



ЛЕСОТЕХНИЧЕСКИ УНИВЕРСИТЕТ
ФАКУЛТЕТ „ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА“
Катедра „Хирургия, рентгенология, акушерство
и гинекология“



АЛЕКСАНДЪР АЛЕКСАНДРОВ СТОИМЕНОВ

**ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО, ЕТИОЛОГИЯТА
И ЕСТЕСТВЕНИ ЗАЩИТНИ МЕХАНИЗМИ НА МЛЕЧНАТА ЖЛЕЗА
ПРИ ОВЦЕ СЪС СУБКЛИНИЧЕН МАСТИТ**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на образователна
и научна степен „доктор“

Област на висше образование: 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина
Професионално направление: 6.4. Ветеринарна медицина
Научна специалност: „Акушерство и гинекология на животните и болести на
новородени животни“

Научен ръководител: доц. д-р Калин Христов

София, 2023

Дисертационният труд съдържа 175 страници, включително 27 таблици и 14 фигури оформени във въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, обсъждане, изводи, препоръки за ветеринарномедицинската практика, приноси, публикации по дисертационния труд и литература, състояща се от общо 254 заглавия, от които 8 на кирилица и 246 на латиница.

Защитата на дисертационния труд ще се проведе на 15.02.2023 г. от 10.30 ч. в зала „Акад. Мако Даков“ на сграда А на Лесотехническия университет, гр. София, бул. „Климент Охридски“ № 10, на открито заседание на научно жури в състав:

Председател: доц. д-р Роман Пепович Петков

Членове: проф. д-р Теодора Петрова Попова, д.н.
проф. д-р Станимир Ангелов Йотов, д.н.
проф. д-р Наско Йовчев Василев
доц. д-р Антон Лазаринов Антонов

Материалите по защитата (дисертационен труд, автореферат, рецензии и становища на научното жури) са на разположение в Деканата на ФВМ, гр. София, бул. Климент Охридски № 10, стая 104 и са публикувани на сайта на Лесотехническия университет (www.ltu.bg).

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ В ТЕКСТА

CFU – colony forming units (колонии формиращи единици)
CNS – coagulase negative staphylococcus (коагулаза негативни стафилококи)
FPD – freezing point depression (точка на замръзване)
Ly – лимфоцити
MFD – milk fat depression (подтискане на млечните мазнини)
NBT – nitroblue tetrazolium test (нитросин тетразолиев тест)
Ne – неутрофили
ROS – reactive oxygen species (реактивни кислородни видове)
АБ – антибиотик
БМТ – бърз маститен тест
ЕС – Европейски съюз
КлМ – клиничен мастит
ЛЗ – лизозим
ЛФ – лактоферин
МО – микроорганизъм
МПК – минимални потискащи концентрации
Мф – макрофаги
ПТ – повърхностна температура
СК – соматични клетки
СКМ – субклиничен мастит
ФИ – фагоцитен индекс
ФЧ – фагоцитно число

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Възпаленията на млечната жлеза, означени още като мастити, са един от основните проблеми в овцевъдството в национален и световен мащаб. Това заболяване нанася значителни икономически загуби, свързани с понижена млечна продукция, влошено качество на млякото и ниска изкупна цена, преждевременно бракуване на животни и разходи за лекуване на овцете с възпаления на млечната жлеза. Основна причина за възникването на маститите са непознаването и неспазването на основните зоохигиенни закономерности при отглеждането на този животински вид и неправилно използване на съвременните технологии на доене. Усилената експлоатация на млечната жлеза е предпоставка за възникване на нарушения в нейните основни функции (млекообразуване и млекоотделяне), както и промени в нейните защитни механизми.

За разлика от клиничните форми на възпаление на млечната жлеза, субклиничните (скрити) мастити остават недиагностицирани за продължителен период от време. Това води до понижаване на млечната продукция и качествените показатели на произведеното мляко, повишен риск от разпространение на заболяването при здрави животни и понякога до необратими промени в паренхимата на жлезата. Проблемът става все по-актуален с тенденцията за създаване на интензивни овцеферми с непрекъснат цикъл на доене в нашата страна. Всичко горепосочено изисква един по-задълбочен анализ на проблема и търсене на съвременни диагностични методи за ранно откриване на промените в млякото, млечната жлеза и нейните защитни механизми.

Предмет на настоящата дисертация е проучване на разпространението, етиологията и диагностиката на субклиничните мастити при овце от направление за мляко, промените в цитологичния състав и физикохимичните показатели на млякото и някои от защитните механизми на млечната жлеза при животни, с цел оптимизиране на ранната диагностика, терапията и превенцията на заболяването.

II. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

Цел на представения дисертационния труд беше да се проведат задълбочени проучвания върху разпространението на субклиничните мастити при овце от направление за мляко, участието на различните микроорганизми в етиологията на заболяването и тяхната антибиотична чувствителност, промените в цитологичния състав и физикохимичните показатели на млякото, някои от защитните механизми на млечната жлеза, както и възможностите на безконтактната термография за бърза диагностика на това заболяване. За осъществяване на целта бяха поставени следните **задачи**:

1. Провеждане на епизоотологични проучвания за разпространението на субклиничните маститите в овцеферми от различни региони на страната.

2. Определяне на микробиологична характеристика на причинители на субклинични мастити при овцете и тяхната антибиотична чувствителност.

3. Проучване на промените в цитологичния състав и физикохимичните показатели на млякото при лактиращи овце със субклиничен мастит.

4. Проучване на хуморални и клетъчни защитни механизми при овце със субклиничен мастит.

5. Изпитване на възможностите за използване на безконтактна термография като неинвазивен метод за диагностика на субклиничните мастити.

III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. Експериментални животни, технология на отглеждане и доене

Проучванията проведохме в рамките на две години в пет овцеферми в четири области на страната. Всички изследвани животни са от млечно направление. Във фермите се отглеждаха овце от породите „Лакон“, „Асаф“, „Цигай“ и „Синтетична популация българска млечна овца“. Възрастта на животните в отделните ферми варираше в диапазона от 2 до 6 години. Във фермите се провеждаха всички имунопрофилактични и противопаразитни мероприятия, съгласно нормативните ветеринарномедицински изисквания и специфичния здравен статус на животните.

Ферма А: Системата на отглеждане във фермата е полуинтензивна. Във фермата се отглеждат 250 овце от породата „Цигай“. Възрастта на изследваните животни е между 3 и 5 години. В момента на изследването в стадото лактиращите животни са 180. Изследвани са 32 млечни половини (16 овце) в период на лактация между 8-ата и 10-ата седмица.

Ферма Б: Системата на отглеждане във фермата е интензивна, при която животните се отглеждат изцяло оборно, без свободна паша. Броят на овцете във фермата е 2200 от породата „Лакон“ разделени на групи спрямо възраст, пол, период от лактацията. Изследвана е група от 200 животни, като за целта са взети проби от 30 млечни половини (15 броя овце). Включените в изследването животни са определени въз основа на лактиращите в момента животни в период 8-а – 10-а седмица от лактацията.

Ферма В: Системата на отглеждане във фермата е интензивна, при която животните се отглеждат изцяло оборно, без свободна паша. Броят на овцете е 600, от породата „Асаф“, проби бяха получени от 34 млечни половини (17 животни).

Ферма Г: Системата на отглеждане във фермата е полуинтензивна. Във фермата се отглеждат 150 овце от породата „Синтетична българска млечна овца“. Възрастта на изследваните животни е между 3 и 5 години. Изследвани са 30 млечни половини (15 овце) в период на лактация между 8-а и 10-а седмица.

Ферма Д: Системата на отглеждане във фермата е интензивна, при която животните се отглеждат изцяло оборно, без свободна паша. Броят на овцете е 600, от породата „Лакон“, проби бяха получени от 30 млечни половини (15 животни).

Получаването на данни за възраст на животните, дата на последното раждане, общ брой раждания, поредност и период на лактация и здравен статус на овцете се извършваше от водената във фермите документация, както и от официалните регистри на Българска агенция по безопасност на храните (БАБХ). За идентификация използвахме ушните марки на животните.

2. Опитни постановки

2.1. Провеждане на епизоотологични проучвания за разпространението на субклиничните мастити в овцеферми от различни региони на страната

Разпространението на маститите при овцете проучихме в пет овцеферми с общо 3800 овце, като за целите на изследването събрахме и анализирахме 156 млечни проби, получени от споменатите ферми. На място във фермата на всички овце, включени в изследването, проведохме БМТ, като независимо от резултатите се взеха стерилни млечни проби от всички животни, които се подлагаха на микробиологично, цитологично и имунологично изследване. Изчисленията за определяне на общата заболяемост и разпространението на субклиничните мастити при овцете в изследваните ферми, извършихме спрямо общия брой изследвани животни и техните половини. Получените резултати са в абсолютни стойности изчислени спрямо болните животни.

2.2. Определяне микробиологична характеристика на причинителите на субклинични мастити при овцете и тяхната антибиотична чувствителност

За да определим участието на отделните видове микроорганизми в етиологията на маститите при овцете, използвахме резултатите от направените микробиологични изследвания, проведени в лабораторни условия за изолиране на патогенните бактерии от събраните млечни проби. След изолиране и типизиране на микроорганизмите, определихме и антибиотичната им чувствителност спрямо хлорамфеникол, тетрациклин, клиндамицин, пеницилин, оксацилин, ампицилин, амоксицилин, цефуроксим, цефтриаксон, новобеоцин, гентамицин, канамицин, енрофлоксацин, ципрофлоксацин и сулфаметоксазол + триметоприм. Също така определихме минималните потискащи концентрации на пеницилин, ампицилин, еритромицин, клиндамицин, линезолид, хлорамфеникол, тетрациклин, сулфаметоксазол + триметоприм, гентамицин, ванкомицин, тейкопланин и нитрофурантоин по отношение на често изолираните микроорганизми.

2.3. Проучване на промените в цитологичния състав и физикохимичните показатели на млякото при лактиращи овце със субклиничен мастит

За да проучим промените в цитологичния състав и физикохимичните показатели на млякото (масленост, протеин, сухо вещество, сух обезмаслен остатък, точка на замръзване) при млечни жлези със субклиничен мастит в сравнение със здрави половини, изследвахме 156 млечни проби от петте ферми.

2.4. Проучване на хуморални и клетъчни защитни механизми при овце със субклиничен мастит

За провеждане на изследването относно защитните механизми на млечната жлеза, използвахме получените млечни и кръвни проби, за да определим биохимичните промени, хуморалните фактори на неспецифичната защита, клетъчните фактори на общия имунитет, имуноглобулиновата реакция на клетъчния имунитет, имуноморфолофичния анализ на млякото, фагоцитната и микробоцидната активност на млякото, концентрациите на лизозим, лактоферин и имуноглобулини в млякото. За целта бяха обработени 156 млечни и 78 кръвни проби.

2.5. Изпитване на възможностите за използване на безконтактна термография, като неинвазивен метод за диагностика на възпалителните процеси на млечната жлеза

Възможността за използването на безконтактна термография на млечната жлеза като диагностика на субклиничните мастити, проучихме върху 60 млечни половини. От същите животни бяха получени и млечни проби, подложени на микробиологично и физикохимично изследване. Опитът извършихме, като заснехме всяка млечна половина от разстояние 50 cm, след което определихме температурата на всяка от тях и максималната температура на жлезата. За целта термокамерата бе калибрирана спрямо температурата на околната среда преди всяко заснемане. Резултатите бяха сравнени с тези от проведените микробиологични, цитологични и физикохимични изследвания.

3. Получаване на проби

3.1. Получаване на млечни проби

Получаването на пробите мляко извършихме асептично от всички половини, след изследване със СМТ-Test (Kruuse, Denmark). Преди вземането на всяка проба папилите и млечната жлеза бяха почиствани от механични замърсители, последвано от туширане на върха им със 70° спирт. От всяка половина след отстраняване на първите струи мляко вземахме двойни про-

би в стерилни епруветки в количество 10 ml за микробиологично изследване и в контейнери за мляко по 50 ml, за определяне броя на соматичните клетки и физикохимичен анализ.

3.2. Получаване на кръвни проби

Кръвните проби бяха получени след пункция на югуларната вена, предварително туширана със 70° спирт, с помощта на игли 21G 1½ и стерилни вакуумни епруветки (BD Vacutainer®).

4. Използвани методи

4.1. Клинични методи за изследване на общия здравословен статус на овцете и състоянието на млечната жлеза

Първоначално всички животни се изследваха по общоприетия план за изследване на животни с патология на млечната жлеза, включващ: снемане на анамнеза, определяне на отличителните белези, определяне общото здравословно състояние, специално изследване на млечната жлеза чрез методите на инспекция, палпация и пробно издояване на отделните половици за установяване проходимостта на млечните канали, количество и качество на млечния секрет. Здравословното състояние на млечната жлеза диференцирахме въз основа на предложените и утвърдени критерии на Международната федерация по млекарство. Те включват: определяне на общия брой клетъчни елементи в 1 ml мляко, наличие на патогенни микроорганизми в млякото, установяване на клинични признаци на възпалението. За целите на това изследване, млечната половина на жлезата се счита за засегната от субклиничен мастит, когато липсват клинични признаци или променено мляко, но при лабораторното изследване се установи наличие на патогенни микроорганизми и брой соматични клетки $\geq 500\ 000$ клетки/ml. Състоянието на фермите по отношение разпространение на субклинични мастити се извършваше чрез използване на бърз маститен тест – CMT-Test® (KRUUSE-Denmark) и получаване на проби от мляко за лабораторни изследвания.

4.2. Лабораторни методи за изследване на млякото

• Цитологично и физикохимично изследване на млечни проби

Физикохимичният и цитологичният анализ бяха проведени в Националната референтна лаборатория за мляко и млечни продукти към ОДБХ – София град.

• Микробиологично за изследване на млечни проби

За изолиране на микроорганизми са направени посявки от млечните проби върху елективни и селективни хранителни среди – Colorex Chromogenic Orientation agar, Candida agar (HiMeida Laboratories Pvt. Ltd. Mumbai India),

агар на Mueller – Hinton и Columbia blood agar (Бул-Био НЦЗПБ – София).

Микроскопски изследвания на микроорганизмите са извършени под имерсия при увеличение 1000x след оцветяване по класическите методи на Грам, Пфайфер, Клет и Мьолер на изследваните материали, както и на проби от култури върху различни хранителни среди. Таксономичната идентификация на всички клинични изолати бе извършена по конвенционалните методи според 9-ото издание на Определителя на Bergey (Guerrero 2001). Определяне на чувствителността към антимикробни средства на всички клинични изолати проведохме по класическия агар-гел дифузионен метод на Bauer et al. (1966).

• *Хематологични, биохимични и имунологични изследвания*

Хематологичните изследвания извършихме с цяла кръв, като общият брой левкоцити – WBC определихме чрез камерно броене, а биохимичните показатели изследвахме в кръвен серум с готови тестове с помощта на полуавтоматичен биохимичен анализатор Screen Master на фирма Hospitex diagnostics®, Germany.

За определяне бактерицидната активност на кръвен серум използвахме суспензия на *E.coli*. След 24-часова инкубация се преброяват колонииите. Бактерицидната активност определяхме по формулата БАКС (%) = $100 \times (1 - \text{броят на жизнеспособни бактерии/изходното количество бактерии})$.

Концентрациите на серумен лизозим определяхме като към 2% агароза прибавяхме суспензията с тест-микроорганизма (*Micrococcus lysodeicticus*). Резултатите изразявахме в %. Получаване на полиморфонуклеални левкоцити се осъществява чрез изолирането им от цяла кръв с използването на сепарационна среда “Ficoll-Plaque” (Farmacia Co., Sweden).

За определяне на фагоцитната активност на полиморфонуклеарни левкоцити използвахме латексови частици, с големина 1,5 μm .

Метаболитната активност на неутрофилите изследвахме чрез NBT-тест.

Нивата на лактоферин в млякото определихме чрез използване на ELISA кит Sheep Lactoferrin (LF) ELISA Kit, MyBioSource, San Diego, USA).

За оценка на хуморалните фактори на имунитета определяхме количественото съдържание на различните класове имуноглобулини чрез реакция радиална имунодифузия по Mancini (1965).

4.3. Безконтактна термография на млечната жлеза

Термографията извършихме с помощта на инфрачервена камера ThermoCamera-Vision XP (Laserliner, Germany), настроена на коефициент на емитация равен на 0,98. Изображенията бяха заснети от разстояние 50 cm, като бе определена температурата на млечната жлеза в три точки – лявата половина, дясната половина и основата на органа. Използваният софтуер за анализ на изображенията е QuickReporting-Editor.

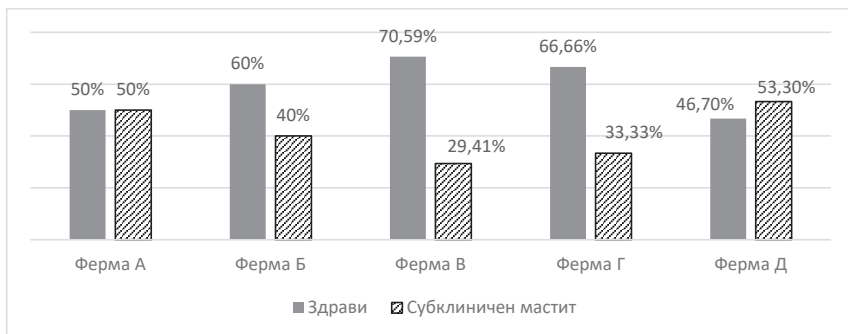
4.4. Статистическа обработка на данните

Статистически анализ на данните извършихме чрез компютърна програма SPSS 19.0. Тя представлява инструмент за манипулации на данните и за статистически анализ в графична среда. Този инструмент е реализиран чрез описателни менюта и прости диалогови менюта, така че да бъдат удовлетворени една голяма част от практическите нужди за статистически анализ на данни, събирани по различни поводи и в различни области. SPSS е еднакво добър инструмент както в икономиката, така и в медицината, социологията и др.

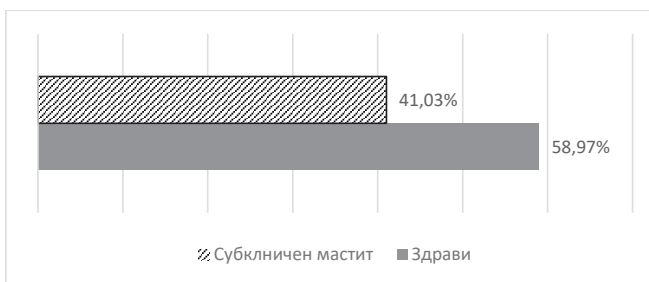
• *Описателна статистика (Descriptives)*. Процедурата за описателната статистика произвежда всеобхватна обобщена статистика за няколко променливи в една единствена таблица и изчислява стандартизирани стойности (z scores). Променливите могат да се подредят според големината на техните средни стойности (в низходящ или възходящ ред), по азбучен ред или според основния ред, в който избирате променливите. Резултатите бяха изразявани чрез: Минимална стойност, Най-малката стойност на числена променлива, Максимална стойност, Най-голямата стойност на числена променлива, $S. E.$ mean – измерва колко средното число може да варира от извадка до извадка, взети от едно и също разпределение. Може да се използва приблизително да се сравни средното число с хипотетична стойност (ако заключите, че двете стойности са различни, ако пропорцията на разликата към стандартната грешка е по-малка от -2 или по-голяма от $+2$). Достоверност (показател на точността) – p .

IV. РЕЗУЛТАТИ

1. Разпространение на маститните заболявания при млечни породи овце



Фиг. 1. Разпространение на субклиничните мастити в изследваните ферми



Фиг. 2. Разпространение на субклиничните мастити при всички изследвани животни

От фигурите става ясно, че разпространението на субклиничните мастити в отделните ферми варира между 29,41 до 53,30%. Обобщените резултати показваха, че 41,03% от общия брой на изследваните животни показват признаците на СКМ. От направеното проучване установихме, че разпространението на унилатералния мастит е 24,35%, а на билатералния – 16,66%.

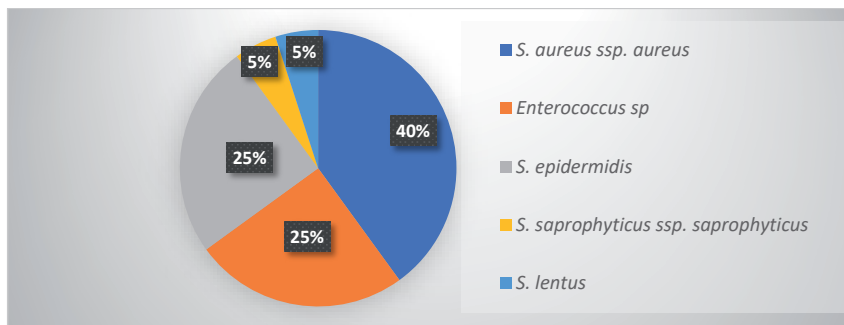
2. Микробиологична характеристика на причинители на субклиничен мастит при овцете и тяхната антибиотична чувствителност

Таблица 1. Изолирани видове и количества микроорганизми от изследваните млечни проби от овце във ферма А

Животно №	Проба №	Изолирани микроорганизми	Количество – CFU/1,75 µl (± SE)
3	5	<i>Enterococcus</i> sp.	0,333 ± 0,47
5	9	<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	1,0 ± 1,41
		<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	1,67 ± 1,25
	10	<i>Enterococcus</i> sp.	0,333 ± 0,47
6	11	<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	7,0 ± 4,24
8	15	<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	3,3 ± 0,94
		<i>S. epidermidis</i>	0,333 ± 0,47
	16	<i>S. epidermidis</i>	3,3 ± 1,25
		<i>Enterococcus</i> sp.	0,333 ± 0,47
9	17	<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	3,3 ± 1,25
		<i>S. epidermidis</i>	1,0 ± 0,82
	18	<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	1,1 ± 0,82
		<i>Enterococcus</i> sp.	0,333 ± 0,47
10	19	<i>S. epidermidis</i>	0,67 ± 0,47
13	25	<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	7,0 ± 7,79

14	27	<i>S. epidermidis</i>	0,333 ± 0,47
	28	<i>S. saprophyticus</i> ssp. <i>saprophyticus</i>	1,67 ± 1,69
		<i>Enterococcus</i> sp.	0,333 ± 0,47
15	29	<i>S. lentus</i>	17,0 ± 4,08
16	32	<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	0,67 ± 0,47

От данните в таблицата се вижда, че от 14 от изследваните млечни проби, получени от 10 животни, са изолирани микроорганизми, като при 9 от пробите (получени от 8 овце) се наблюдава и покачване на ОБСК над 500 000 кл./ml. В повечето случаи (при 8 от пробите) се касае за *S. aureus* ssp. *aureus*. В 5 от изследваните млечни проби са установени единични клетки на *Enterococcus* sp., в 4 от които – в съчетание със стафилококови видове. От 6 от пробите са изолирани по два бактериални вида, най-често стафилококи и ентерококи. От нито една от млечните проби не са изолирани Грам-отрицателни бактерии. На Фиг. 3 са представени видът и процентното съотношение на изолираните патогенни микроорганизми спрямо всички положителни проби.



Фиг. 3. Съотношение на изолираните МО от ферма А

Таблица 2. Чувствителност на изолираните бактерии от ферма А към антимикробни средства *in vitro*

Антимикробно средство	Съдържание на диска	Инхибиторни зони в mm и чувствителност на щамове (± SE)		
		<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>Enterococcus</i> sp.
Chloramphenicol	30 µg	22.2 ± 1.33 (S)	28.5 ± 7.5 (S)	30 ± 0.5 (S)
Tetracycline	30 µg	26.8 ± 2.78 (S)	32.5 ± 9.5 (S)	40 ± 1.5 (S)
Clindamycin	10 µg	21.6 ± 1.85 (S)	30 ± 13 (S)	29 ± 2.5 (S)
Penicillin	10 u	23.4 ± 11.7 (R)	25 ± 17 (R)	40 ± 2.0 (S)
Oxacillin	1 µg	12.2 ± 3.18 (R)	24.5 ± 16.5 (S)	18 ± 2.5 (S)

Ampicillin	30 µg	22.2 ± 12.4 (R)	26 ± 15 (I)	40 ± 3.0 (S)
Amoxicillin	10 µg	22.6 ± 13.7 (S)	14 ± 8 (R)	42 ± 4 (R)
Cefuroxim	30 µg	16.2 ± 8.1 (I)	26 ± 17 (S)	41 ± 3.5 (S)
Ceftriaxone	30 µg	17.2 ± 3.9 (I)	28.5 ± 13.5 (S)	41 ± 3.0 (S)
Novobiocin	30 µg	23.6 ± 2.87 (S)	31.5 ± 13.5 (S)	8 ± 1.5 (S)
Gentamicin	10 µg	14.4 ± 3.8 (S)	24 ± 14 (S)	31 ± 4 (R)
Kanamycin	5 µg	9.4 ± 1.6 (R)	17 ± 7 (S)	19 ± 2.0 (S)
Enrofloxacin	5 µg	31 ± 1.8 (S)	37.5 ± 7.5 (S)	38 ± 3 (S)
Ciprofloxacin	5 µg	28.8 ± 1.3 (S)	35 ± 7 (S)	40 ± 5.0 (S)
Sulfamethoxazole +Trimethoprim	23,75/ 1,25 µg	25.6 ± 7.2 (S)	32 ± 10 (S)	42 ± 7.0 (S)

S (sensitive) – чувствителни; I (intermediate) – средно чувствителни; R (resistant) – устойчиви

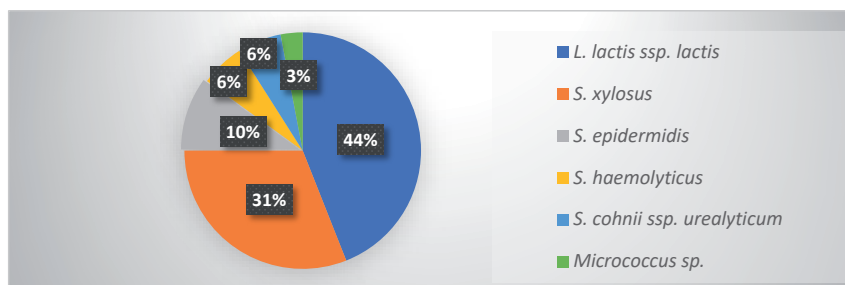
Данните в таблицата показват, че чувствителността на изолираните бактерии от млечните проби към антимикробни средства от различни групи е значителна. Резистентност е установена само към Kanamycin, Oxacillin, Ampicillin, Gentamicin и някои пеницилинови антибиотици.

Таблица 3. Изолирани микроорганизми от изследваните млечни проби от овце от ферма Б

Животно №	Проба №	Изолирани микроорганизми	Количество – CFU/1,75 µl (± SE)
1	1	<i>S. epidermidis</i>	119,33 ± 56,03
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,333 ± 0,47
	2	<i>S. haemolyticus</i>	11,67 ± 1,25
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	2,00 ± 0,82
2	3	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,67 ± 0,94
	4	<i>S. epidermidis</i>	0,67 ± 0,47
3	6	<i>S. xylosum</i>	7,67 ± 10,84
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	1,67 ± 1,25
5	9	<i>S. epidermidis</i>	3,00 ± 3,56
		<i>S. xylosum</i>	3,00 ± 2,05
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	4,00 ± 4,97
	10	<i>Micrococcus</i> sp.	10,00 ± 14,14
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,33 ± 0,47
7	13	<i>S. xylosum</i>	36,33 ± 4,64
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	1,00 ± 1,41
	14	<i>S. haemolyticus</i>	40,00 ± 8,28
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,33 ± 0,43
8	15	<i>S. xylosum</i>	5,00 ± 5,72
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	1,00 ± 0,82

9	18	<i>S. xylosus</i>	1,00 ± 0,82
11	21	<i>S. xylosus</i>	4,67 ± 1,25
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	1,33 ± 0,94
	22	<i>S. cohnii</i> ssp. <i>urealyticum</i>	21,67 ± 2,86
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,333 ± 0,47
12	24	<i>S. xylosus</i>	80,333 ± 10,98
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	2,00 ± 1,41
13	25	<i>S. xylosus</i>	39,00 ± 2,94
		<i>S. xylosus</i>	35,67 ± 27,88
	26	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	4,67 ± 5,18
14	27	<i>S. xylosus</i>	1,33 ± 0,47
15	29	<i>S. cohnii</i> ssp. <i>urealyticum</i>	1,00 ± 0,82
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	1,33 ± 0,47

Във втората ферма от 18 млечни проби (получени от 12 овце) са изолирани микроорганизми, като в 10 от тях (получени от 6 животни) се наблюдава покачване на ОБСК над 500 000 кл./ml. От резултатите става ясно, че в 40% от изследваните млечни проби не са изолирани микроорганизми. В останалите проби най-често се установява *S. xylosus*, в повечето случаи в съчетание с непатогенния стрептокок *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*. Единствено в три от пробите изолираните стафилококи не са в комбинация с полезните лактококи. Само в две от пробите е установен *S. haemolyticus*, в други две – *S. cohnii* ssp. *urealyticum* и в още две – *S. epidermidis*. Само в една от пробите е установена комбинация от два стафилококови вида – *S. epidermidis* и *S. xylosus*, заедно с *L. lactis* ssp. *lactis*. В нито една от млечните проби не са установени Грам-отрицателни бактерии.



Фиг. 4. Процентно съотношение на изолираните МО от ферма Б

Таблица 4. Чувствителност на изолираните бактерии към антимикробни средства *in vitro* ферма Б

Антимикробно средство	Съдържание на диска	Инхибиторни зони в mm и чувствителност на шамовете (\pm SE)			
		<i>S. xylosum</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. cohnii</i> ssp. <i>urealyticum</i>
Cloramphenicol	30 μ g	19 \pm 0,8 (S)	21,4 \pm 1,1 (S)	22,1 \pm 0,6 (S)	20,5 \pm 2,2 (S)
Doxycycline	30 μ g	20,7 \pm 1,4 (S)	18,5 \pm 1,3 (S)	20,3 \pm 2,2 (S)	23,6 \pm 1,8 (S)
Clindamycin	10 μ g	27,3 \pm 2,4 (S)	-	25,5 \pm 1,4 (S)	28,2 \pm 3,2 (S)
Penicillin	10 u	30,1 \pm 1,3 (S)	32,8 \pm 0,7 (S)	28,1 \pm 1,1 (I)	29,9 \pm 1,4 (S)
Оxacillin	1 μ g	17,9 \pm 1,8 (S)	22 \pm 2,7 (S)	19,6 \pm 0,6 (S)	15,1 \pm 1,7 (S)
Ampicillin	10 μ g	29,2 \pm 3,2 (S)	31,1 \pm 0,8 (S)	33,7 \pm 1,8 (S)	30,6 \pm 2,1 (S)
Amoxycillin	10 μ g	24,8 \pm 2,3 (S)	22,7 \pm 0,4 (S)	19,4 \pm 0,9 (I)	21,4 \pm 1,9 (S)
Cefuroxime	30 μ g	25 \pm 1,4 (S)	21,4 \pm 1,7 (S)	22,5 \pm 0,6 (S)	17,4 \pm 1,2 (I)
Ceftriaxone	30 μ g	23,8 \pm 3,1 (S)	22,4 \pm 1,5 (S)	25,3 \pm 2,8 (S)	18,2 \pm 2,3 (I)
Colistin	10 μ g	5,2 \pm 0,4 (R)	5,1 \pm 0,7 (R)	5,5 \pm 0,4 (R)	-
Novobiocin	30 μ g	27,4 \pm 3,7 (S)	24,1 \pm 0,9 (S)	26,3 \pm 2,8 (S)	25,6 \pm 2,1 (S)
Gentamicin	10 μ g	19,4 \pm 1,5 (S)	15,9 \pm 1,7 (S)	12,8 \pm 0,8 (I)	10,5 \pm 1,4 (R)
Kanamycin	5 μ g	6,1 \pm 0,5 (R)	5,2 \pm 0,3 (R)	5,8 \pm 0,5 (R)	5,4 \pm 0,2 (R)
Amikacin	30 μ g	22,4 \pm 2,1 (S)	19,1 \pm 1,7 (S)	11,9 \pm 2,5 (R)	19,9 \pm 2,3 (S)
Ciprofloxacin	5 μ g	29,5 \pm 1,9 (S)	26,1 \pm 1,4 (S)	28,8 \pm 2,1 (S)	30,2 \pm 1,3 (S)
Enrofloxacin	5 μ g	30,1 \pm 2,5 (S)	27,1 \pm 2,8 (S)	29,4 \pm 1,4 (S)	27,9 \pm 1,1 (S)
Sulfamethoxazole + Trimetoprim	23,75/ 1,25 μ g	25,1 \pm 1,5 (S)	23,8 \pm 3,2 (S)	26,5 \pm 2,6 (S)	24,6 \pm 1,8 (S)

S (sensitive) – чувствителни; I (intermediate) – средно чувствителни; R (resistant) – устойчиви

Както се вижда от данните в таблицата, чувствителността на изолираните бактерии към антибиотици от различни групи е значителна. Резистентност е установена само към Colistin, Kanamycin, Amikacin и Gentamicin. *S. haemolyticus* показва средна чувствителност към Amoxycillin и Penicillin. От извършените изследвания става ясно, че *S. cohnii* ssp. *urealyticum* е средно чувствителен към Cefuroxime и Ceftriaxone.

Таблица 5. Минимални потискащи концентрации на антибиотици от различни групи по отношение на *S. xylosum*

Антимикробно средство	МПК (\pm SE)	Чувствителност
Penicillin	0,09 \pm 0,03	S
Ampicillin	0,34 \pm 0,38	S
Erythromycin	0,19 \pm 0,06	S
Clindamycin	0,44 \pm 0,36	S
Linezolid	1,22 \pm 1,61	S
Chloramphenicol	3,06 \pm 2,94	S
Tetracycline	1,06 \pm 0,62	S

Sulfamethoxazole + Trimethoprim	0,03 ± 0,00	S
Gentamicin	1,25 ± 1,59	-
Vancomycin	1,03 ± 0,66	S
Teicoplanin	0,53 ± 0,31	S
Nitrofurantoin	3,75 ± 2,68	S

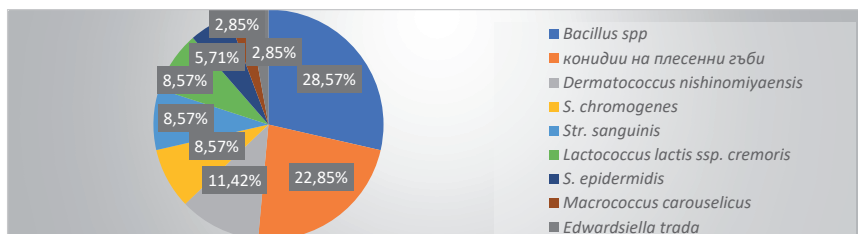
S (sensitive) – чувствителни; I (intermediate) – средно чувствителни; R (resistant) – устойчиви

Таблица 6. Изолирани микроорганизми от изследваните млечни проби от овце от ферма В

Животно №	Проба №	Изолирани микроорганизми	Количество – CFU/1,75 µl (± SE)
2	3	<i>Bacillus</i> spp.	1,22 ± 0,32
		Ед. конидии на плесенни гъби	0,33 ± 0,12
	4	<i>Bacillus</i> spp.	2,22 ± 0,45
3	5	<i>S. epidermidis</i>	6,78 ± 2,04
		<i>Streptococcus sanguinis</i>	2,72 ± 1,64
4	8	<i>Bacillus</i> spp.	12,00 ± 5,07
6	11	<i>Bacillus</i> spp.	15,20 ± 4,10
		Ед. конидии на плесенни гъби	0,56 ± 0,41
7	14	<i>Dermatococcus nishinomiyaensis</i>	21,50 ± 11,10
		<i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>	1,61 ± 0,36
8	15	<i>Dermatococcus nishinomiyaensis</i>	5,94 ± 1,72
	16	<i>Dermatococcus nishinomiyaensis</i>	17,65 ± 4,24
			<i>Streptococcus sanguinis</i>
11	21	<i>Macrococcus carouzelicus</i>	15,65 ± 5,80
		<i>Streptococcus sanguinis</i>	22,25 ± 8,40
12	22	Ед. конидии на плесенни гъби	1,08 ± 0,18
	23	<i>S. chromogenes</i>	2,84 ± 0,93
13	24	<i>S. epidermidis</i>	4,41 ± 0,85
	25	<i>Bacillus</i> spp.	6,45 ± 2,36
14	26	<i>Bacillus</i> spp.	18,75 ± 10,21
	27	<i>Bacillus</i> spp.	4,71 ± 1,08
16	31	<i>S. chromogenes</i>	42,24 ± 19,78
		<i>Edwardsiella tarda</i>	15,65 ± 3,46
	32	<i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>	28,00 ± 13,23
17	33	<i>Dermatococcus nishinomiyaensis</i>	11,89 ± 6,18
	34	<i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>	18,14 ± 3,12
		<i>S. chromogenes</i>	4,20 ± 1,17
		<i>Bacillus</i> spp.	1,71 ± 0,51

18	35	<i>Bacillus</i> spp.	3,45 ± 1,24
		Ед. конидии на плесенни гъби	0,92 ± 0,33
	36	<i>Bacillus</i> spp.	1,58 ± 0,70
		Ед. конидии на плесенни гъби	1,76 ± 0,54

Във ферма В МО бяха изолирани от 21 млечни проби (получени от 13 животни), но само при 7 от тях (получени от 5 овце) се наблюдаваше покъчване на ОБСК над 500 000 кл./ml. При 15 от изследваните млечни проби (42%) не са изолирани никакви микроорганизми. Количествата на изолираните микроорганизми (стафилококи, стрептококи, бацили и гъби) от останалите проби са много малки, като при повечето от тях те са под 104 CFU/ml. От 11 от пробите са изолирани по два микробни вида.



Фиг. 5. Процентно съотношение на изолираните микроорганизми от ферма В

Таблица 7. Чувствителност на изолираните бактерии от ферма В към антимикробни средства *in vitro*

Антимикробно средство	Съдържание на диска	Инхибиторни зони в mm и чувствителност на щамове (± SE)				
		<i>Bacillus</i> spp.	<i>Dermatooccus nishinomiyaensis</i>	<i>S. chromogenes</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>Str. sanguinis</i>
Doxycycline	30 µg	10.3 ± 3.2 (R)	31 ± 3.5 (S)	10.5 ± 2.8 (R)	33.4 ± 4.2 (S)	11.5 ± 1.4 (R)
Penicillin	10 u	13 ± 4.7 (R)	38,4 ± 7,2 (S)	27 ± 3,1 (R)	9 ± 3,7 (R)	38 ± 3,2 (S)
Oxacillin	1 µg	9,6 ± 1,7 (R)	12,6 ± 3,8 (I)	12,4 ± 2,7 (I)	7,4 ± 2,4 (R)	15 ± 1,5 (S)
Ampicillin	30 µg	12 ± 1,7 (I)	36,1 ± 5,2 (S)	30,1 ± 4,6 (S)	7,1 ± 1,4 (R)	35,5 ± 2,5 (S)
Amoxycillin	10 µg	27,4 ± 5,8 (I)	34,9 ± 6,5 (S)	14,7 ± 5,7 (R)	15,1 ± 2,9 (R)	32,4 ± 2,8 (S)
Amoxycillin/Clav	10 µg	28 ± 4,7 (S)	28 ± 3,9 (S)	20 ± 7,3 (I)	13,3 ± 4,4 (R)	32 ± 3,5 (S)
Cefotaxime	30 µg	25,8 ± 4,3 (S)	7,2 ± 1,5 (R)	15,8 ± 3,1 (S)	10,2 ± 2,1 (R)	11,5 ± 2,4 (R)
Ceftriaxone	30 µg	28,3 ± 7,2 (S)	20 ± 1,9 (I)	27,2 ± 2,7 (S)	30,1 ± 3,5 (S)	20,8 ± 2,8 (I)
Novobiocin	30 µg	30,5 ± 2,5 (S)	17,6 ± 2,9 (R)	31,2 ± 3,1 (S)	20,4 ± 1,9 (I)	34,3 ± 1,6 (S)
Gentamicin	10 µg	20 ± 3,1 (S)	20,9 ± 1,7 (S)	20 ± 2,3 (S)	24,4 ± 1,5 (S)	24,3 ± 2,1 (S)
Kanamycin	5 µg	8,7 ± 1,4 (R)	13 ± 2,4 (R)	13,1 ± 1,9 (I)	10,1 ± 0,9 (R)	16 ± 1 (I)
Colistin	10 µg	14,2 ± 0,7 (I)	6 ± 0,5 (R)	8,1 ± 1,3 (R)	14,3 ± 3,2 (I)	8 ± 1,5 (R)
Enrofloxacin	5 µg	27,9 ± 3,1 (S)	38,1 ± 3,9 (S)	28,4 ± 3,7 (S)	32 ± 2,7 (S)	31,4 ± 3,3 (S)
Ciprofloxacin	5 µg	29,2 ± 2,8 (S)	25,8 ± 3,7 (S)	24,9 ± 2,9 (S)	33,1 ± 1,6 (S)	29,4 ± 2,7 (S)
Sulfamethoxazole + Trimethoprim	23,75/1,25 µg	21,3 ± 2,2 (S)	32,4 ± 3,8 (S)	27,4 ± 3,1 (S)	30,5 ± 3,5 (S)	28,5 ± 2,5 (S)

S (sensitive) – чувствителни; I (intermediate) – средно чувствителни; R (resistant) – устойчиви

Както се вижда от данните в таблицата, изолираните бактерии показват значителна чувствителност към някои от пеницилиновите и цефалоспориновите антибиотици, аминогликозид-аминоциклитоли, както и към хинолони и сулфонамиди от различни групи. Резистентност е установена към Doxusuciline, Kanamycin и Colistin, както и към част от пеницилините и цефалоспорините. Резултатите, получени при определяне на МПК на антибиотици от различни групи по отношение на изолираните бактерии, са представени на Таблица 8.

Таблица 8. Минимални потискащи концентрации на антибиотици от различни групи по отношение на *Bacillus* spp.

Антимикробно средство	МПК (\pm SE)	Чувствителност
Penicillin	5,1 \pm 0,03	R
Ampicillin	0,55 \pm 0,18	I
Erythromycin	0,69 \pm 0,44	I
Clindamycin	0,12 \pm 0,00	S
Linezolid	1,17 \pm 0,62	S
Chloramphenicol	12,67 \pm 13,69	I
Tetracycline	21,5 \pm 14,85	R
Sulfamethoxazole + Trimethoprim	0,07 \pm 0,04	S
Gentamicin	0,92 \pm 0,77	S
Vancomycin	0,83 \pm 0,24	S
Teicoplanin	0,37 \pm 0,18	S
Nitrofurantoin	3,75 \pm 2,68	S

S (sensitive) – чувствителни; I (intermediate) – средно чувствителни; R (resistant) – устойчиви

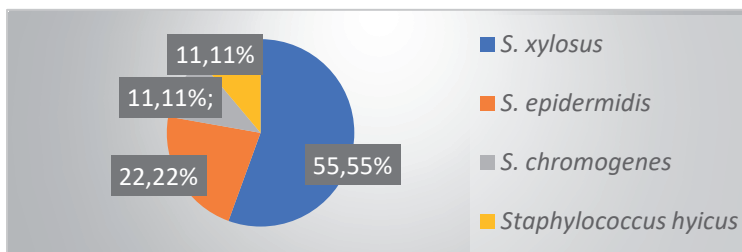
Данните от определянето на МПК съответстват на резултатите, получени посредством дисковия агар-гел дифузионен метод. Изследваните бактерии показват чувствителност към всички изпитани антимикробни средства с изключение на тетрацилина и пеницилина. Тя е най-висока към синергичната комбинация Sulfamethoxazole + Trimethoprim, както и към Clindamycin и Teicoplanin

От пробите, получени от четвъртата ферма стана ясно, че МО се изолират от 9 от тях (получени от 5 животни), като от всички тях се установи и ОБСК над 500 000 кл./ml. От резултатите става ясно, че при 73,34% от пробите получени от млечни половини, не са изолирани микроорганизми. При 16,6% от всички проби се установява *S. xylosum*. Вторият по разпространение МО във фермата е *S. epidermidis*, като той се открива в 6,66% от всички проби. *S. chromogenes* и *Staphylococcus hyicus* се откриват в 3% от всички проби. В нито една от пробите не е изолирана комбинация от два или повече

вида, също така не се откриват Грам-отрицателни бактерии сред изолатите от тази ферма. На Фиг. 6 са представени видът и процентното съотношение на изолираните патогенни микроорганизми от изследваните проби.

Таблица 9. Изолирани микроорганизми от изследваните млечни проби от овце от ферма Г

Животно №	Проба №	Изолирани микроорганизми	Количество – CFU/1,75 µl (± SE)
1	1	<i>S. xylosus</i>	0,67 ± 0,94
	2	<i>S. xylosus</i>	1,00 ± 1,41
2	3	<i>S. epidermidis</i>	1,67 ± 1,25
	4	<i>S. epidermidis</i>	39,00 ± 2,94
6	11	<i>S. xylosus</i>	3,30 ± 0,94
	12	<i>S. hyicus</i>	7,27 ± 1,54
10	19	<i>S. xylosus</i>	8,67 ± 1,47
	20	<i>S. xylosus</i>	3,30 ± 1,25
13	25	<i>S. chromogenes</i>	1,10 ± 0,82



Фиг. 6. Процентно съотношение на изолираните микроорганизми от ферма Г

Таблица 10. Чувствителност на изолираните бактерии от ферма Г към антимикробни средства *in vitro*

Антимикробно средство	Съдържание на диска	Инхибиторни зони в mm и чувствителност на шамовете (± SE)			
		<i>S. xylosus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. chromogenes</i>	<i>Staphylococcus hyicus</i>
Chloramphenicol	30 µg	15.7 + 5.05 (I)	14.2 ± 4.5 (I)	30 (S)	12 (R)
Tetracycline	30 µg	26.8 ± 2.78 (S)	32.5 ± 9.5 (S)	40 (S)	24.2 (S)
Clindamycin	10 µg	21.6 ± 1.85 (S)	30 ± 13 (S)	29 (S)	23.4 (S)
Penicillin	10 u	23.4 ± 11.7 (R)	25 ± 17 (R)	40 (S)	15.3 (R)
Oxacillin	1 µg	12.2 ± 3.18 (I)	24.5 ± 16.5(S)	18 (S)	21.2 (S)
Ampicillin	30 µg	22.2 ± 12.4 (S)	26 ± 15 (S)	40 (S)	18.2 (S)
Amoxycillin	10 µg	22.6 ± 13.7 (S)	14 ± 8 (R)	11 (R)	15.7 (R)

Cefuroxim	30 µg	16.2 ± 8.1 (I)	26 ± 17 (S)	41 (S)	15.4 (I)
Ceftriaxone	30 µg	17.2 ± 3.9 (I)	28.5 ± 13.5 (S)	41 (S)	16.2 (I)
Novobiocin	30 µg	14.6 ± 3.27 (R)	13.5 ± 1.5 (R)	13,2 (R)	10 (R)
Gentamicin	10 µg	25.4 ± 3.8 (S)	27 ± 5,1 (S)	31,4 (S)	24.3 (S)
Kanamycin	5 µg	9.4 ± 1.6 (R)	17 ± 7 (I)	18 (I)	13 (R)
Enrofloxacin	5 µg	32 ± 2.8 (S)	36.5 ± 2.5 (S)	35 (S)	32 (S)
Ciprofloxacin	5 µg	34.5 ± 2.3 (S)	33 ± 2,3 (S)	31.8 (S)	32,2 (S)
Sulfamethoxazole + Trimethoprim	23,75/ 1,25 µg	40.6 ± 5.2 (S)	22 ± 4,3 (S)	20 (S)	17 (S)

S (sensitive) – чувствителни; I (intermediate) – средно чувствителни; R (resistant) – устойчиви

От таблицата става ясно, че изолираните микроорганизми показват чувствителност към Tetracycline, Clindamycin, Ampicillin, Gentamicin, Enrofloxacin и Ciprofloxacin. Всички бактериите от изследваната ферма показват резистентност към Novobiocin. Повечето патогени показват и резистентност към Penicillin и Амоксицилин.

Таблица 11. Минимални потискащи концентрации на антибиотици от различни групи по отношение на *S. xylosus*

Антимикробно средство	МИК (±SE)	Чувствителност
Penicillin	0.16 ± 0.08	R
Ampicillin	0.29 ± 0.19	R
Erythromycin	0.52 ± 0.47	I
Clindamycin	0.37 ± 0.21	I
Linezolid	0.37 ± 0.21	S
Chloramphenicol	5.5 ± 4.33	I
Tetracycline	1.41 ± 1.01	S
Sulfamethoxazole + Trimethoprim	0.11 ± 0.08	S
Gentamicin	0.33 ± 0.14	S
Vancomycin	1.00 ± 0.86	S
Teicoplanin	4.00 ± 3.46	S
Nitrofurantoin	0.16 ± 0.08	S

S (sensitive) – чувствителни; I (intermediate) – средно чувствителни; R (resistant) – устойчиви

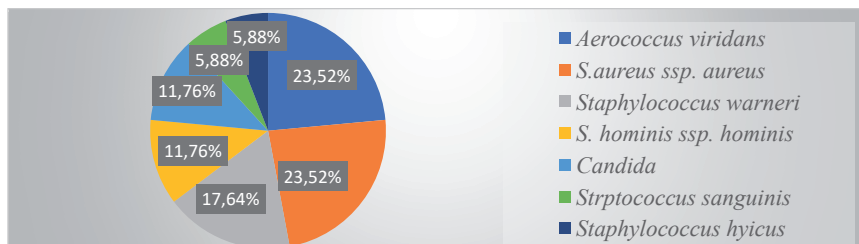
Резултатите, представени на таблицата потвърждават извършените антибиотикограми, като *S. xylosus* показва резистентност към пеницилиновите антибиотици и чувствителност към Tetracycline, Sulfamethoxazole + Trimethoprim и Gentamicin.

От 16 от изследваните млечни проби (получени от 11 животни) бяха изолирани МО, като при 15 от тях (получени от 8 животни) ОБСК бе над 500 000 кл./ml. При 43,33% от получените проби не се изолират микроорганизми.

низми. Най-често изолираните микроорганизми от тази ферма са *Aerococcus viridans* и *S. aureus* ssp. *aureus*, който се откриват в 13,33% от всички проби. Прави впечатление и установяването на *Candida* sp. в 6,65% от пробите. В нито една проба не е установено наличието на два или повече патогенни МО, също така не се откриват и Грам-отрицателни бактерии.

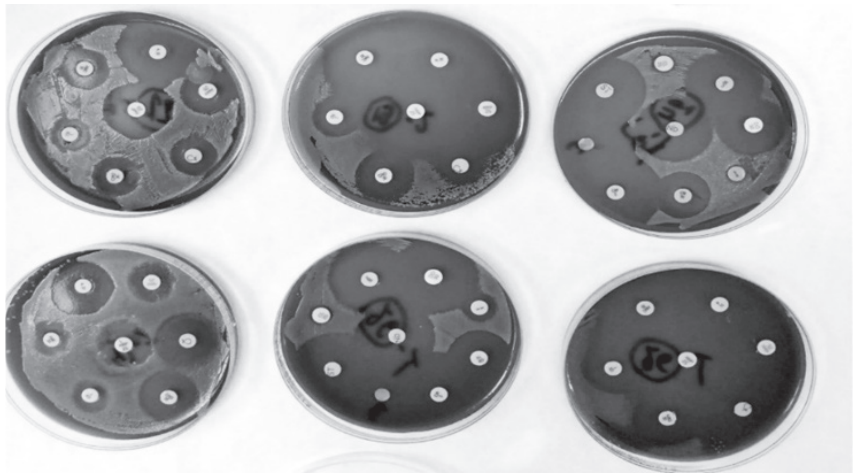
Таблица 12. Изолирани микроорганизми от изследваните млечни проби от овце от ферма Д

Животно №	Проба №	Изолирани микроорганизми	Количество – CFU/1,75 µl (± SE)
1	1	<i>Aerococcus viridans</i>	5,02 ± 0,7
	2	<i>Aerococcus viridans</i>	3,2 ± 1,01
3	6	<i>Streptococcus sanguinis</i>	3,42 ± 1,89
4	7	<i>Aerococcus viridans</i>	2,42 ± 0,24
	8	<i>Staphylococcus hyicus</i>	7,2 ± 1,94
6	11	<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	2,1 ± 3,11
7	13	<i>Aerococcus viridans</i>	7,3 ± 2,15
	14	<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	1,4 ± 0,51
8	16	<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	2,8 ± 0,92
10	19	<i>S. aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	3,1 ± 1,02
12	23	<i>Candida</i> sp.	1,72 ± 0,87
	24	<i>Candida</i> sp.	1,12 ± 1,01
13	25	<i>Staphylococcus warneri</i>	2,32 ± 0,91
	26	<i>Staphylococcus warneri</i>	3,15 ± 1,35
14	27	<i>S. hominis</i> ssp. <i>hominis</i>	5,72 ± 2,68
15	30	<i>S. hominis</i> ssp. <i>hominis</i>	3,42 ± 1,77



Фиг. 7. Процентно съотношение на изолираните МО от ферма Д

Чувствителността на изолираните от ферма Д бактерии към антимикробни средства *in vitro* е представена на Таблица 13, а някои от тях – на Фиг. 8.



Фиг. 8. Част от извършените антибиотикограми

Таблица 13. Чувствителност на изолираните бактерии от ферма Д към антимикробни средства *in vitro*

Антимикробно средство	Съдържание на диска	Инхибиторни зони в mm и чувствителност на шамовете (\pm SE)					
		<i>Aerococcus viridans</i>	<i>S. aureus ssp. aureus</i>	<i>S. warneri</i>	<i>S. hominis ssp. hominis</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
Chloramphenicol	30 μ g	21,3 \pm 2,2 (R)	14 \pm 4,6 (I)	20,1 \pm 3,2 (S)	24,6 \pm 5,2 (S)	14,2 (I)	15 (I)
Tetracycline	30 μ g	-	-	-	-	-	-
Doxycycline	30 μ g	21,5 \pm 0,7 (S)	19,4 \pm 5,1 (S)	15,2 \pm 2,4 (I)	27,4 \pm 3,8 (S)	10,7 (R)	14,5 (I)
Penicillin	10 u	22 \pm 7,2 (I)	8,8 \pm 3,1 (R)	7,7 \pm 0,6 (R)	8,1 \pm 1,7 (R)	24,8 (I)	25,3 (S)
Ampicillin	30 μ g	25 \pm 5,5 (S)	7,1 \pm 2,9 (R)	24,4 \pm 3,7 (S)	23,6 \pm 2,2 (S)	6,5 (R)	23 (S)
Amoxicillin	10 μ g	17 \pm 5,5 (R)	9,1 \pm 3,9 (R)	20 \pm 2,3 (S)	20 \pm 1,8 (S)	18 (R)	10,4 (R)
Cefuroxim	30 μ g	9 \pm 3,3 (R)	7,4 \pm 1,3 (R)	21,8 \pm 4,6 (S)	21,6 \pm 1,3 (S)	10,6 (R)	25,3 (S)
Ceftriaxone	30 μ g	5,5 \pm 1,7 (R)	6,5 \pm 1,5 (R)	22,5 \pm 2,3 (S)	16,4 \pm 3,7 (I)	13,5 (R)	17,4 (I)
Novobiocin	30 μ g	10 \pm 1,2 (R)	8,1 \pm 2,1 (R)	12,2 \pm 0,7 (R)	12,5 \pm 1,4 (R)	22,9 (S)	12,7 (R)
Gentamicin	10 μ g	23,5 \pm 1,5 (S)	20 \pm 4,7 (S)	23,1 \pm 2,6 (S)	18 \pm 1,8 (S)	31 (S)	18 (S)
Colistin	10 μ g	10 \pm 5,6 (I)	6,3 \pm 0,7 (R)	15,1 \pm 0,9 (S)	6,9 \pm 0,8 (R)	14,6 (S)	6,4 (R)
Kanamycin	5 μ g	6,7 \pm 0,8 (R)	6,9 \pm 1,1 (R)	8,8 \pm 1,2 (R)	7,1 \pm 0,9 (R)	15,3 (I)	6,3 (R)
Enrofloxacin	5 μ g	28,4 \pm 1,2 (S)	30,3 \pm 5,8 (S)	30 \pm 5,8 (S)	27,4 \pm 5,2 (S)	26,4 (S)	25,5 (S)
Ciprofloxacin	5 μ g	27,2 \pm 2,2 (S)	28,4 \pm 4,5 (S)	28 \pm 4,1 (S)	25 \pm 3,8 (S)	27,7 (S)	27,8 (S)
Sulfamethoxazole + Trimethoprim	23,75/1,25 μ g	9,8 \pm 5,2 (R)	7,4 \pm 1,7 (R)	9,2 \pm 2,9 (R)	6,9 \pm 0,5 (R)	12,7 (I)	6,4 (R)

S (sensitive) – чувствителни; I (intermediate) – средно чувствителни; R (resistant) – устойчиви

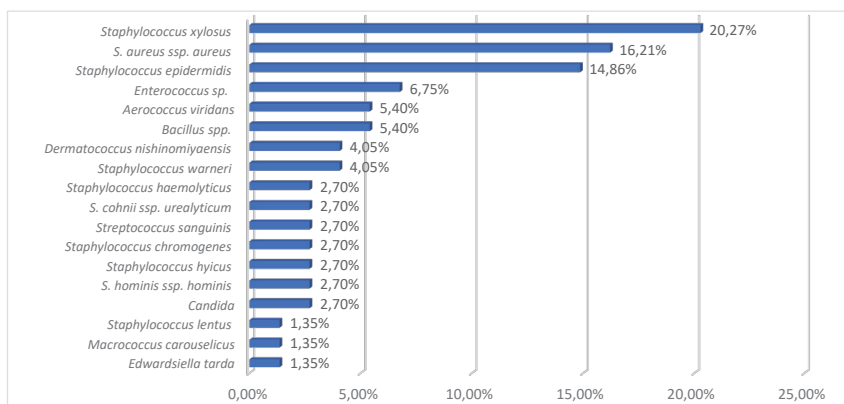
От данните става ясно, че всички изолирани микроорганизми са чувствителни към Gentamicin, Enrofloxacin и Ciprofloxacin. Най-значителна резис-

тентност се наблюдава към Novobiocin, Kanamycin, Amoxicillin и Penicilin. Най-устойчивият микроорганизъм от това изследване е *S. aureus* ssp. *aureus*, като той показва чувствителност към едва 28,57% от използваните антибиотични препарати. Микроорганизмът с най-ниска резистентност е *Staphylococcus warneri*, който показва чувствителност към 64,28% от изпитваните препарати.

Таблица 14. Минимални потискащи концентрации на антибиотици от различни групи по отношение на *S. aureus* ssp. *aureus*

Антимикробно средство	МПК (\pm SE)	Чувствителност
Penicillin	4.31 \pm 3.60	R
Ampicillin	8,53 \pm 7,49	R
Erythromycin	2,44 \pm 3,22	R
Clindamycin	0,68 \pm 0,77	I
Linezolid	1,5 \pm 2,68	S
Chloramphenicol	5,0 \pm 1,73	I
Tetracycline	28,0 \pm 6,92	R
Sulfamethoxazole + Trimethoprim	0,54 \pm 0,46	I
Gentamicin	4,0 \pm 0,65	S
Vancomycin	0,9 \pm 0,17	S
Teicoplanin	14,0 \pm 3,46	S

Относно МПК на различните антибиотици по отношение на *S. aureus* ssp. *aureus* установихме, че щамовете показват най-значителна устойчивост спрямо Ampicillin, Penicillin и Tetracycline. Тези щамове бяха чувствителни към Linezolid, Vancomycin, Gentamicin и Teicoplanin.



Фиг. 9. Процентно съотношение на изолираните микроорганизми с патогенен потенциал

Най-често изолираните микроорганизми от всички ферми са от групата на стафилококите, коагулаза-отрицателни стафилококи (CNS) са изолирани в 54,03% от случаите. От представените резултати става ясно, че *Staphylococcus aureus* заема дял от 16,21% от всички изолирани МО с патогенен потенциал. Рядко изолирани микроорганизми от овце със СКМ при това изследване са *Streptococcus sanguinis* и *Candida* – 2,70%. Грам-отрицателните бактерии са представени от *Edwardsiella trada*, която заема едва 1,35%.

3. Промени в цитологичния състав и физикохимичните показатели на млякото при лактиращи овце със субклиничен мастит

Средните стойности на отделните параметри за здравите и засегнатите половини от изследваните ферми са представени на Табл. 15, 16, 17, 18 и 19.

Таблица 15. Физикохимичен и цитологичен анализ на млечни проби от ферма А

Показател		Субклиничен мастит (n = 9)	Здрави (n = 23)
Масленост, %	min	7,08	7,64
	max	10,01	11,00
	± SE	8,53 ± 0,31	8,60 ± 0,21
Протеин, %	min	5,57	5,16
	max	6,95	6,71
	± SE	6,04 ± 0,13	5,94 ± 0,11
Лактоза, %	min	3,44	4,17
	max	4,51	4,51
	± SE	4,27 ± 0,10	4,36 ± 0,02
Сухо вещество, %	min	18,60	18,65
	max	21,09	21,92
	± SE	19,96 ± 0,29	20,02 ± 0,23
Сух обезмаслен остатък, %	min	11,10	10,78
	max	12,06	12,17
	± SE	11,49 ± 0,09	11,49 ± 0,10
Точка на замръзване, С°	min	-0,556	-0,547
	max	-0,581	-0,583
	± SE	-0,564 ± 0,0021	-0,563 ± 0,0018
Общ брой соматични клетки/ml	min	510000	8000
	max	2800000	368000
	± SE	1209300 ± 225565,07*	61700 ± 17274,12

*p < 0,05

Таблица 16. Физикохимичен и цитологичен анализ на млечни проби от ферма Б

Показател		Субклиничен мастит (n = 10)	Здрави (n = 20)
Масленост, %	min	4,90	4,38
	max	7,42	6,18
	± SE	5,78 ± 0,27	5,11 ± 0,11
Протеин, %	min	5,65	5,17
	max	7,16	6,83
	± SE	6,29 ± 0,18	6,15 ± 0,10
Лактоза, %	min	2,84	3,68
	max	4,25	4,89
	± SE	3,86 ± 0,17	4,27 ± 0,08
Сухо вещество, %	min	16,04	15,03
	max	18,87	17,97
	± SE	17,12 ± 0,32	16,61 ± 0,16
Сух обезмаслен остатък, %	min	10,83	10,54
	max	12,30	12,51
	± SE	11,23 ± 0,15	11,48 ± 0,11
Точка на замръзване, С°	min	-0,534	-0,537
	max	-0,560	-0,575
	± SE	-0,549 ± 0,0029	-0,549 ± 0,0023
Общ брой соматични клетки/ml	min	540000	11000
	max	6266000	617000
	± SE	1926500 ± 554253,72*	125950 ± 38287,86

От физикохимичния анализ на млечните проби от първите две ферми става ясно, че не се наблюдават значителни различия в нивата на маслеността, протеина, сухото вещество, сухия обезмаслен остатък и точката на замръзване на млечните проби, получени от инфектирани и неинфектирани животни. Най-значителни са разликите в броя на соматичните клетки в мляко от засегнати и незасегнати млечни половини.

Таблица 17. Физикохимичен и цитологичен анализ на млечни проби от ферма В

Показател		Субклиничен мастит (n = 7)	Здрави (n = 27)
Масленост, %	min	4,39	2,08
	max	5,99	6,32
	± SE	4,95 ± 0,19*	4,2 ± 0,30
Протеин, %	min	4,76	4,26
	max	6,37	6,92
	± SE	5,73 ± 0,20	5,33 ± 0,1

Лактоза, %	min	4,25	3,42
	max	4,50	4,50
	± SE	4,37 ± 0,04	4,27 ± 0,05
Сухо вещество, %	min	12,69	12,04
	max	17,43	17,76
	± SE	15,76 ± 0,56	15,09 ± 0,38
Сух обезмаслен остатък, %	min	11,58	10,09
	max	12,83	12,34
	± SE	12,36 ± 0,18	11,17 ± 0,12
Точка на замръзване, С°	min	-0,549	-0,539
	max	-0,567	-0,563
	± SE	-0,555 ± 0,0028	-0,552 ± 0,0011
Общ брой соматични клетки/ml	min	1333000	16000
	max	19329000	3286000
	± SE	5190000 ± 2415668,30*	199869 ± 140586,56

* $p < 0,05$

От физикохимично и цитологично изследване на млечните проби от третата ферма прави впечатление, че освен разлика в нивата на соматичните клетки, се наблюдава и разлика в маслеността при мляко получено от инфектирани и неинфектирани половини. Маслеността на млечните проби от засегнати от СКМ животни е средно $4,95 \pm 0,19^*$, докато тази на незасегнати половини е $4,2 \pm 0,30$.

Таблица 18. Физикохимичен и цитологичен анализ на млечни проби от ферма Г

Показател		Субклиничен мастит ($n = 9$)	Здрави ($n = 21$)
Масленост, %	min	3,28	2,77
	max	5,96	6,41
	± SE	4,41 ± 0,30	4,22 ± 0,22
Протеин, %	min	4,33	4,15
	max	5,97	5,33
	± SE	4,95 ± 0,21*	4,73 ± 0,65
Лактоза, %	min	4,55	4,54
	max	5,21	5,07
	± SE	4,86 ± 0,08	4,79 ± 0,04
Сухо вещество, %	min	13,39	12,63
	max	17,12	16,87
	± SE	14,88 ± 0,44	14,39 ± 0,24

Сух обезмаслен остатък, %	min	11,26	10,12
	max	12,41	12,31
	± SE	11,77 ± 0,13	11,1 ± 0,13
Точка на замръзване, С°	min	-0,543	-0,542
	max	-0,571	-0,563
	± SE	-0,558 ± 0,0030	-0,554 ± 0,0010
Общ брой соматични клетки/ml	min	540000	55000
	max	2120000	702000
	± SE	1091555 ± 202958,2*	146428 ± 30772

* $p < 0,05$

От данните в таблицата става ясно, че първите шест представени показателя не показват значителни различия при здрави и засегнати животни. Статистическа достоверност ($p < 0,05$) се наблюдава единствено при процентът на протеина и общия брой соматични клетки, при които отново се наблюдава най-значително различие.

Таблица 19. Физикохимичен и цитологичен анализ на млечни проби от ферма Д

Показател		Субклиничен мастит ($n = 15$)	Здрави ($n = 15$)
Масленост, %	min	4,49	4,25
	max	7,00	6,25
	± SE	5,94 ± 0,20	5,27 ± 0,17
Протеин, %	min	4,27	4,00
	max	5,52	4,97
	± SE	4,68 ± 0,88	4,4 ± 0,07
Лактоза, %	min	3,00	4,66
	max	5,08	5,29
	± SE	4,65 ± 0,12	4,93 ± 0,04
Сухо вещество, %	min	14,49	14,45
	max	17,48	16,88
	± SE	16,08 ± 0,20	15,45 ± 0,21
Сухо обезмаслен остатък, %	min	11,21	10,58
	max	12,52	12,19
	± SE	11,80 ± 0,11	11,43 ± 0,12
Точка на замръзване, С°	min	-0,532	-0,531
	max	-0,555	-0,550
	± SE	-0,544 ± 0,0018	-0,541, ± 0,0019
Общ брой соматични клетки/ml	min	482 000	56 000
	max	21 795 000	373 000
	± SE	6785733 ± 1978610,4*	137533 ± 22089,8

* $p < 0,05$

От резултатите, получени от последната ферма, също прави впечатление незначителните разлики в средните стойности на маслеността, протеина, лактозата, сухото вещество, сухия обезмаслен остатък и точката на замръзване. Основните различия отново са в стойностите на общия брой соматични клетки в милилитър.

4. Проучване върху хематологичните, биохимичните и имунологичните показатели при здрави и засегнати от субклиничен мастит овце

4.1. Хематологичен и биохимичен анализ

При развитие на маститите в организма на овцете протичат промени в хематологичните, биохимичните и някои имунологични показатели. От проведените от нас изследвания стана ясно, че общото количество на левкоцитите в кръвта на засегнати от субклиничен мастит животни е с 18,1% повече, отколкото при здравите животни. Динамични са показателите при овце с една засегната млечна половина (от 3,4 до 20,2%) явно в зависимост от причинителите на заболяването.

Таблица 20. Биохимични показатели на кръвния серум

Показател	Групи животни		
	Здрави (n = 46)	Една засегната половина (n = 19)	Две засегнати половини (n = 13)
Общ белтък, g/l	60,5 ± 3,41	62,7 ± 0,56	64,1 ± 0,65
Албумини, g/l	35,9 ± 0,62	32,1 ± 0,03	29,4 ± 0,82*
γ-глобулини, g/l	24,6 ± 5,5	25,0 ± 0,31**	25,9 ± 2,07**

(*p < 0,05; **p < 0,01)

Резултатите показват промени в белтъчната обмяна при здрави животни и такива, засегнати от субклиничен мастит. Анализът индикира повишаване на серумната концентрация на общия белтък с 5,95% при животни с билатерален субклиничен мастит (p < 0,05) при намаляване на албумините (18,11%) и увеличаване на γ-глобулините с 5,3%. Същата тенденция, но с по-ниски разлики на концентрациите, се наблюдава при животните с една засегната половина.

4.2. Хуморални и клетъчни фактори на естествената резистентност

Таблица 21. Бактерицидна и лизозимна активност на кръвния серум

Показател	Групи животни		
	Здрави (n = 46)	Една засегната половина (n = 19)	Две засегнати половини (n = 13)
Бактерицидна активност на кръвния серум, %	59,4 ± 0,9	56,6 ± 0,7	50,2 ± 0,9*
Лизозим, %	25,9 ± 5,3	26,8 ± 0,5	27,1 ± 8,1**

(*p < 0,05; **p < 0,01)

От таблицата става ясно, че бактерицидната активност статистически достоверно се понижава при овцете от третата група, като разликата със здравите животни е 15,5%. Незначително е повишаването на лизозимната активност при животните от втората (с 3,8%) и третата група (с 4,6%) спрямо първата група.

4.2.1. Клетъчни фактори на неспецифичния имунитет.

Фагоцитната активност на белите кръвни клетки при овце е представена на Табл. 22.

Таблица 22. Фагоцитна активност при овце със и без признаци на СКМ

Показател	Групи животни		
	Здрави (<i>n</i> = 46)	Една засегната половина (<i>n</i> = 19)	Две засегнати половини (<i>n</i> = 13)
ФИ, %	61,1 ± 0,13	52,4 ± 0,47**	51,0 ± 0,3*
ФЧ, ед.	6,23 ± 0,7	4,00 ± 0,10**	3,85 ± 0,39*
NBT, %	6,04 ± 0,03	9,4 ± 1,69*	12,9 ± 0,26*

(**p* < 0,05; ***p* < 0,01)

Анализът на способността на неутрофилите да поглъщат чужди частици показва, че както ФИ, така и ФЧ се понижават статистически достоверно в групите овце със субклиничен мастит, като това понижение при животни с две засегнати половини в сравнение с незасегнатите е с 16,4% (ФИ) и съответно 38,2% (ФЧ). Малко по-ниски са разликите при животните с една засегната половина съответно 14,2% и 35,8%. Процентът на неутрофилите, проявяващи фагоцитна активност в първата група е 61,1% ± 0,13, а в тази с една засегната половина – 52,4% ± 0,47 и е още по-нисък в групата овце с две засегнати половини – 51,0% ± 0,3 (*p* < 0,05). Достоверни са промените в първата спрямо останалите две групи относно фагоцитния индекс.

На този фон кислородзависимата микробоцидност на неутрофилите се повишава с 55,6% във втората група и почти два пъти в третата (*p* < 0,05).

4.2.2. Съдържание на имуноглобулини в кръвния серум

Таблица 23. Количество на имуноглобулини в кръвния серум на овце

Показател	Групи животни		
	Здрави (<i>n</i> = 46)	Една засегната половина (<i>n</i> = 19)	Две засегнати половини (<i>n</i> = 13)
IgG mg/ml	21,30 ± 0,52	20,5 ± 1,3*	16,9 ± 0,9*
IgM mg/ml	2,78 ± 0,15	2,63 ± 0,17	2,39 ± 0,21
IgA mg/ml	0,4 ± 0,03	-	0,37 ± 0,03

(**p* < 0,05; ***p* < 0,01)

Резултатите показват, че основният имуноглобулин в кръвния серум на овцете е IgG, количеството на които достоверно намалява при животни със субклиничен мастит в сравнение със здрави такива. Подобна тенденция се наблюдава и при IgM, а стойностите на IgA са най-ниски.

4.3. Клетъчни и хуморални защитни механизми на млечната жлеза

4.3.1. Имуноморфологичен анализ на мляко от овце

Наред с общите промени в организма на овцете със и без установен субклиничен мастит, при тази патология се променят и някои показатели на млякото, както и на локалния имунитет. На Таблица 24 са представени промени в клетъчния състав на мляко при здрави и засегнати животни.

Таблица 24. Показатели на млякото от здрави и засегнати от СКМ млечни половини

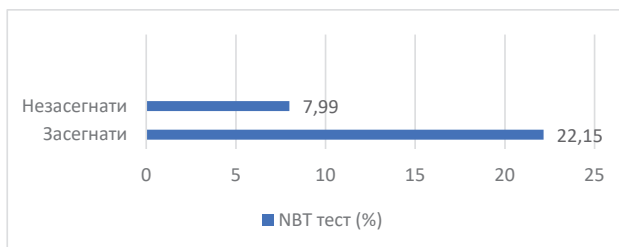
Показател	Млечни половини	
	Здрави (<i>n</i> = 46)	Субклиничен мастит (<i>n</i> = 32)
Ne %	29,3 ± 1,1	68,5 ± 1,2**
Ly %	19,6 ± 0,7	12,8 ± 0,4*
Мф %	51,3 ± 0,03	10,5 ± 0,2*

(Ne – неутрофили; Ly – лимфоцити; Мф – макрофаги; **p* < 0,05; ***p* < 0,01)

Цитоморфологичният анализ на соматичните клетки показва, че в млякото от овце със СКМ основният клетъчен фактор са неутрофилите, които представляват 68,5%, като този показател се повишава статистически достоверно (*p* < 0,05) спрямо незасегнатите половини. Най-малко са макрофагите – 10,5%, като тези клетки са основна клетъчна популация при здравите животни – 51,3%.

4.3.2. Микробицидна активност на млякото

Резултатите от изследването на нивото на ROS-продуциращите неутрофили са представени на Фиг. 10.



Фиг. 10. Процент на ROS-продуциращите неутрофили при овце със субклиничен мастит

От резултатите, представени на графиката става ясно, че при незасегнати млечни половини нивото на ROS-продуциращите Ne е 7,99%, а при тези със субклиничен мастит – 22,15%. В случаите на субклиничен мастит, микробицидната кислородозависима активност на млякото се повишава с 14,16% спрямо тази на мляко, получено от незасегнати половини.

4.3.3. Хуморални фактори на защита в млякото

Таблица 25. Концентрации на лизозим и лактоферин при незасегнати и засегнати от СКМ животни

Показател	Групи животни	
	Здрави (<i>n</i> = 46)	Субклиничен мастит (<i>n</i> = 32)
Лизозим, mg/ml	0,59 ± 0,03	1,76 ± 0,1*
Лактоферин, mg/ml	0,19 ± 0,01	0,83 ± 0,03

(**p* < 0,05)

От резултатите става ясно, че стойностите на лизозима в млякото се повишават достоверно при засегнатите животни в сравнение с незасегнатите. Лактоферинът се увеличава 4,4 пъти при засегнатите животни спрямо незасегнатите.

4.3.4. Съдържание на имуноглобулини в млякото

Таблица 26. Съдържание на имуноглобулините в мляко от овце незасегнати и засегнати от СКМ

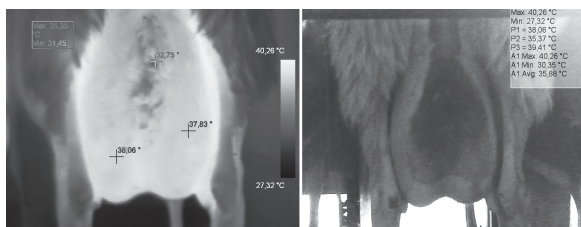
Показател	Млечни половини	
	Здрави (<i>n</i> = 46)	Субклиничен мастит (<i>n</i> = 32)
IgG, mg/ml	20,8 ± 1,67	29,4 ± 1,9
IgM, mg/ml	2,4 ± 0,01	4,3 ± 0,9
IgA, mg/ml	0,4 ± 0,1	0,7 ± 0,01

(**p* < 0,05; ***p* < 0,01)

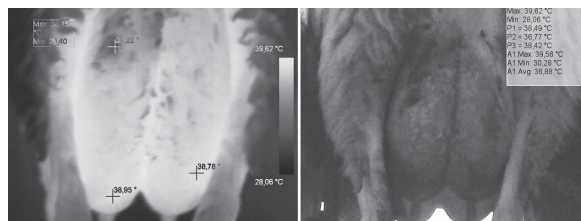
От резултатите става ясно, че както в кръвта, така и в млякото при овцете основният имуноглобулин е IgG, като стойностите при засегнатите животни са по-високи в сравнение с незасегнатите (повишаване с 41,3% при *p* < 0,05). Съдържанието на останалите два имуноглобулина също е статистически достоверно повишено.

5. Термографска диагностика на субклиничните мастити

От Фигура 11 е видно, че температурата в измерените точки е съответно: 38,06°C на лявата половина, 37,83°C на дясната и 32,75°C в основата на жлезата.



Фиг. 11. Термографско изображение на млечна жлеза, незасегната от СКМ



Фиг. 12. Термографско изображение на млечна жлеза, засегната от СКМ

От фигурата става ясно, че температурата в измерените точки е съответно: 38,95°C на лявата половина, 38,78°C на дясната и 31,22°C в основата на жлезата.

На Таблица 27 са представени резултатите от извършените термографии.

Таблица 27. Термографски резултати

		Здрави (n = 17)	Субклиничен мастит (n = 13)
Общо за млечната жлеза, °C	max	38,56	39,25
	min	34,54	36,21
	Mean ± SE	36,62 ± 0,34	37,57 ± 0,21
Лява половина, °C	max	39,02	38,82
	min	35,24	35,55
	Mean ± SE	37,18 ± 0,25	37,19 ± 0,28
Дясна половина, °C	max	38,46	39,42
	min	36,28	36,51
	Mean ± SE	37,34 ± 0,14	37,96 ± 0,25
Соматични клетки	Mean ± SE	257 330 ± 28 451,21	1 950 260 ± 202 958,32

От таблицата става ясно, че вследствие на възпалителния процес, температурата на млечната жлеза се повишава, макар и слабо. Това води до повишаване и на повърхностната температура на органа, уловена с инфрачерв-

ната камера. Средната разлика между ПТ на млечната жлеза при засегнати и незасегнати животни е 0,95°C.

V. ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Разпространение на скритите мастити при лактиращи овце

Субклиничният мастит представлява възпаление на млечната жлеза, при което не се наблюдават характерните признаци на възпалението. Това поражда затрудненията при диагностицирането и определяне на разпространението му в практиката. СКМ обикновено се поражда от лоши хигиенни условия на отглеждане, травми, стресови състояния, промяна в диетата и др. Тези фактори водят до нарушаване на защитните механизми на жлезата.

В световен мащаб, авторите определят разпространението на СКМ в границите от 4,5 до 60%, докато при изследваните от нас животни то варира в границите от 30,3 до 53% в отделните ферми. Анализирайки обобщените резултати от нашите изследвания става ясно, че разпространението на СКМ при всички изследвани животни е 41,03%. В предишни изследвания за страната Колева (1998) установява разпространение на СКМ 36,40%, докато нашите резултати показват по-високо разпространение на маститите в дадени ферми в настоящия момент. Това най-вероятно се дължи на все по-голямата резистентност на патогенните микроорганизми към антибиотичните препарати и неспазване на зоохигиенните условия.

Резултатите, получени от нас, съвпадат с предишни изследвания на Leitner et al. (2007), според когото субклиничните мастити се откриват при 9 до 50% от изследваните животни. Резултати се доближат значително и до тези на Morgona et al. (2010) в Италия. Изследване, проведено в Португалия от Queiroga (2017), показва по-ниски стойности на разпространение на СКМ, както и превес на билатералния мастит спрямо унилатералния – за разлика от установеното от нас.

В съседна на нас Гърция на два пъти е установено разпространение на СКМ под 30% (Fotou et al. 2011, Vasileiou et al. 2017), това най-вероятно се дължи на по-добри практики за превенция и контрол на заболяването. От последни проучвания (Persson et al. 2022) става ясно, че и в Швеция разпространението на СКМ достига до над 50%.

В зависимост от породата, най-ниско разпространение наблюдавахме при „Асаф“ – 29,41%, следвана от „Синтетична популация българска млечна овца“ – 30,3% и най-високо разпространение наблюдавахме при породите „Лакон“, съответно 40 и 53,3% и породата „Цигай“ – 50%. Този резултат съвпада и с твърдението на Vasileiou et al. (2018), че разпространението на СКМ при породата „Асаф“ е сравнително ниско спрямо останалите породи. Резултатите ни се различават от тези на Колева (1998), която установява, че при породата „Цигай“ разпространението на СКМ е 21%, което най-вероят-

но се дължи на разликите в технологията на доене и техниките за почистване на млечната жлеза преди и след доене.

Според начина на доене стигнахме до извода, че доенето на ръка води до увеличаване на случаите на СКМ спрямо машинното. Това наше мнение съвпада отново с това на Vasileiou et al. (2018) и се различава от това на Колева, което се подкрепя и от Queiroga (2017). Само в една от изследваните от нас ферми, които използват машинния тип доене, се наблюдава разпространение на СКМ над 50%. Това би могло да се дължи на неизправност в доилните агрегати, която води до афектиране на тъканите, а от там и до понижаване на защитните механизми на органа.

Характеристика на микробните причинители на субклиничните мастити при овцете и тяхната антибиотична чувствителност

Основният етиологичен фактор за развитието на всички форми на възпаление на млечната жлеза са различните видове микроорганизми. Тяхната способност да инфектират млечната жлеза до голяма степен зависи от предразполагащите фактори за възникване на заболяването, каквито са хигиената при доене, индивидуалната устойчивост на животните, възрастта, периодът на лактацията, изхранването на новородените, начинът на отглеждане, типът на доене и др.

От нашето проучване установихме, че основните и най-широко разпространени причинители на субклиничните мастити при лактиращите овце са от род *Staphylococcus* – 70,24%, и по-точно тези от групата на CNS – 54,03%, следвани от *Staphylococcus aureus* – 16,21%. Тези наши резултати за значението на CNS като причинители на маститите се подкрепят и от други автори (Bergonier et al. 2003, Mork et al. 2005, Contreas et al. 2007, Kern et al. 2013, M. F. Addis et al. 2015, Queiroga 2017, Vasileiou et al. 2019, Abed et al. 2022). Нашите резултати са почти идентични и с тези на Колева (1998), която установява, че стафилококите представляват 72,08% от причинителите на мастити при овцете. Тя заключава, че *S. epidermidis* е основен представител на CNS, отговорен за развитието на заболяването, което е в унисон и с нашите резултати. Прилики между двете изследвания се откриват и при процентното съотношение на *S. aureus* и Грам-отрицателните бактерии. В нашата страна Христов (2014) също установява превес на коагулаза-негативните стафилококи спрямо останалите МО при своето проучване проведено върху кози.

Двата най-често изолирани от нас представителя на CNS бяха *Staphylococcus xylosum* и *Staphylococcus epidermidis*. Редица автори сочат именно тези два МО като често срещани представители на CNS, а вторият и като най-често откриван (Las Heras et al. 1999, Onni et al. 2010, Queiroga 2017, Abed et al. 2022). При нашето изследване установихме, че *Staphylococcus xylosum* представлява 20,27% от всички патогенни МО, при останалите изследвания този процент варира между 5 и 16,3%. Нашето про-

учване показва, че *Staphylococcus epidermidis* представлява 14,86% от изолираните патогени. От резултатите на останалите автори се забелязва вариация между 25 и 50%. Останалите идентифицирани от нас представители на CSN, като *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus haemolyticus* и *S. cohnii* ssp. *urealyticum* се откриват по-рядко – в по 2,70% от всички изолати. Този резултат корелира и с резултатите, получени от Queiroga (2017) и Abed et al. (2022).

От извършения от нас микробиологичен анализ става ясно, че на второ място от микроорганизмите се нарежда *Staphylococcus aureus* – 16,21% от микроорганизмите с патогенен потенциал. Тези данни отново съвпадат с докладваното от Колева – 19,38%, но се наблюдава обратна корелация с установеното от Христов при кози – 3,67%. Този микроорганизъм е асоцииран както с клиничните, така и със субклиничните мастити, като някои от авторите го определят като основен причинител по-скоро на КЛМ. Редица автори установяват участието на *Staphylococcus aureus* в развитието на СКМ, като те съобщават за изолирането му в между 3 и 29% от случаите (Arsenault et al. 2008, K. Fotou et al. 2011, Kern et al. 2013, Queiroga 2017, Vasileiou et al. 2019, Knuth et al. 2022).

В изложените от нас резултати прави впечатление и наличието на *Enterococcus* spp., които са Грам-позитивни факултативни анаероби. Те се изолират от зеленчуци и разнообразни храни от животински произход, включително мляко и сирене (Fisher and Phillips 2009). Тяхното присъствие в млякото или сиренето е резултат от директно замърсяване от дойните животни или индиректно от водоизточниците, технологичното оборудване или резервоарите за съхранение на млякото (Foulquie Moreno et al. 2006). В домашно произведените и традиционни сирена обаче ентокоците са важна част от нестартерната микрофлора (Gelsomino et al. 2002, Giraffa 2003) и техните технологични свойства са основание за използването им като стартерни култури при производството на млечнокисели продукти (Centeno et al. 1999, Gotova and Dimitrov 2015, Yerlikaya and Akbulut 2019). Ние считаме, че бактериите от този род са причинител на субклиничните мастити в млякото, поради наличната реакция от страна на органа, изразена в повишаване на общия брой на соматичните клетки. Това твърдение се потвърждава и от други автори (Arsenault et al. 2008, Kern et al. 2013, Dorea et al. 2015, Addis et al. 2015), като те откриват този МО в сходно съотношение на нашето.

Подобно на нас и други автори стигат до заключението, че *Bacillus* spp. са бактерии, отговорни за развитието на интрамамарни инфекции (Batavani et al. 2003, Arsenault et al. 2008). Тези автори установяват сходно процентно съотношение на този патоген с нашето. Knuth et al. (2021) описват този род микроорганизми като основен причинител, изолиран от млечни проби от инфектирани овце (16%).

В представените от нас резултати прави впечатление присъствието на *Aerococcus viridans*, който заема 5,40% от всички патогенни МО. Той е смятан за етиологичен агент на маститите при овцете и от Queiroga (2017), който го открива при 1,4% от изолатите, получени от животни със СКМ. Saishu et al. (2015) го установяват при говеда с клинична форма на заболяването.

Dermacoccus nishinomiyaensis е Грам-положителен аеробен микроорганизъм от род *Dermacoccus*. Патогенното му влияние е описано в хуманната медицина в случаи на перитонит (свързан с перитонеална диализа) (Tanaka et al. 2019), бактеремия вследствие на катетеризация (Joron et al. 2019) и полимикробна инфекция на кожата и уринарния тракт (Katoulis et al. 2015, Seifu et al. 2018). Във ветеринарната медицина Kurt et al. (2021) го причисляват към причинителите на клиничен мастит при говеда. Ние считаме *Dermacoccus nishinomiyaensis* за причинител на СКМ при овце, поради характерните промени, отчетени при цитологичния анализ на пробите, в които е установено присъствието му.

В етиологията на маститите при овцете освен представените до момента микроорганизми, важно място заемат и редица други, макар и с по-малък дял. Наблюдавахме такива от родовете *Streptococcus* – 2,70%, *Candida* – 2,70% и *Macrococcus* – 1,35%. Участието на тези МО в патогенезата на маститите се посочва и от други автори, изолирали ги при проведените от тях изследвания (Queiroga 2017, Fursova et al. 2021, Mousa et al. 2021).

След извършване на микробиологичното изследване на млечните проби от ферма Б, установихме наличието на *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* в повечето случаи в комбинация със стафилококи. Той е Грам-позитивен микроорганизъм, широко използван в технологиите за производство на масло и сирене (Madigan et al. 2005). Той е известен като първия генетично модифициран организъм, който е използван за лечение на заболявания при хората (Braat et al. 2006). Повечето автори считат *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* за непатогенен, но в няколко случая е описан като опортюнистичен патоген при хора (Aguirre et al. 1993). Todorov et al. (2006) установяват, че този МО продуцира bacteriocin bacHV219 активен срещу *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Lact. casei*, *Listeria innocua*, *Proteus vulgaris* и *Pseudomonas aeruginosa*. Това твърдение е в унисон с нашите резултати, от които се вижда, че лактококът се среща в комбинация с Грам-положителните бактерии и в нито една проба не е установен в съчетание с Грам-негативни такива или представители *Enterococcus* и *Lact. casei*. Ние не считаме *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* за причинител на субклиничните мастити поради факта, че млечните проби, от които е изолиран само той, не показват отклонения от нормата на физикохимичния и цитологичния анализ.

Единственият представител на Грам-отрицателните бактерии, който изолирахме, е *Edwardsiella tarda*, член на семейство *Enterobacteriaceae*. Тя е

малък, подвижен факултативен анаероб. *E. tarda* най-често е изолирана от сладководни или соленоводни басейни, както и от фекални проби на бозайници, риби и влечуги. В хуманната медицина са известни случаи на предизвикани гастроентерити, ендокардити, перитонити и менингити, предизвикани от тази бактерия (Hirai et al. 2015). Относно участието ѝ в патогенезата на СКМ, не можем да бъдем категорични поради факта, че в пробата, от която е изолирана, се открива и представител на стафилококите. Най-вероятно този МО е попаднал върху млечната жлеза чрез персонала и неспазване на хигиенните условия.

Широката и в някои случаи неправилна употреба на антибиотиките за лекуване на различните форми на мастити при овцете води до изграждане на устойчивост на различните видове микроорганизми към антибактериалните препарати. Тази резистентност е основна причина за незадоволителните резултати, получени при лекуването на субклиничните мастити при овцете.

Относно антибиотичната чувствителност на микроорганизмите, във ферма А установихме, че тя е значителна към Chloramphenicol, Tetracycline, Enrofloxacin, Ciprofloxacin и Sulfamethoxazole + Trimethoprim. Резистентност се откри към Kanamycin, Oxacillin, Ampicillin, Gentamicin и някои пеницилинови антибиотици. Тази устойчивост най-вероятно се дължи на широката употреба на тези антибиотици във ветеринарномедицинската практика. Нашите резултати подкрепят и твърдението на Ebrahimi et al. (2007), които откриват сходна резистентност на *S. aureus* ssp. *aureus* към антибиотични препарати. Lollai et al. (2008) също установяват, че ампицилинът е неефективен при 2 – 12% от изолатите на МО от овце със субклиничен мастит.

От изследването на тази ферма стана ясно, че *S. aureus* ssp. *aureus* бе чувствителен към 9 от 15 изпитани препаратата, *S. epidermidis* към 12/15 и *Enterococcus* sp. – 13/15. От тези данни се разбира, че резистентност към най-голям брой антибактериални препарати показва *S. aureus* ssp. *aureus*, което е в противоречие с докладваното от Azzi et al. (2020), които съобщават, че само 5,79% от изолатите са резистентни на два или повече препаратата.

Във ферма Б резултатите от извършените антибиотикограми показваха, че резистентност се установява към Colistin, Kanamycin, Amikacin и Gentamicin, като някои от изолатите показаха средна чувствителност към Amoxicillin, Penicillin, Cefuroxime и Ceftriaxone. Тези резултати донякъде са сходни с тези от ферма А, но прави впечатление средната чувствителност на някои изолати към Cefuroxime и Ceftriaxone. Особено неблагоприятна е намаляващата чувствителност към Ceftriaxone, който е представител на трето поколение цефалоспорини, често използвани в практиката. У нас Христов (2014) съобщава за висока чувствителност на патогените, изолирани от млечни проби от кози към цефалоспорините. Някои автори (Abed et al. 2022) вече предупреждават за наличие на сериозна резистентност от страна

на причинители на мастити към цефалоспорините от второ поколение.

От извършените антибиотикограми на патогените от ферма Б установихме, че *S. xylosus* е чувствителен към 15 от 17 изпитани антибиотика, *S. epidermidis* към 14/16, *S. haemolyticus* към 11/17 и *S. cohnii* ssp. *urealyticum* към 12/16. Сравнявайки нашите резултати с тези на Katsarou et al. (2021), които изследват чувствителността на *S. epidermidis* към различни препарати, забелязахме съвпадение на изложеното, като при техния опит над 50% от изолатите показват резистентност на поне един антибиотик. В тяхното изследване обаче се откриват два щамове, резистентни на множество препарати. От нашето проучване в тази ферма не се откриват подобни щамове. Резултатите от това изследване съвпадат и с тези на Ahmad et al. (2013), които съобщават, че *S. haemolyticus* е представителят на CNS, показващ най-висока резистентност към антибиотични препарати – 68,51%.

Резистентност на микроорганизмите от ферма В се установява спрямо Doxycycline, Kanamycin и Colistin, както и към част от пеницилиновите и цефалоспориновите антибиотици. Единствено от изолатите от тази ферма установихме резистентност към Doxycycline, антибиотик от групата на тетрациклините. Този резултат се подкрепи и от изследването относно МПК. От литературното проучване прави впечатление, че в съвременните публикации редица автори съобщават за значителна резистентност спрямо антибактериални агент от тази група (Azzi et al. 2020, Katsarou et al. 2021). В млечните проби от тази ферма изолирахме и патогени средноустойчиви на Ceftriaxone, представител на цефалоспорините от трета генерация. В повечето публикувани трудове се съобщава за резистентност към представители от второто поколение (Abad et al. 2022, Katsarou et al. 2021, Azzi et al. 2020). Този резултат е неблагоприятен по отношение на бъдещата употреба и ефикасността на антибиотиците от тази група. От резултатите прави впечатление, че *S. epidermidis* показва най-ниска чувствителност към тестваните антибиотици (към 6/15), докато *Str. Sanguinis* показва най-висока такава (към 10/15).

Изолатите от ферма Г показват най-сериозна резистентност спрямо Novobiocin и Kanamycin. Повечето от патогените са резистентни и към Penicillin и Amoxicillin. Средна чувствителност се установява спрямо Chloramphenicol, Cefuroxim и Ceftriaxone, което е в унисон с резултатите от предходните ферми. Частично различие е видно от резултатите на тази ферма и ферма В, като изолатите от това изследване показват висока чувствителност спрямо тетрациклиновите препарати и резистентност към Chloramphenicol. От изследванията, проведени върху устойчивостта на патогените изолирани от тази ферма, стигнахме до извода, че най-сериозна резистентност спрямо антибиотични препарати показват *S. xylosus* и *Staphylococcus hyicus*, следвани от *S. epidermidis* и *S. chromogenes*.

Извършените антибиотикограми на микроорганизмите от петата ферма показаха най-висока резистентност на патогените спрямо антибиотици от различни групи. Като тук прави впечатление резистентността на редица МО към комбинацията Sulfamethoxazole + Trimethoprim, показала висока ефективност при патогените от останалите ферми, както и при проучванията на Христов 2014, Azzi et al. 2020, Abad et al. 2022. От извършените изследвания става ясно, че голям брой микроорганизми са резистентни на 4 и повече антибиотика, като един от най-устойчивите е *Staphylococcus hyicus*. Това най-вероятно се дължи на прекомерната употреба на антибиотични препарати във фермата и неизпълняване на терапевтичните курсове.

От резултатите от всички ферми прави впечатление високата чувствителност на микроорганизмите към Ciprofloxacin, представляващ антибиотик от второ поколение флорхинолони. Това се дължи на широкия спектър на действие на този антибактериален агент срещу множество Грам-положителни и Грам-отрицателни микроорганизми, както и на отличната прониквателна способност в тъканите. Най-висока чувствителност към Ciprofloxacin от страна на причинителите на СКМ установяват Rahman et al. (2016) и Abad et al. (2022).

Данните за чувствителността към енрофлоксацин, към който не установихме никаква резистентност, са в съответствие с изследванията на Христов (2014), проведени върху кози. Тези резултати показват, че този антибактериален препарат би могъл да се използва със значителен успех за терапията на маститите.

Двата препарата, към които най-често установихме резистентност, бяха Colistin и Kanamycin. Colistin е антибиотик ефективен най-вече срещу Грам-отрицателни бактерии, като *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter* (Falagas et al. 2008, Pogue et al. 2017). Kanamycin е представител на групата на аминогликозидите, чийто ефект отново е предимно срещу Грам-негативни бактерии, като *E. coli*, *Proteus*, *Enterobacter aerogens* и *Klebsiella pneumoniae*. Установената резистентност се дължи на факта, че по-голямата част от изпитваните микроорганизми принадлежат към групата на Грам-позитивните бактерии, към които тези два антибактериални препарата имат ограничено действие.

Цитологична находка и промени във физикохимичните показатели на млякото при засегнати и незасегнати от субклиничен мастит овце

Видът и броят на соматичните клетки в млякото при овцете се влияят от множество фактори, водещи до промяна в количеството им без да са налице възпалителни процеси. Такива са стадият на лактацията, еструсът, породата, технологията на доене и други (Sevi et al. 1999, Park et al. 2013). Както вече отбелязахме, в ЕС все още няма единен стандарт за броя на соматичните клетки в овче мляко, който да разграничава здрава от възпалена жлеза. Неза-

висимо от липсата на такъв стандарт, редица автори препоръчват гранична стойност за разграничаване на субклиничните мастити от $500 \times 10^3/\text{ml}$ и задължително микробиологично изследване на млечните проби (Vasiu et al. 2008, Tvarožková et al. 2020).

След проведените от нас изследвания установихме, че броят на соматичните клетки в милилитър мляко от здрави жлези варира между $61\,700 \pm 17\,274,12$ и $199\,869 \pm 140\,586,56$ кл./ml в различните ферми, което е в рамките на избраната от нас норма от $500\,000$ кл./мл. От изложените от нас резултати става ясно, че най-нисък е броят на соматичните клетки от здрави жлези, получени от ферма А ($61\,700 \pm 17\,274,12$ кл./ml), в която животните се доят ръчно. Във фермите, в които се използва машинното доене, броят на соматичните клетки в мляко получено от здрави млечни половини, варира между $125\,950 \pm 38\,287,86$ и $199\,869 \pm 140\,586,56$ кл./ml.

Според породата най-нисък брой соматични клетки, получени от здрави жлези, се откриват при породата „Цигай“ – $61\,700 \pm 17\,274,12$ кл./ml, следвана от породата „Лакон“ – $125\,950 \pm 38\,287,86$ и $137\,533 \pm 22\,089,8$ кл./ml. От пробите, получени от „Синтетична популация българска млечна овца“, става ясно, че средните стойности на соматичните клетки в милилитър мляко са $146\,428 \pm 30\,772$ кл./ml. Най-високи нива на тези клетки се откриват при „Асаф“ – $199\,869 \pm 140\,586,56$ кл./ml. Vršková et al. (2015) провеждат проучване върху качествата на млякото от животни от породата „Цигай“ доени машинно, като достигат до извода, че при здрави млечни жлези броят на соматичните клетки е под $300\,000$ кл./ml. Това твърдение е в унисон с получените от нас резултати.

Относно породата „Лакон“ Tančín et al. (2017) установяват, че в 67% от пробите, получени от здрави животни, общият брой на соматичните клетки (ОБСК) е под $200\,000$ кл./ml. От обобщени данни от няколко ферми, тези автори достигат до извода, че ОБСК при здрави животни е под $600\,000$ кл./ml, това твърдение отново съвпада с нашето. Информацията относно нормата при броя на соматичните клетки в мляко от овце от „Синтетична популация българска млечна овца“ не успяхме да открием при извършената литературна справка.

Leitner et al. (2003) провеждат проучване върху овце от породата „Асаф“ в средата на лактацията. Техните резултати показват, че средните стойности на соматичните клетки в млякото от здрави млечни жлези е под $400\,000$ кл./ml, което е в унисон с полученото от нас.

От проведеното от нас проучване става ясно, че броят на соматичните клетки е значително по-висок при животни, засегнати от субклиничен мастит. В различните ферми те варираха между $1\,091\,555 \pm 202\,958,2$ и $6\,785\,733 \pm 1\,978\,610,4$ кл./ml, като степента на достоверност е $p < 0,05$. Установените от нас средни стойности на клетъчните елементи при СКМ показват

ясно тенденцията за повишаване на броя им при наличие на патогенни микроорганизми в млечната жлеза. Тези резултати потвърждават и твърдението на Vasiu et al. (2008), Христов (2014) и Tvarožková et al. (2020), според които ОБСК се повишава над 500 000 в случаите на субклиничен мастит.

В заключение можем да кажем, че получените от нас данни показват ясно зависимостта на броя на клетъчните елементи към здравословното състояние на млечната жлеза. Освен това, въпреки липсата на единно приета гранична стойност за ОБСК в 1 ml мляко, при всички случаи повишаването им трябва да служи като показател за насочване на вниманието и изясняване на здравния статус на млечната жлеза, при констатиране на такова състояние.

Освен директните методи за определяне на общия брой на соматичните клетки в млякото ние използвахме и индиректния бърз маститен тест. Резултатите оценихме спрямо приетата в нашата страна схема с определен брой плюсове (от 0 до +++). В световната практика е наложено това да става с цифри от 0 до 3, като някои автори включват и междинна стойност между 0 и 1, означена като TRACE (съмнително).

Анализирайки резултатите от изследването на млечните половици с БМТ, ясно се вижда съществуващата връзка между направената при отчитането на теста оценка от 0 до +++ и наличието на микроорганизми и ОБСК в съответната проба. При пробите, оценени като отрицателни, микроорганизми изолирахме при едва 3,26%, докато при 96,74% липсваха такива. От пробите, оценени с 1+ в 44,68%, не бяха установени микроорганизми, докато в 55,32% бяха изолирани такива. Този висок процент на отрицателните микробиологични проби показва, че не винаги положителната реакция на БМТ се дължи на наличие на патогенни МО в млечната половина, водещи до повишаване на клетъчните елементи в млякото. Тази особеност трябва да бъде взета под внимание при работа с подобен тест. При резултат от 2+ микроорганизми изолирахме в 82,35% от случаите. При оценка от +++ , микроорганизми изолирахме очаквано във висок процент – 92,50%.

Освен броя на соматичните клетки, проучихме и промените в други съставки на млякото като масленост, протеин, лактоза, сухо вещество, сухо обезмаслен остатък и точка на замръзване, при незасегнати и засегнати от субклиничен мастит животни от различните породи.

Съдържанието на мазнини в овчето мляко е по-високо, отколкото в кравето или козето мляко, но много по-важното е, че то се различава значително в разпределението на липидните си съставки, в най-голямо количество се откриват наситените мазнини, следвани от мононенаситени и полиненаситени мазнини. Профилът на млечните мазнини се влияе от редица фактори, като генетични (порода, генотип), физиологични (възраст, етап на лактация, сезон) и фактори на околната среда (хранене, паша), както и техните взаимодействия. Според различните автори, нивата на маслеността при овцете ва-

пира между 5 и 12.6% (Barlowska et al. 2011, Alichanidis et al. 2016, Balthazar et al. 2017). От проведените от нас проучвания става ясно, че най-висок процент на мазнините в мляко, получено от здрави животни, се наблюдава при породата „Цигай“ ($8,60 \pm 0,21$), което съвпада с предишни резултати на Pistol et al. (2012) и Vršková et al. (2021), посочващи средна масленост при тази порода между 6,39 и 10,19%.

Маслеността на млякото при породата „Асаф“, според различните автори, варира между 5,11 до 7% според периода на лактацията, сезона и потомството (Milán et al. 2011, Marques et al. 2011). Ние установихме по-ниски средни стойности на този показател при породата „Асаф“ – $4,2 \pm 0,30\%$, като според нас тази разлика идва от начина на отглеждане и хранителния режим на животните във фермата. При „Синтетична популация българска млечна овца“ Станчева (2003) установява средна масленост – 7,324%, нашето проучване показва значително по-ниска средната масленост $4,22\% \pm 0,22$, като дори и максималната отчетена не достига този праг (6,41%). Намаленото количество на мазнините в млякото в тази ферма може да се дължи на синдром, познат като milk fat depression (MFD), който се характеризира с намаляване на съдържанието на млечна мазнина, вероятно причинено от антилипогенните ефекти на междинните продукти за биохидрогениране на търбуха, породени от грешки в храненето. При породата „Лакон“ отново наблюдавахме подобно състояние, като получените резултати ($5,11\% \pm 0,11$ и $5,27\% \pm 0,17$) бяха по-ниски от тези на останалите автори – между 5,62 и 6,55% (Thomas et al. 2004) и 7,28% (Merlin Junior et al. 2015).

Сравнявайки засегнатите и незасегнатите от субклиничен мастит млечни половици, достигнахме до извода, че в повечето случаи средната масленост е по-висока при засегнатите животни. Този резултат се подкрепя и от Leitner et al. (2003) и Kuchtlík et al. (2017). Според тези автори това повишаване на концентрацията на мазнините се дължи на намаляване на количеството на млякото при засегнатите половици. По наше мнение това покачване вероятно е вид неспецифична локална реакция с антибактериално действие. Повишеното ниво на мазнините има бактериостатичен ефект. Повечето МО не се развиват в среда с високо съдържание на липиди, дори и хранителните среди за МО се произвеждат от обезмаслени продукти. Това наше наблюдение открива перспектива за бъдещи проучвания в този аспект.

Млечните протеини се разделят на казеинови комплекси и суроватъчни протеинови фракции. Казеинът е основният протеин (80%), докато дялът на суроватъчните протеини е относително нисък (20%) в млякото на преживните животни. Суроватъчният протеин се състои от β -лактоглобулин, α -лакталбумин, имуноглобулини, гликомакропептиди, серумен албумин и протеини като лактопероксидаза, лизозим и лактоферин. Овчето мляко е най-богатият източник на суроватъчен протеин (1.02 g/100 g) и има най-

висока концентрация на казеин – 4,18 g/100 g (Mohapatra et al. 2019). Според различните автори концентрациите на протеина в мляко от овце варира между 4,51 и 7,30% в зависимост от породата (Bencini et al. 1997, Raynal-Ljutovac et al. 2008).

От нашето проучване става ясно, че най-висок процент на средните концентрации на протеин в мляко от здрави жлези се наблюдава при породата „Лакон“ – $6,15\% \pm 0,10$ от ферма Б и $4,4\% \pm 0,07$ от ферма Д. Fava et al. (2014) установяват средни стойности на този показател на овче мляко, получено от тази порода $5,22\% \pm 0,3$, като те съобщават за сезонни различия в процентното съдържание на протеините в млякото. От техните резултати става ясно, че през месеците февруари и март средното съдържание на протеини е най-високо ($5,79\% \pm 0,36$), през този период от годината бяха получени и нашите пробите от ферма Б. Спад в процентното съдържание на протеини авторите отбелязват през месеците септември и октомври ($5,09\% \pm 0,16$), когато бяха получени и нашите пробите от ферма Д. Тези резултати потвърждават връзката между сезонните колебания и съдържанието на протеините в млякото.

При породата „Цигай“ установихме, че средното съдържание на протеин в мляко, получено от здрави жлези, е $5,94\% \pm 0,11$. Oravcová et al. (2015) установяват средни концентрации на протеините при тази порода между 6,01% и 5,86 % според периода на лактацията. При нашите изследвания използвахме животни в средата на лактацията, като получените от нас резултати влизат в рамката, представена от тези автори.

Получените от нас средни стойности за концентрацията на протеин в мляко, получено от здрави овце от породата „Асаф“ е $5,33\% \pm 0,1$. От две проучвания на Milán et al. (2011, 2014) става ясно, че средните стойности на този показател при породата „Асаф“ е 5,3 и 5,5%, тези резултати са в унисон с получените от нас. При породата „Синтетична популация българска млечна овца“ ние установихме средни стойности на протеина при здрави животни $4,73\% \pm 0,65$, като тази стойност е по-ниска от получената от Станчева (2003) – 5,428% и Райчева и Иванова (2011) – 5,69%. Занижените стойности на този показател според нас са породени от грешки в храненето, които личат и в процентното съдържание на мазнините от млечните проби на животните от тази ферма.

Сравнявайки резултатите относно процента на протеините в млякото между инфектирани и неинфектирани животни ясно се вижда завишаването на концентрациите при засегнатите животни – ферма А – $6,04\% \pm 0,13$ към $5,94\% \pm 0,11$, ферма Б – $6,29\% \pm 0,18$ към $6,15\% \pm 0,10$, ферма В – $5,73\% \pm 0,20$ към $5,33\% \pm 0,1$, ферма Г – $4,95\% \pm 0,21$ към $4,73\% \pm 0,65$ и ферма Д – $4,68\% \pm 0,88$ към $4,4\% \pm 0,07$, като единствено при ферма Г се наблюдава достоверна статистическа разлика $p < 0,05$. Редица автори получават същите резултати (Leitner et al. 2003, Martins et al. 2013, Христов 2014). Повиша-

ването на протеините в млякото, получено от жлези със СКМ, вероятно се дължи на намаляване на неговото количество, както и повишената синтеза на редица протеини, въввлечени в защитата на млечната жлеза (лактоферин, лактопероксидаза, лизозим и имуноглобулините).

Лактозата е основният въглехидрат и осмотичен агент в млякото: около 44% в козето мляко и 49% в овчето мляко (Raynal-Ljutovac et al. 2008). Концентрацията му не варира значително между различните породи – от 4,11 до 4,96% (Psathas 2005, Pirisi et al. 2007). Нашите резултати също не показват значителни различия между средните концентрации на лактозата при здрави животни от различните породи, като те варират между $4,27\% \pm 0,05$ и $4,93\% \pm 0,04$. Тези резултати съвпадат с резултатите на посочените по-горе автори.

По отношение на лактозата повечето автори достигат до извода, че нейните нива се повишават в случаи на субклиничен мастит (Hristov 2014, Caballero et al. 2015, Olives et al. 2020), според които намаляването на лактозата в млякото в резултат на интрамамарна инфекция се дължи на заместването ѝ с други осмотично активни компоненти, главно хлориди или намаляване на нейния синтез поради намаления кръвен поток към жлезата в случаи на СКМ. При нашите изследвания ние установихме нива на лактозата в млякото от млечните половини със субклиничен мастит в рамките на (средно за ферма) – $3,86\% \pm 0,17$ и $4,86\% \pm 0,08$. При ферми А, Б и Д, средните нива на лактозата са по-ниски при проби получени от овце със субклиничен мастит. При пробите от ферми В и Г се наблюдава превес по отношение на този показател в полза на мляко, получено от половини със СКМ. И в двата случая разликата е недостоверна ($p > 0,05$).

Сухото вещество в овчето мляко е съставено от протеини, мазнини, минерали, небелтъчни азотни съединения и витамини (Pulina et al. 2005). Сухото вещество в овчето мляко варира спрямо породата, пероиода от лактацията, начина на хранене и отглеждане и др. От трудовете на Jávora (2000) и Vargas-Bello-Pérez (2013) става ясно, че стойностите на сухото вещество в млякото варират между 15,03 и 20,79%. От нашето изследване се забелязва, че породата с най-високо съдържание на сухо вещество е „Цигај“ – средно 20,02%. Този резултат потвърждава и полученото от Capistrak et al. (2001), като тяхната получена средна стойност е 19,44%.

Установените от нас средни стойности на този показател при породата „Лакон“ от двете ферми са $16,61\% \pm 0,16$ и $15,45\% \pm 0,21$. У нас Panayotov et al. (2018) установяват средна стойност на този показател 18,84% при същата порода. При тези животни вече достигнахме до заключението, че маслеността и протеина са занижени спрямо нормата при „Лакон“, от там се поражда и намаляване на сухото вещество и разликата между двете изследвания. Подобни са и резултатите при породата „Асаф“, където Rodríguez et al. (2008) установяват средни стойности на показателя при тази порода 18%.

Както при породата „Лакон“, ние установихме по-ниски средни стойности – $15,09\% \pm 0,38$.

Резултатите, които получихме относно сухото вещество на мляко, получено от здрави половини от породата „Синтетична популация българска млечна овца“ (средно $16,61\% \pm 0,16$), се доближават до тези, получени и от Стаичева (2003) и Райчева и Иванова (2011) съответно 17,9 и 18,58%.

При сравняване на резултатите, получени от здрави и инфектирани половини, по този показател се забелязват по-високи стойности на сухото вещество при засегнатите половини. Това вероятно се дължи на намаляване на количеството на млякото, повишаването на клетъчните елементи и повишения синтез на протеини при субклиничния мастит. Полученото от нас е в унисон и с резултатите на Hristov (2014) и Makovický (2022).

Точката на замръзване (FPD) при овце варира между $-0,520$ и $-0,875^{\circ}\text{C}$ (Hanuš et al. 2009, Mayer and Fiechter 2012). Тя е пряко свързана със солевия баланс и по-конкретно с осмотичното налягане между кръвта и млякото. Физиологично тя зависи от периода на лактацията, породата, храненето и общото здравословно състояние на животните, и на млечната жлеза в частност. В нашите изследвания установихме средни стойности на FPD при здрави млечни половини в рамките на $-0,541$ и $-0,563^{\circ}\text{C}$, като не наблюдавахме съществени различия по този показател между различните породи. От изложените от нас резултати се забелязва, че в четири от изследваните ферми осреднените резултати относно този показател са по-ниски при пробите, получени от засегнати половини, като разликите между тези стойности са недостоверни ($p > 0,05$). За разлика от нас, при козе мляко Христов (2014) установява, че в случаи на СКМ точката на замръзване е по-висока, но отново разликата е недостоверна.

Защитни механизми на млечната жлеза при засегнати и незасегнати от субклиничен мастит овце

Познаването на имунните механизми на млечната жлеза са основа за профилактика, лечение и контрол на маститите при овцете. И макар специфичната защита да е известна от дълги години, механизмите на жлезата при овцете не е напълно проучена. Познаването им ще повиши устойчивостта на животните чрез имуномодулация и генетичен подбор.

От извършения биохимичен анализ на кръвта на засегнати и незасегнати от субклиничен мастит овце стана ясно, че общият белтък е в най-ниски концентрации при незасегнатите животни (средно $60,5 \pm 3,41$ g/l). Наблюдава се покачването му при животните с една засегната половина (средно $62,7 \pm 0,56$ g/l) и най-високи са концентрациите му при животни с билатерален мастит (средно $64,1 \pm 0,65$ g/l). Установените от нас нива на общия протеин при здрави животни съвпадат с резултатите на Kaneko et al. (2008), според които те варират между 60 и 79 g/l при овцете. Повишаването на общия

белтък в серума на засегнати от субклиничен мастит животни наблюдават и Jaguezeski et al. (2018), като те първоначално извършват изследване на животни със СКМ, при които резултатът е средно 76,6 g/l, а след десетдневно третиране се наблюдава спад до средно 72,2 g/l. Подобно на нас, този колектив съобщава за по-ниски концентрации на албумините при засегнати животни спрямо здравите. И в двете изследвания глобулините са увеличени в случаи на СКМ. Повишаването на общия протеин се дължи на имунната стимулация в случаите на интрамамарна инфекция.

Бактерицидната активност на кръвния серум се дължи на антибактериални вещества като бета-лизин, левкин и др. От нашето изследване стана ясно, че тази активност е по-висока при здравите животни ($59,4 \pm 0,9$ към $50,2 \pm 0,9$). До такъв извод стига и Zhelavskiy (2018) в случаи на субклиничен мастит при крави. Това намаляване при засегнатите животни се дължи на транспорта на активните субстанции до мястото на възпалението. От същото проучване става ясно, че нивата на лизозима в кръвта се покачват при засегнатите животни, което е в унисон с получените от нас резултати и резултатите на Moroni and Cuccuru (2001). Покачването на нивата на серумния лизозим се дължи на активна дегранулация и неутрофилен лизис.

Чрез фагоцитния индекс се изразява процентът на неутрофилите в кръвта, които са фагоцитирали бактерии. От нашите изследвания става ясно, че този процент е най-висок при незасегнатите животни (средно 61,1%), като се наблюдава достоверен спад при животните с унилатерален мастит (средно 52,4%) и тези с билатерален (средно 51%). Чрез фагоцитното число се изразява броят на погълнатите бактерии от 100 фагоцитирали макрофаги. Този показател отново е най-висок при животни незасегнати от скрита интрамамарна инфекция (средно 6,23 ед.), като отново достоверно намалява в случаите на унилатерален (4,00 ед.) и билатерален мастит (средно 3,85). У нас Semerdjiev (2011) установява стойности на фагоцитния индекс при здрави овце между 72,67% и 80,67% в зависимост от пола, породата и сезона.

Относно имуноглобулиновата реакция в кръвния серум установихме, че основният имуноглобулин, който серумът съдържа, е IgG, следван от IgM и IgA. И трите вида имуноглобулини достоверно намаляват при животни с наличие на унилатерален или билатерален мастит. Това се дължи на тяхната миграция към засегнатия орган, до този извод стигат и Barrio et al. (2003).

От имуноморфологичния анализ на млякото стана ясно, че основната клетъчна популация в млякото при незасегнати от СКМ животни са макрофагите (средно 51,3%), този резултат влиза в рамките предложени от Cuccuru et al. (1997), според които процентът на тези клетки в мляко от здрави животни варира между 46 и 84%. Според тях неутрофилите представляват между 2 и 28% от клетките при незасегнати животни, като нашият резултат относно

този показател се доближава до тези параметри (средно 29,3%). От пробите, получени от засегнати животни, става ясно, че основните клетки в млякото са неутрофилите (средно 68,5%), този наш резултат се подкрепя и от Raare et al. (2007). Значителното повишаване на неутрофилите в случаи на мастит се дължи на повишената секреция на цитокини и хемокини от мамарните епителни клетки, които стимулират миграцията им към възпалението.

От извършения от нас анализ стана ясно, че нивата на лизозима в млякото се повишават достоверно при засегнатите животни (средно 0,59 mg/ml към 1,76 mg/ml). До този извод достигат и Moroni and Cuccuru (2001) и Zhelavskiy (2018). Това се дължи на факта, че макрофагите активно мигрират към зоната на патологичния процес (паренхима на млечната жлеза) и извършват фагоцитоза, която е съпътствана от частично освобождаване на цитоплазменния лизозим, както и на неутрофилната дегрануляция. От изследванията ни става ясно, че нивата на лизозим се повишават както в кръвта, така и в млякото при наличие на субклиничен мастит.

Лактроферинът е важна част от неспецифичната защита на млечната жлеза. Резултатите ни показаха, че неговите концентрации в млякото при незасегнати от субклиничен мастит животни са средно 0,19 mg/ml, докато при наличие на скрита интрамамарна инфекция те се покачват до средно 0,83 mg/ml Lemos et al. (2015) получават подобни резултати (0,24 mg/ml към 1,17 mg/ml). И при двете изследвания покачването на лактоферина в случаи на мастит е над четири пъти. Това повишаване на концентрациите се поражда от повишения синтез на този гликопротеин от страна на мамарните епителни клетки и неутрофилите по време на възпалението.

От нашите изследвания се разбира, че както в кръвта, така и в млякото, основният имуноглобулин при здрави животни е IgG, следван от IgM и IgA, но за разлика от концентрациите им в кръвта, тези в млякото се увеличават в случаи на мастит. Ние установихме, че нивата на IgG при незасегнати животни са средно 20,8 mg/ml, което е в унисон с твърдението на Kessler et al. (2019), докато при засегнатите животни те достигат средно до 29,4 mg/ml. Подобен е и резултатът относно IgM, чиито средни нива при здравите животни бяха 2,4 mg/ml, докато при СКМ те достигаха 4,3 mg/ml. Установихме и средна концентрация на IgA при здрави животни – 0,4 mg/ml и при засегнати – 0,7 mg/ml. Подобно на нас и Lemos et al. (2015) достигат до извода, че IgA се повишава значително в случаите на скрита интрамамарна инфекция, като от техните резултати се вижда, че това увеличение е над два пъти. Повишаването на имуноглобулините в млякото по време на инфекцията се дължи на повишената им продукция от страна на В лимфоцитите в органа и усилението им приток чрез кръвообращението, което обяснява и намалените им нива в серума.

Термографска диагностика на субклиничните мастити при овцете

Отчитането на повърхностната температура на кожата предоставя важни диагностични данни за патологичните състояния на подлежащите органи. Такава информация може да се окаже значима за своевременното поставяне на точната диагноза на различните заболявания на млечната жлеза. Според Martins et al. (2013) средната ПТ на здравата млечна жлеза при овце е $36,06^{\circ}\text{C}$, а според Castro-Costa et al. (2014) – $32,94 \pm 0,04^{\circ}\text{C}$. За целта Martins et al. (2013) разделят животните на три групи: първа група (животни със здрава млечна жлеза) съставена от животни без клинични признаци на мастит, отрицателен БМТ и соматични клетки под 250 000 кл./ml; втора група (животни със субклиничен мастит) съставена от животни с увеличени супраамарни лимфни възли, положителен БМТ и общ брой на соматичните клетки между 250 000 и 500 000 кл./ml; трета група (животни с клиничен мастит) съставена от животни, проявяващи клинични признаци на мастит, положителен БМТ и общ брой соматични клетки над 500,000 кл./ml.

При здрава млечна жлеза те отчитат максимална повърхностна температура (ПТ) $38,56^{\circ}\text{C}$, минимална – $33,56^{\circ}\text{C}$ и средна – $36,06^{\circ}\text{C}$. При засегнат от субклиничен мастит орган максималната получена ПТ е $39,02^{\circ}\text{C}$, минималната – $33,79^{\circ}\text{C}$ и средна – $36,30^{\circ}\text{C}$. При клиничен мастит отчетените стойности са: максимална температура – $38,40^{\circ}\text{C}$, минимална – $33,35^{\circ}\text{C}$ и средна – $35,89^{\circ}\text{C}$.

От резултатите става ясно, че температурата на млечната жлеза е най-висока при субклиничен мастит спрямо здрава и такава с клиничен мастит. Според автора това се дължи на факта, че при интензивен хроничен процес, какъвто се е наблюдавал при животните с клиничен мастит, температурата на жлезата спада спрямо тази при остър процес, какъвто се наблюдава при субклиничните мастити. Възпалението на жлезата води до дилатация на кръвоносните съдове, които повишават кръвотока към органа, а от там и до повишаване на повърхностната му температура. При хронично възпаление отокът намалява повърхностната температура. Друга причина за понижаване на температурата може да е загубата на нормалната функция на засегнатия орган, което води до промени в нормалния метаболизъм и кръвообмен на участъка. Novinen et al. (2008) съобщават, че промените в повърхностната температура могат да бъдат породени от вазоконстрикция на периферните кръвоносни съдове, което да доведе до понижаването ѝ.

От представените от нас резултати става ясно, че средната ПТ на здрава млечна жлеза е $36,62^{\circ}\text{C}$. Това наше твърдение се доближава и до това на Martins et al. (2013), но се различава от това на Castro-Costa et al. (2014), като отчетените от нас максимални стойности бяха – $39,02^{\circ}\text{C}$, а минималните – $34,54^{\circ}\text{C}$.

При наличие на СКМ достигнахме до извода, че средната ПТ се повишава с повече от 0,95 до 37,57°C. Резултатите на Martins показват по-незначително покачване на средната ПТ при този вид възпаление – 36,30°C, докато от докладваните от Castro-Costa данни става ясно, че ПТ при засегнати половини е дори по-ниска – 33,31°C. Вероятно тази разлика идва от използваната апаратура, начина на заснемане на млечните половини, начина на отглеждане и температурата на околната среда. Покачването на ПТ при субклиничен мастит вероятно се дължи на активирането на защитните механизми на млечната жлеза и повишения кръвоток към органа по време на възпалението.

VI. ИЗВОДИ

Получените данни при разработването на настоящия дисертационен труд ни позволяват да направим следните изводи:

1. Разпространението на субклиничните мастити при овцете е вариабилна величина, като в изследваните ферми средната стойност е 41,03%.

2. Микроорганизмите, причиняващи субклинични мастити при овцете най-често са от род *Staphylococcus* – 70,24%. От тях *Staphylococcus xylosus* – 20,27%, *S. aureus* ssp. *aureus* – 16,21%, *Staphylococcus epidermidis* – 14,86%, *Staphylococcus warneri* – 4,05%, *Staphylococcus haemolyticus* – 2,70%, *S. cohnii* ssp. *urealyticum* – 2,70%, *Staphylococcus hyicus* – 2,70%, *S. hominis* ssp. *hominis* – 2,70%, *Staphylococcus lentus* – 2,70%.

3. Чувствителността на изолираните микроорганизми от всички видове към антибактериални средства *in vitro* е най-висока спрямо Enrofloxacin и Ciprofloxacin и сравнително висока към комбинацията Sulfamethoxazole + Trimethoprim. Най-висока резистентност проявяват към Colistin, Kanamycin и някои пеницилинови антибиотици, както и значителна устойчивост към антибиотиците от групата на цефалоспорините.

4. Брой на соматичните клетки от 500 000 в 1 ml мляко е подходяща референтна стойност за диагностика на субклиничните мастити.

5. Термографията не е подходяща като самостоятелен метод за диагностика на субклиничните мастити при овцете. Тя би могла да се използва като допълнителен скринингов метод.

6. Защитните механизми на млечната жлеза при овце със субклиничен мастит се характеризират с достоверно увеличаване количеството на левкоцитите в кръвта, като фагоцитната им активност намалява за сметка на повишаване на микробоцидната способност. Концентрацията на имуноглобулините в кръвния серум при засегнати животни намалява спрямо незасегнатите, докато в млякото промените са в обратна посока.

VII. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Оригинални приноси

- Установени са актуалните микроорганизми, причиняващи субклиничните мастити при овцете и тяхната чувствителност към различни антибиотици.
- За първи път в България е проучена възможността за приложение на безконтактната термография за диагностика на субклиничните мастити при овцете.
- Проучени са хуморалните и клетъчни защитни механизми на млечната жлеза при овце със субклиничен мастит.

2. Потвърдителни приноси

- Потвърдена е ефективността на граничната стойност от 500 000 соматични клетки в 1 ml мляко за диагностика на субклиничните мастити при овцете.
- Определено е разпространението на субклиничните мастити при лактиращи овце.
- Определени са промените във физикохимичните показатели на млякото при овце със субклиничен мастит.
- Основният имуноглобулин в кръвния серум и млякото е IgG, като неговите стойности, нивата на лактоферин и лизозим в млякото се повишават значително при животни, засегнати от субклиничен мастит.

VIII. ПРЕПОРЪКИ ЗА ПРАКТИКАТА

1. За доказване на субклиничен мастит при овце на база брой соматични клетки да се използва референтна стойност от 500 000 клетъчни елемента в 1 ml мляко.

2. Изборът на антибактериални препарати за лечението на субклиничните мастити при овцете да се извършва след изолиране на микробния причинител и определяне на неговата антибиотична чувствителност. При отсъствие на тази възможност да бъдат използвани препарати, съдържащи ципрофлоксацин, енрофлоксацин и комбинацията сулфаметоксазол-триметоприм, поради високата чувствителност на бактериите към тях.

IX. ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Stoimenov, A., T. Popova, G. Stoimenov, K. Hristov. MICROBIOLOGICAL STATUS OF THE MAMMARY GLAND IN LACTATING SHEEP. – In: Tradition and modernity in veterinary medicine, 2022, vol. 7, no 1(12), 10 – 17.

2. Stoimenov, A. DEFENSE MECHANISMS OF MAMMARY GLAND IN SHEEP – A REVIEW. – In: Tradition and Modernity in Veterinary Medicine, 2022, vol. 7, 2(13): 131 - 142.

БЛАГОДАРНОСТИ

Изразявам огромната си благодарност на моя научен ръководител доц. д-р Калин Христов, който ме въведе в интересната научна тематика, оказва огромна помощ при извършването на изследванията, описването и анализирването на резултатите, ключови за изготвянето на този дисертационен труд. Той има основна заслуга за моето професионално и личностно развитие в последните четири години.

Искрено благодаря на проф. д-р Теодора Попова и доц. Красимира Генова за безценните знания и уроци, довели до разработването на този труд.

Изказвам голяма благодарност на гл. ас. д-р Георги Стоименов, за споделения опит и ценните съвети, които благоприятстваха целия работен процес, както и за непрекъснатата подкрепа.

За оказаната помощ дължа дълбока благодарност на проф. д-р Запрянка Шиндарска, д-р Димитър Димитров, д-р Цветелина Александрова, д-р Тошка Петрова, д-р Цвета Георгиева и д-р Милен Спасов.

Признателен съм на цялата катедра „Хирургия, рентгенология, акушерство и гинекология“ към Лесотехническия университет, София.

Благодаря на цялото си семейство за оказаната подкрепа по време на моето обучение.

Благодаря сърдечно на всички, които ме подкрепят!

RESEARCH ON THE PREVALENCE, AETIOLOGY AND NATURAL DEFENCE MECHANISMS OF THE MAMMARY GLAND IN SHEEP WITH SUBCLINICAL MASTITIS

Aleksandar Aleksandrov Stoimenov

The aim of the presented work is to determine the prevalence of subclinical mastitis in lactating sheep, to identify the microorganisms causing this disease, also determination of physicochemical and cytological changes in the development of this type of inflammation, some of the defence mechanisms of the mammary gland in sheep and testing of non-contact thermography for diagnosis of subclinical mastitis

The results showed that the prevalence of subclinical mastitis in individual farms varied between 29.41% and 53.30%. The microorganisms causing subclinical mastitis in sheep are most often from the genus *Staphylococcus* – 70.24%. Of these, *Staphylococcus xylosus* – 20.27%, *S. aureus* ssp. *aureus* – 16.21%, *Staphylococcus epidermidis* – 14.86%, *Staphylococcus warneri* – 4.05%, *Staphylococcus haemolyticus* – 2.70%, *S. cohnii* ssp. *urealyticum* – 2.70%, *Staphylococcus hyicus* – 2.70%, *S. hominis* ssp. *hominis* – 2.70%, *Staphylococcus lentus* – 2.70%. The sensitivity of the isolated microorganisms of all types to antibacterial agents in vitro is highest to Enrofloxacin and Ciprofloxacin, and relatively high to the combination Sulfamethoxazole + Trimethoprim. They exhibit the highest resistance to Colistin, Kanamycin and some penicillin antibiotics, as well as significant resistance to antibiotics from the cephalosporin group.

Our research has shown that somatic cell count of 500,000 in 1 ml milk is a suitable reference value for the diagnosis of subclinical mastitis. The defence mechanisms of the mammary gland in sheep with subclinical mastitis are characterized by a reliable increase in the amount of leukocytes in the blood, and their phagocytic activity decreases at the expense of an increase in microbicidal ability. The concentration of immunoglobulins in the blood serum of affected animals decreases compared to unaffected ones, while in milk the changes are in the opposite direction. We found that thermography is not suitable as a sole method for diagnosing subclinical mastitis in sheep. It can be used as an additional screening method.

The results obtained from this work will be offered to the attention of farmers and veterinary specialist and it will help in the treatment and prevention against subclinical mastitis in sheep.