетін сүт үлгілерінде антибиотиктердің қалдық мөлшерінің артуы фактілері тіркелді: хлорамфеникол (5 сынамада), стрептомицин (4 сынамада), тетрациклин тобы (1 сынамада), β-лактам тобы (анықталмаған). Клиникалық материалда *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* патогенді микроорганизмдерін анықтаудың дәл және жылдам әдісі ретінде ПТР балау әдісін қолдану ұсынылады. *E. Coli* микроорганизмінің FimH генінің консервативті аймағы үшін іріктеліп алынған праймерлерді пайдаланудың артықшылығы - ұзындығы 508 ж.н фрагменттің анықталуы, анықталған микроорганизмнің *E. Coli* тобына жататындығын және оның микроорганизмді антибиотиктерге төзімділік қасиетімен қамтамасыз ететін биоқабықша түзілу қасиетіне ие екенін көрсетеді.