

Ветеринарная диагностика

УДК 636.2:619:637.04

doi: 10.15389/agrobiology.2021.6.1183rus

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В МОЛОКЕ КОРОВ КАК КРИТЕРИЙ ОЦЕНКИ ЗДОРОВЬЯ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В СВЯЗИ С ПРОДУКТИВНОСТЬЮ И КОМПОНЕНТАМИ МОЛОКА*А.А. СЕРМЯГИН¹ [✉], И.А. ЛАШНЕВА¹, А.А. КОСИЦИН¹, Л.П. ИГНАТЬЕВА¹,
О.А. АРТЕМЬЕВА¹, J. SÖLKNER², Н.А. ЗИНОВЬЕВА¹

Количество соматических клеток в молоке коров используется для контроля за воспалительным процессом и оценки вероятности возникновения субклинической и клинической форм маститов. В представленной работе в рамках экспериментальных наблюдений в стаде молочного скота впервые показана возможность контролировать состояние молочной железы коров, основываясь на определении общего количества соматических клеток и доли в нем лимфоцитов и полиморфноядерных нейтрофилов (ПМН). Получены результаты, подтверждающие взаимосвязь количества соматических клеток (КСК) с показателями суточной молочной продуктивности лактирующих животных. Цель работы — оценка связи количества соматических клеток в молоке и их дифференциации по видам с показателями продуктивности и компонентного состава молока, а также с вероятностью развития субклинической и клинической форм маститов у коров голштинизированной черно-пестрой породы. Работу проводили с июня 2020 года по май 2021 года на базе экспериментального стада голштинизированного черно-пестрого скота (ПЗ «Ладожский» — филиал ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Краснодарский край). Всего выборка животных составила 313 гол., число измерений — 1931. Анализ компонентов молока осуществляли с использованием автоматического анализатора CombiFoss 7 DC («FOSS», Дания) на основе экспресс-методов инфракрасной спектроскопии и проточной цитометрии. Были изучены следующие показатели: суточный удой, массовая доля жира, белка, казеина, лактозы, сухого вещества, сухой обезжиренный молочный остаток, следы ацетона и бета-гидроксипропионата (БГБ), точка замерзания и кислотность, жирные кислоты (ЖК), КСК, ДКСК (доля лимфоцитов и ПМН в общей сумме клеток). Чтобы опосредованно оценить состояние молочной железы коров, животные в стаде были условно распределены на группы: А — КСК ≤ 200 тыс. ед/мл, ДКСК ≤ 70 %; В — КСК ≤ 200 тыс. ед/мл, ДКСК > 70 %; С — КСК > 200 тыс. ед/мл, ДКСК > 70 %; D — КСК > 200 тыс. ед/мл, ДКСК ≤ 70 %. Также была принята следующая градация животных вне зависимости от вероятности заболеть маститом: две группы с показателями ДКСК ≤ 70 и > 70 %; четыре подгруппы с КСК ≤ 200 , 201-500, 501-1000 и ≥ 1001 тыс. ед/мл. Использовали логарифмические (нормализованные) оценки КСК согласно формуле G.R. Wiggins с соавт. (1987). Определяли индивидуальную экономическую ценность суточной молочной продуктивности коров. Для оценки влияния средовых факторов и их элиминации на суточные показатели компонентного состава молока использовали уравнение обобщенных линейных моделей (generalized linear models, GLM). На основе GLM-уравнения с использованием метода наименьших квадратов были получены оценки фенотипических средних для показателей молока. Парное сравнение между средними значениями проводили, используя тест Тьюки. Анализ главных компонент (PCA) применяли для изучения изменчивости состава молока в зависимости от образования его компонентов в организме животного с целью определения наиболее значимых параметров, детерминирующих продуктивность молочных коров. Здоровые особи и животные с подозрением на мастит (предрасположенные к началу инфекции) (группы А и В), обладали желательными показателями молочной продуктивности, суточный удой составил 25,7-27,7 кг молока, экономическая эффективность производства — 714-744 руб. · сут⁻¹ · гол.⁻¹. Коровы, отнесенные к группам С (субклиническая или клиническая формы активного мастита) и D (хронический мастит), имели показатели компонентного состава молока, превосходящие другие группы при сравнительно меньшей суточной молочной продуктивности. Животные с высокими значениями КСК, а также с хронической формой мастита были в наибольшей степени подвержены нарушениям метаболического статуса или возникновению кетоза вне зависимости от ДКСК. Увеличение количества жира в молоке на 0,18-0,37 % ($p \leq 0,001$) у животных с КСК ≥ 1001 тыс. ед/мл привело к повышению доли насыщенных ЖК на 1,1-1,4 процентных пункта (п.п.), пальмитиновой кислоты — на 0,4-1,2 п.п., среднецепочечных ЖК — на 1,0-1,4 п.п.

* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-316-90050 в части анализа соматических клеток в молоке и за счет гранта Российского научного фонда — проект № 21-76-20046 в части комплексного изучения компонентного состава молока коров на основе инфракрасной спектроскопии.

Повышение нормированных оценок КСК на один балл (лимиты от 1 до 10) вело к падению суточного удоя молока на 0,6 кг, лактозы — на 0,062 п.п. и повышению жирности и белковости соответственно на 0,090 и 0,055 п.п. При анализе главных компонент были сформированы собственные кластеры для белковой и жировой фракций молока, мочевины и жирных кислот, ацетона и БГБ, точки замерзания и значений pH, КСК и ДКСК. В обособленную группу вошли суточный удой и массовая доля лактозы (вместе с кетоновыми телами), не связанные с другими показателями состава молока, обозначая тем самым независимый характер изменчивости этих переменных. Дальнейшее изучение взаимосвязи синтеза компонентов молока в молочной железе и физиологического статуса животного позволит уточнить направление отбора особей и определить генетическую детерминацию признаков продуктивности у крупного рогатого скота.

Ключевые слова: молоко, корова, количество соматических клеток, удой, жир, белок, лактоза, жирные кислоты, ацетон, бета-гидроксипропионат, мастит, кетоз.

Общее число детектируемых в молоке клеток (количество соматических клеток в молоке, КСК, somatic cell count, SCC) служит ключевым индикатором при выявлении маститов разной этиологии у молочных коров. Этот показатель используется для контроля за воспалительным процессом и прогнозирования субклинической и клинической форм маститов в вымени, что позволяет следить за здоровьем животных и качеством молока. Для разработки способов улучшения качественных и количественных характеристик молока проводится более детальный анализ его состава (1, 2).

В вопросах здоровья вымени коров за последние 40 лет достигнут значительный прогресс, однако мастит по-прежнему наносит огромный экономический ущерб молочному скотоводству во всем мире. Это сложное заболевание, на развитие которого влияют окружающая среда, условия кормления и содержания коров, генетические факторы. Кроме того, патогенные микроорганизмы, вызывающие мастит, постоянно мутируют, из-за чего приходится корректировать схемы лечения. Современный молочный скот более продуктивен, чем 20-30 лет назад, поэтому требуется другой тип управления стадом и новые селекционные решения (3).

Поскольку клетки в молоке в основном представлены лимфоцитами, макрофагами и полиморфноядерными нейтрофилами (ПМН), для более точной характеристики состояния вымени и прогноза возникновения маститов, помимо определения общего КСК, целесообразно дифференцировать соматические клетки по их виду (4-6). Три основные популяции клеток, встречающиеся в молоке, играют ключевую роль в воспалительных процессах в молочной железе (7, 8). Лимфоциты регулируют индукцию и подавление иммунных реакций. Макрофаги распознают патогенные микроорганизмы и инициируют иммунный ответ на инвазию, в результате чего происходит массивный приток ПМН. Помимо этого, макрофаги поглощают бактерии, клеточный дебрис и скопившиеся компоненты молока и восстанавливают ткани. Также ПМН защищают вымя от проникновения бактерий при возникновении мастита (9).

При заболевании общее число КСК и состав клеток, вовлеченных в иммунный ответ, обычно изменяются. Молоко от здоровых животных характеризуется низким КСК, в основном это макрофаги и лимфоциты (10-13). При каком-либо инфекционном процессе этот показатель существенно увеличивается, а преобладающей группой клеток становятся ПМН (14).

Проточная цитометрия в сочетании с инфракрасной спектроскопией — сравнительно недорогой экспресс-метод для определения числа соматических клеток и состава молока коров по сравнению с флуоресцентной микроскопией и арбитражными методами (15, 16). Метод позволяет дифференцировать соматические клетки в молоке с точностью 0,839, для детекции КСК этот показатель составляет 0,994, для определения содержания

бета-гидроксималаяной кислоты — 0,820, других компонентов молока — в среднем от 0,800-0,950.

Многие практические специалисты считают контроль количества соматических клеток в молоке незначимым для селекции, поскольку на состояние молочной железы животных больше влияет среда (в том числе бактериальная микрофлора, в особенности стафилококки), нежели генетические факторы. Однако популяционный мониторинг может способствовать отбору наиболее устойчивых и адаптированных с генетической точки зрения особей. Так, по данным российских ученых, у коров с КСК от 201 до 500 тыс. ед/мл молочная продуктивность за лактацию была на 274 кг, или на 4 %, ниже по сравнению с животными, у которых этот показатель не превышал 200 тыс. ед/мл. При значениях КСК от 501 до 1000 тыс. ед/мл продуктивность была ниже на 348 кг (5 %), при КСК более 1001 тыс. ед/мл — на 408 кг (5,9 %). Следует отметить, что массовая доля белка в молоке животных, у которых показатель КСК составлял более 1000 тыс. ед./мл, была выше на 0,19 %, что косвенно свидетельствует об изменении физико-химического состава молока (17, 18).

В настоящее время в селекции молочного скота наиболее актуально повышение белкомолочности в связи с общим дефицитом белка в рационе человека при постоянно растущем потреблении. Немаловажным остается и традиционный отбор животных по жирномолочности для обеспечения потребностей рынка в сливочном масле, сметане, сливках, мягкие сырах. Однако без понимания природы возникновения и течения воспалительного процесса в молочной железе сложно получать качественную продукцию. Кроме того, повышение продуктивности создает дополнительную физиологическую нагрузку на организм, что приводит к метаболическому стрессу, снижению резистентности и изменению состава молока.

Все эти обстоятельства стимулируют интерес к изучению потенциальных биомаркеров физиологического состояния и признаков продуктивности молочного скота. В качестве таких биомаркеров могут, в частности, рассматриваться различные виды соматических клеток в молоке.

В представленной работе в рамках экспериментальных наблюдений в стаде молочного скота впервые показана возможность контролировать состояние молочной железы коров, основываясь на определении общего КСК в молоке и доли лимфоцитов и ПМН в КСК. Получены результаты, подтверждающие взаимосвязь КСК с показателями суточной молочной продуктивности лактирующих животных.

Цель исследования — выявить связь количества соматических клеток в молоке (суммарно и по видам) с показателями продуктивности и компонентного состава молока, а также с вероятностью развития субклинической и клинической форм маститов у животных голштинизированной черно-пестрой породы.

Методика. Работу проводили с июня 2020 года по май 2021 года на базе экспериментального стада голштинизированного черно-пестрого скота (ПЗ «Ладожский» — филиал ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Краснодарский край). Общее число измерений суточных показателей молочной продуктивности, выполненных на 334 коровах, составило 2023. После контроля качества на нормальность распределения и экстремальные значения (выбросы) для основных параметров — массовой доли жира (МДЖ), белка (МДБ), лактозы (МДЛ) и сухого вещества (СВ) выборка животных составила 313 гол., число измерений — 1931. Контрольные доения, индивидуаль-

ный отбор и консервирование проб молока с использованием таблеток Microtabs (США) проводили трижды — утром (5⁰⁰-7⁰⁰), в обед (12⁰⁰-13³⁰) и вечером (18⁰⁰-20⁰⁰).

Анализ компонентов молока осуществляли с использованием автоматического анализатора CombiFoss 7 DC («FOSS», Дания), который состоит из двух приборов — MilkoScan (ближняя инфракрасная спектроскопия) и Fossomatic 7 DC (проточная цитометрия). Регистрация всех показателей происходила автоматически, результаты выгружались в программу Microsoft Excel для каждой пробы. Перед началом работы анализатора снимали показания для стандартной пробы молока и синтетической среды, содержащей соматические клетки.

Каждую пробу молока исследовали индивидуально, после чего полученные данные приводили к среднесуточным значениям. Определяли следующие показатели: суточный удой (СУ), МДЖ, МДБ, массовая доля казеина (МДК), МДЛ, СВ, сухой обезжиренный молочный остаток (СОМО), следы ацетона и бета-гидроксibuтират (БГБ), точка замерзания (ТЗ) и кислотность (рН), жирные кислоты (ЖК) — С_{14:0} (миристиновая), С_{16:0} (пальмитиновая), С_{18:0} (стеариновая), С_{18:1} (олеиновая), длинно-, средне- и короткоцепочечные ЖК (ДЦЖК, СЦЖК, КЦЖК), моно- и полиненасыщенные ЖК (МНЖК, ПНЖК), насыщенные ЖК (НЖК), трансизомеры (ТЖК), КСК, ДКСК (доля лимфоцитов и ПМН в общей сумме клеток; differential somatic cell count, DSCC). Долю макрофагов прибор не фиксировал, поэтому ее вычисляли как разность между КСК, которое принимали за 100 %, и ДКСК (%).

Чтобы опосредованно оценить состояние молочной железы коров, животных в стаде условно распределили на группы согласно подходу, предложенному D. Schwarz (26), в нашей модификации: А — здоровые особи, КСК ≤ 200 тыс. ед/мл, ДКСК ≤ 70 %; В — особи с подозрением на мастит, КСК ≤ 200 тыс. ед/мл, ДКСК > 70 %; С — особи с субклинической/клинической формой мастита, КСК > 200 тыс. ед/мл, ДКСК > 70 %; D — особи с хроническим (персистирующим) маститом, КСК > 200 тыс. ед/мл, ДКСК ≤ 70 %. Также была принята следующая градация животных вне зависимости от вероятности заболевания маститом: две группы с показателями ДКСК ≤ 70 и > 70 %; четыре подгруппы с КСК ≤ 200, 201-500, 501-1000 и ≥ 1001 тыс. ед/мл (всего восемь подгрупп).

Использовали логарифмические (нормализованные) оценки КСК (ОКСК) согласно формуле G.R. Wiggins с соавт. (19). Лучшие по содержанию соматических клеток в молоке животные получали значение 1 балл, худшие — 10 баллов, при этом шаг ОКСК составлял один балл:

$$\text{ОКСК} = \log_2(\text{КСК}/100) + 3. \quad [1]$$

Индивидуальную экономическую ценность суточной молочной продуктивности (estimated milk value, EMV) в фенотипическом выражении определяли из расчета цены молока (60 % — за МДБ, 40 % — за МДЖ при базисе белковости 3,0 % и жирности 3,4 %) в пересчете на физическую массу охлажденного сырья. Экономическую ценность уточняли в зависимости от КСК в молоке, используя повышающие и понижающие коэффициенты для принимаемого на переработку сырья (1,1 при КСК < 250 тыс. ед/мл, 1,0 — при 250-400 тыс. ед/мл, 0,9 — при 400-1000 тыс. ед/мл, 0,5 — при > 1000 тыс. ед/мл).

Для оценки влияния средовых факторов и их элиминации на суточные показатели компонентного состава молока использовали уравнение

обобщенных линейных моделей (generalized linear models, GLM), реализованное в программе STATISTICA 10 (20):

$$y_{ikm} = ML_i + DM_k + a_1DIM + DSCC_SCC_m + e_{ikm}, \quad [2]$$

где y — оцениваемый показатель состава молока коровы по группе m i -го месяца контроля у k -й доярки (оператора машинного доения); ML — месяц контроля продуктивности ($i = 10$); DM — фиксированный эффект доярки ($k = 6$); DIM — непрерывный эффект суток лактации от отела (a_1 — регрессионный коэффициент); $DSCC_SCC$ — фиксированный эффект группы, к которой животное отнесено с учетом общего и дифференцированного по видам количества соматических клеток в молоке ($m = 8$); e — остаточная (нераспределенная) дисперсия модели.

На основе GLM-уравнения с использованием метода наименьших квадратов (Least-Squares, LS) получали оценки фенотипических средних для показателей молока. Парное сравнение между средними значениями проводили, используя тест Тьюки. Метод главных компонент (PCA) применяли для пространственной визуализации и анализа изменчивости состава молока в зависимости от индивидуальных особенностей его формирования у животных для определения наиболее значимых параметров, детерминирующих продуктивность молочных коров. Расчет описательной статистики проводили в программе STATISTICA 10 («StatSoft, Inc.», США) и Microsoft Excel 2013. В таблицах представлены средние (M), их стандартные ошибки ($\pm SEM$) и коэффициенты вариации (Cv , %). Выявленные различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты. Компонентный состав молока, который оценивают с помощью инфракрасной спектроскопии или проточной цитометрии, служит своеобразным биомаркером, позволяющим управлять продуктивными качествами через селекцию и контролировать здоровье животного.

ДКСК в молоке у коров в наших опытах варьировала от 0 (клетки крови не выявлялись) до 93,8 %, то есть доля макрофагов при максимуме ДКСК была наименьшей, что могло свидетельствовать об активном воспалительном процессе в молочной железе.

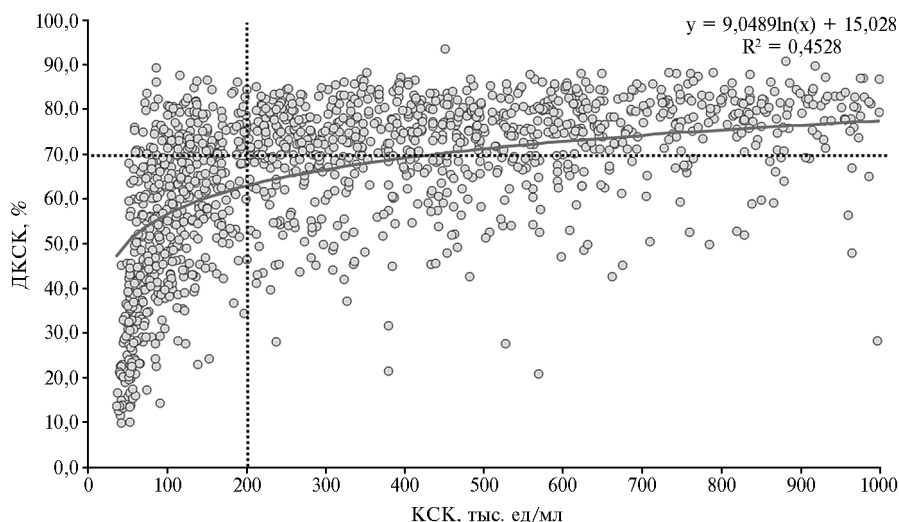


Рис. 1. Дифференциация соматических клеток по видам (лимфоциты и полиморфноядерные нейтрофилы; ДКСК) в молоке у коров голштинизированной черно-пестрой породы (индивидуальные суточные значения) в зависимости от количества соматических клеток (КСК) (ПЗ «Ладожский» — филиал ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Краснодарский край, 2020-2021 годы). Пороговые значения для ДКСК и КСК представлены пунктирными линиями.

На рисунке 1 представлено распределение ДКСК в зависимости от общего количества соматических клеток (с пороговыми значениями 70 % для ДКСК и 200 тыс. ед/мл — для КСК). С увеличением количества соматических клеток в молоке коров показатель ДКСК возрастал по логарифмической функции ($R^2 = 0,453$). Процент наблюдений с нижним порогом по КСК в молоке вне зависимости от ДКСК составил 35,9 %, в то время как его превышение для ДКСК < 70 % и > 70 % — соответственно 13,4 и 50,7 %. Основываясь на полученных результатах, можно заключить, что примерно две трети стада имели субклиническую картину нарушения функции молочной железы, что часто наблюдается в высокопродуктивных стадах, в рационе которых высока доля концентрированных кормов. При этом для 13,4 % животных отклонения в функциональных свойствах вымени носили хронический характер.

1. Влияние факторов, включенных в уравнение обобщенных линейных моделей (generalized linear models, GLM), на фенотипические показатели молочной продуктивности и состав молока у коров голштинизированной черно-пестрой породы (n = 1931, ПЗ «Ладожский» — филиал ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Краснодарский край, 2020-2021 годы)

Показатель	M±SEM	Cv, %	Фактор				R ²
			СЛ	ОМД	МЛ	ДКСК/КСК	
СУ, кг	25,4±0,2	28,0	***	***	***	***	0,240
МДЖ, %	3,61±0,02	26,0	***	t	***	***	0,273
МДБ, %	3,20±0,01	13,8	***	н.д.	***	***	0,315
МДК, %	2,69±0,01	13,8	***	н.д.	***	***	0,310
МДЛ, %	4,82±0,01	4,5	***	н.д.	**	***	0,285
СВ, %	12,72±0,028	9,5	***	н.д.	***	***	0,268
СОМО, %	9,08±0,01	5,3	***	н.д.	***	***	0,195
Ацетон, ммоль/л	0,055±0,002	160,1	***	***	***	**	0,171
БГБ, ммоль/л	0,013±0,001	326,4	*	***	***	***	0,256
Мочевина, мг/100 мл	38,7±0,1	16,8	н.д.	***	***	t	0,514
С14:0, г/100 г	0,336±0,002	25,9	***	t	***	***	0,196
С16:0, г/100 г	0,887±0,005	26,2	***	t	***	***	0,182
С18:0, г/100 г	0,336±0,003	34,9	н.д.	н.д.	***	***	0,200
С18:1, г/100 г	1,156±0,007	27,5	***	t	***	***	0,252
ДЦЖК, г/100 г	1,426±0,010	30,7	**	*	***	**	0,263
СЦЖК, г/100 г	1,358±0,008	26,4	***	*	***	***	0,207
КЦЖК, г/100 г	0,479±0,003	31,0	***	н.д.	***	***	0,304
МНЖК, г/100 г	1,076±0,007	27,4	***	t	***	***	0,211
ПНЖК, г/100 г	0,131±0,001	22,9	***	***	***	***	0,325
НЖК, г/100 г	2,373±0,015	27,7	***	t	***	***	0,275
КСК, тыс. ед/мл	832±31	166,1	н.д.	н.д.	н.д.	***	0,526
ДКСК, %	63,5±0,6	39,8	н.д.	t	***	***	0,685

Примечание. ДЛ — день лактации, ОМД — оператор машинного доения (доярка), МЛ — месяц лактации, ДКСК/КСК — соотношение доли лимфоцитов и полиморфноядерных нейтрофилов в общей сумме клеток (ДКСК) и общего количества соматических клеток (КСК) (8 подгрупп), R² — коэффициент детерминации; СУ — суточный удой, МДЖ — массовая доля жира, МДБ — массовая доля белка, МДК — массовая доля казеина, МДЛ — массовая доля лактозы, СВ — сухие вещества, СОМО — сухой обезжиренный молочный остаток, БГБ — бета-гидроксипутират, жирные кислоты: С14:0 — миристиновая, С16:0 — пальмитиновая, С18:0 — стеариновая, С18:1 — олеиновая, ДЦЖК — длинноцепочечные, СЦЖК — среднецепочечные, КЦЖК — короткоцепочечные, МНЖК — мононенасыщенные, ПНЖК — полиненасыщенные, НЖК — насыщенные.

t p ≤ 0,1; * p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01; *** p ≤ 0,001; н.д. — не достоверно.

Среднесуточный удой в изученной выборке животных составлял 25,4±0,2 кг при массовой доле жира и белка соответственно 3,61±0,02 и 3,20±0,01 % (табл. 1). По нашему мнению, невысокий показатель жирности молока связан с климатическими особенностями зоны разведения молочного скота, а также рационом, ориентированным на получение высоких удоев. Показатели биомаркеров обмена веществ (кетоновые тела или следы ацетона и БГБ в молоке) были в пределах физиологической нормы — соответ-

ственно 0,30-0,35 и 0,15 ммоль/л. В 1,1 % случаев наблюдали появление клинической (новотельные коровы, от 9 до 78 сут после отела) и субклинической (вторая половина лактации, от 167 до 598 сут после отела) форм кетоза. Близкие результаты по распределению ацетона и БГБ молока были получены в стадах черно-пестрой и голштинской породы в Тюменской области (21). Взаимосвязь между количеством ацетона и БГБ носила линейный характер ($R^2 = 0,631$). Концентрация мочевины в молоке превышала оптимальные значения (15,1-30,0 мг/100 мл) и составляла 38,7 мг/100 мл. В проведенной ранее работе на популяции молочного скота в Московской области было показано, что увеличение содержания мочевины в молоке до 35,0-37,6 мг/100 мл приводило к уменьшению МДЖ на 0,27-0,55 % (22).

Распределение жирных кислот в молоке у коров исследуемой выборки было следующим: по насыщению углеродной цепи — НЖК 66,3 %, МНЖК 30,1 %, ПНЖК 3,7 %; по длине углеродной цепи — ДЦЖК 39,8 %, СЦЖК 37,9 %, КЦЖК 13,4 %, трансизомеры ЖК 2,7 %; по числу атомов углерода в цепи ЖК — олеиновая ($C_{18:1}$) 32,3 %, пальмитиновая ($C_{16:0}$) 24,8 %, миристиновая ($C_{14:0}$) и стеариновая ($C_{18:0}$) по 9,4 %. Близкое долевое соотношение ЖК также выявили в популяции голштинизированного скота в Московской области, однако доля жировой фракции молока в этом случае была выше (4,46 %), при этом на НЖК приходилось 78,2 %, на МНЖК — 21,8 %, на ПНЖК — 0,1 % (23).

Количество соматических клеток в молоке у животных из выборки согласовывалось с повышенной встречаемостью субклинической и клинической форм заболеваний молочной железы в стаде, а также персистирующего хронического мастита. Коэффициент фенотипической изменчивости был наибольшим для КСК (166,1 %), содержания ацетона (160,1 %) и БГБ (326,4 %), что может свидетельствовать о значительном влиянии паратипических условий (технология содержания, менеджмент, рацион), в которых находились животные. При этом минимальную вариабельность отмечали для МДЛ (4,5 %), СОМО (5,3 %) и СВ (9,5 %). Изменчивость основных показателей молочной продуктивности колебалась от 13,8 % для белка до 26,0 % для жира (включая 22,9-34,9 % ЖК) и 28,0 % для суточного удоя. Согласно уравнению модели для ряда фиксированных и регрессионных факторов, день лактации животного, как и стадия лактации, не оказывал влияния на концентрацию мочевины в молоке, содержание стеариновой ЖК, КСК и ДКСК.

Фактор доярки (ОМД) оказался наименее существенным из всех учтенных и не был значим для содержания белка, казеина, лактозы, сухого вещества и СОМО молока, стеариновой ЖК, короткоцепочечных ЖК и КСК. На МДЖ, содержание миристиновой и пальмитиновой ЖК, МНЖК, НЖК и ДКСК фактор ОМД оказывал слабое влияние ($p \leq 0,1$). По всей вероятности, эффект доярки на состав молока коров был элиминирован другими более значимыми факторами.

Месяц лактации имел высокодостоверную значимость ($p \leq 0,01-0,001$) для всех изученных показателей, за исключением КСК. Влияние факторов из восьми подгрупп по ДКСК/КСК на изменчивость показателей молока оказалось высокосignificantным ($p \leq 0,01-0,001$), за исключением концентрации мочевины ($p \leq 0,1$). Коэффициент детерминации модели ожидаемо показал более высокие значения для КСК ($R^2 = 0,526$) и ДКСК ($R^2 = 0,685$), а также мочевины ($R^2 = 0,514$). В остальных случаях надежность модели колебалась от $R^2 = 0,171$ для содержания ацетона до $R^2 = 0,325$ для полиненасыщенных ЖК.

В таблице 2 приведены результаты распределения оценок наименьших квадратов для признаков молочной продуктивности в зависимости от прогнозируемого состояния молочной железы по грациям групп А, В, С и D. Наибольшие показатели суточного удоя (27,7 кг молока, $p \leq 0,001$) были получены для коров из группы В, то есть особей с подозрением на наличие воспалительных процессов в молочной железе, однако КСК оказалось ниже 200 тыс. ед/мл. Это может быть связано с ростом числа ПМН и лейкоцитов (78,3 %, $p \leq 0,001$) при возникновении бактериальной инфекции на ранней стадии и последующим иммунным ответом организма на фагоцитоз. Ожидается, что после поглощения возбудителя произойдет плавное повышение активности макрофагов с последующей нормализацией функции вымени.

2. Распределение показателей молочной продуктивности и состава молока в зависимости от состояния молочной железы коров голштинизированной чернопестрой породы, оцененного по показателям ДКСК и КСК ($M \pm SEM$, ПЗ «Ладожский» — филиал ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Краснодарский край, 2020-2021 годы)

Показатель	Группа			
	A (n = 96)	B (n = 40)	C (n = 115)	D (n = 62)
Число наблюдений, %	29,5	6,4	50,7	13,4
СУ, кг	25,7 \pm 0,3***	27,7 \pm 0,6***	25,5 \pm 0,3***	23,3 \pm 0,5
МДЖ, %	3,39 \pm 0,04	3,32 \pm 0,08	3,57 \pm 0,04***	3,69 \pm 0,06***
МДБ, %	3,10 \pm 0,02	3,05 \pm 0,04	3,22 \pm 0,02***	3,34 \pm 0,03***
МДК, %	2,62 \pm 0,02	2,58 \pm 0,03	2,70 \pm 0,01***	2,80 \pm 0,02***
МДЛ, %	4,93 \pm 0,01***	4,92 \pm 0,02***	4,78 \pm 0,01***	4,74 \pm 0,01
СВ, %	12,51 \pm 0,06	12,37 \pm 0,10	12,66 \pm 0,05*/**	12,89 \pm 0,08***/***
СОМО, %	9,09 \pm 0,02	9,01 \pm 0,04	9,06 \pm 0,02	9,16 \pm 0,03***
Ацетон, ммоль/л	0,063 \pm 0,004*	0,064 \pm 0,008	0,052 \pm 0,004	0,065 \pm 0,006
БГБ, ммоль/л	0,010 \pm 0,002	0,012 \pm 0,004	0,012 \pm 0,002	0,023 \pm 0,003*/***
Мочевина, мг/100 мл	37,9 \pm 0,3	37,8 \pm 0,4	37,4 \pm 0,2	37,8 \pm 0,3
С14:0, г/100 г	0,318 \pm 0,004	0,315 \pm 0,008	0,337 \pm 0,004***	0,343 \pm 0,006***
С16:0, г/100 г	0,823 \pm 0,012	0,811 \pm 0,021	0,897 \pm 0,010***	0,907 \pm 0,016***
С18:0, г/100 г	0,320 \pm 0,006	0,308 \pm 0,010	0,327 \pm 0,005	0,342 \pm 0,008**
С18:1, г/100 г	1,108 \pm 0,015	1,078 \pm 0,027	1,131 \pm 0,013	1,186 \pm 0,020**/*
ДЦЖК, г/100 г	1,375 \pm 0,021	1,330 \pm 0,037	1,384 \pm 0,018	1,447 \pm 0,028*
СЦЖК, г/100 г	1,256 \pm 0,018	1,236 \pm 0,032	1,372 \pm 0,015***	1,401 \pm 0,024***
КЦЖК, г/100 г	0,444 \pm 0,007	0,438 \pm 0,012	0,471 \pm 0,006**	0,492 \pm 0,009***
МНЖК, г/100 г	1,035 \pm 0,015	1,009 \pm 0,026	1,056 \pm 0,012	1,104 \pm 0,019**/*
ПНЖК, г/100 г	0,125 \pm 0,001	0,122 \pm 0,002	0,127 \pm 0,001	0,131 \pm 0,002**
НЖК, г/100 г	2,203 \pm 0,031	2,160 \pm 0,056	2,361 \pm 0,027**/*	2,444 \pm 0,041***
КСК, тыс. ед/мл	23,7 \pm 67,6	184,8 \pm 120,4	1315,9 \pm 57,5***	467,8 \pm 89,5***
ДКСК, %	33,7 \pm 0,8	78,3 \pm 1,4***	80,2 \pm 0,7***	59,4 \pm 1,0***
EMV, руб. · сут ⁻¹ · гол ⁻¹	714 \pm 10***	744 \pm 19***	516 \pm 9	585 \pm 14***

Примечание. СУ — суточный удой, МДЖ — массовая доля жира, МДБ — массовая доля белка, МДК — массовая доля казеина, МДЛ — массовая доля лактозы, СВ — сухие вещества, СОМО — сухой обезжиренный молочный остаток, БГБ — бета-гидроксипропионат, жирные кислоты: С14:0 — миристиновая, С16:0 — пальмитиновая, С18:0 — стеариновая, С18:1 — олеиновая, ДЦЖК — длинноцепочечные, СЦЖК — среднецепочечные, КЦЖК — короткоцепочечные, МНЖК — мононенасыщенные, ПНЖК — полиненасыщенные, НЖК — насыщенные, КСК — количество соматических клеток, ДКСК — доля лимфоцитов и полиморфноядерных нейтрофилов в общей сумме клеток, EMV — экономическая ценность суточной молочной продуктивности коров. Описание групп см. в разделе «Методика». Выполнено последовательное попарное сравнение.

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Коровы из группы В уступали остальным по процентному содержанию жира, белка, жирных кислот, БГБ ($p \leq 0,001$), за исключением лактозы. При этом по показателю EMV эти животные превосходили других на 30-228 руб. · сут⁻¹ · гол⁻¹ ($p \leq 0,001$). Коровы из группы А (здоровые особи) показали лучшие результаты по КСК и ДКСК — соответственно 23,7 тыс. ед/мл и 33,7 % при более высоком удое (25,7 кг молока) относительно групп С и D. Эти особи уступали по основным компонентам молока коровам с большими показателями КСК, за исключением МДЛ ($p \leq 0,001$) и следов ацетона ($p \leq 0,05$), и имели значения экономической ценности, близкие к

группе В, — 714 руб. · сут⁻¹ · гол.⁻¹.

У коров, отнесенных к группам С (субклиническая или клиническая формы активного мастита) и D (хронический мастит), отмечали показатели компонентного состава молока, превышающие таковые в других группах, при сравнительно меньшей суточной молочной продуктивности. У животных из группы С МДЖ в молоке была выше ($p \leq 0,001$) на 0,18 и 0,25 % по сравнению с группами А и В, у коров из группы D — на 0,30 и 0,37 %; для показателя МДБ увеличение составляло соответственно 0,12 и 0,17 %; 0,24 и 0,29 %. Вместе с тем менялись и показатели содержания жирных кислот и казеина.

Следует отметить, что у коров из группы D количество кетоновых тел в молоке оказалось повышенным, при этом для БГБ имело высокодостоверную разницу — +0,011 (А/D, $p \leq 0,001$) и +0,013 ммоль/л (В/D, $p \leq 0,05$), что в целом согласуется с результатами, полученными на популяции голштинского скота в Канаде (24).

Несмотря на более выгодные показатели МДЖ и МДБ, экономическая эффективность от использования коров групп С и D составляла всего 516 и 585 руб. · сут⁻¹ · гол.⁻¹, что коррелировало с увеличенным КСК в молоке. Полагаем, в нашем случае повышенная секреция молочной железой жира и белка могла быть связана с тем, что активная фаза воспалительного процесса приходилась на начало (после отела и до пика суточного удоя) и конец лактации (после 210 сут от отела и до сухостойного периода), когда наблюдался физиологический максимум продуцирования компонентов молока. Аналогичную закономерность отмечали D. Schwarz с соавт. (25-27) на популяциях голштинской, симментальской и бурой швицкой пород в Австрии, Китая, Эстонии, Германии и Испании.

Для более детальной характеристики изменения показателей суточной продуктивности и компонентного состава молока коров в связи с градацией ДКСК/КСК для восьми подгрупп животных мы провели сравнительное изучение этих показателей (табл. 3). Установлено, что среднесуточный удой животных при КСК ≤ 200 тыс. ед/мл был выше на 1,8-5,8 кг ($p \leq 0,001$) для ДКСК ≤ 70 % и на 0,9-3,0 кг ($p \leq 0,001$) для ДКСК > 70 % относительно других подгрупп по КСК. Для главных компонентов молока, таких как МДЖ, МДБ, МДК, наблюдалось достоверное преимущество особей из подгрупп с КСК > 200 тыс. ед/мл.

Мы пришли к выводу, что повышенное количество соматических клеток в молоке (в частности > 1 млн клеток) изменяет долю некоторых ЖК вне зависимости от порога ДКСК. Так, при сравнении контрастных подгрупп коров с КСК ≤ 200 и ≥ 1001 тыс. ед/мл были найдены наибольшие различия в общей жировой фракции молока: по доле НЖК — от +1,1 до +1,4 п.п., пальмитиновой ЖК — от +0,4 до +1,2 п.п. и среднепочечных ЖК — от +1,0 до +1,4 п.п. Также снижение относительной доли в контрастных по КСК группах наблюдалось для стеариновой и олеиновой ЖК — на 0,6 и 1,0 п.п., длинноцепочечных ЖК — на 1,7-2,5 п.п., мононенасыщенных ЖК — на 0,9-1,2 п.п., полиненасыщенных ЖК — на 0,2 п.п. Повышение доли насыщенных ЖК при одновременном уменьшении — МНЖК и ПНЖК ведет к снижению качества продукции переработки, при том что наиболее полезными для человека признаются жирные кислоты с множеством двойных углеродных связей. Достоверно более высокие значения EMV были у животных с КСК ≤ 200 тыс. ед/мл (на 423-444 руб. относительно группы особей с КСК ≥ 1001 тыс. ед/мл).

3. Молочная продуктивность и состав молока коров голштинизированной черно-пестрой породы в зависимости от градаций количества соматических клеток на основе LS-оценок ($M \pm SEM$, ПЗ «Ладожский» — филиал ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Краснодарский край, 2020–2021 годы)

Показатель	Количество соматических клеток (КСК), тыс. ед./мл							
	ДКСК ≤ 70 % ($n = 829$)				ДКСК > 70 % ($n = 1102$)			
	≤ 200	201-500	501-1000	≥ 1001	≤ 200	201-500	501-1000	≥ 1001
Число наблюдений, %	29,5	7,8	4,3	1,4	6,4	15,3	14,5	20,9
СУ, кг	25,7 \pm 0,3***	23,9 \pm 0,6***	22,9 \pm 0,7*	19,9 \pm 1,2	27,7 \pm 0,6***	26,8 \pm 0,4***	25,2 \pm 0,4	24,7 \pm 0,4
МДЖ, %	3,39 \pm 0,04	3,71 \pm 0,07***	3,65 \pm 0,09*	3,95 \pm 0,16***	3,31 \pm 0,08	3,41 \pm 0,05	3,53 \pm 0,06*	3,72 \pm 0,05**/***
МДБ, %	3,10 \pm 0,02	3,33 \pm 0,03***	3,37 \pm 0,04***	3,41 \pm 0,07***	3,05 \pm 0,04	3,13 \pm 0,02	3,24 \pm 0,03***	3,29 \pm 0,02***
МДК, %	2,62 \pm 0,02	2,80 \pm 0,03***	2,81 \pm 0,04***	2,85 \pm 0,06***	2,58 \pm 0,03	2,64 \pm 0,02	2,73 \pm 0,02***	2,74 \pm 0,02***
МДЛ, %	4,93 \pm 0,01***	4,80 \pm 0,02***	4,67 \pm 0,02***	4,55 \pm 0,04	4,93 \pm 0,02**/***	4,87 \pm 0,01***	4,81 \pm 0,01***	4,67 \pm 0,01
СВ, %	12,51 \pm 0,06	12,95 \pm 0,09***	12,80 \pm 0,12*	13,04 \pm 0,21**	12,36 \pm 0,10	12,50 \pm 0,07	12,68 \pm 0,07**	12,77 \pm 0,06***
СОМО, %	9,09 \pm 0,02	9,21 \pm 0,04***	9,11 \pm 0,05	9,05 \pm 0,09	9,01 \pm 0,04	9,05 \pm 0,03	9,11 \pm 0,03*	9,03 \pm 0,03
Ацетон, ммоль/л	0,063 \pm 0,004	0,056 \pm 0,007	0,071 \pm 0,009	0,097 \pm 0,016*/**	0,064 \pm 0,008*	0,049 \pm 0,005	0,046 \pm 0,006	0,060 \pm 0,005*
БГБ, ммоль/л	0,011 \pm 0,002	0,015 \pm 0,003	0,025 \pm 0,004**	0,068 \pm 0,008***	0,012 \pm 0,004	0,008 \pm 0,003	0,006 \pm 0,003	0,021 \pm 0,002***
Мочевина, мг/100 мл	37,9 \pm 0,3	37,8 \pm 0,4	37,4 \pm 0,5	38,5 \pm 0,9	37,9 \pm 0,4	38,0 \pm 0,3**	37,4 \pm 0,3	37,0 \pm 0,3
С14:0, г/100 г	0,318 \pm 0,004	0,347 \pm 0,007***	0,331 \pm 0,009	0,366 \pm 0,016**	0,314 \pm 0,008	0,327 \pm 0,005	0,338 \pm 0,005**	0,344 \pm 0,005**
С16:0, г/100 г	0,827 \pm 0,012	0,910 \pm 0,019***	0,897 \pm 0,025**	0,987 \pm 0,042***	0,808 \pm 0,021	0,844 \pm 0,014	0,879 \pm 0,015**	0,954 \pm 0,013***
С18:0, г/100 г	0,320 \pm 0,006	0,345 \pm 0,009*	0,341 \pm 0,012	0,354 \pm 0,021	0,307 \pm 0,010	0,311 \pm 0,007	0,317 \pm 0,007	0,348 \pm 0,006**/***
С18:1, г/100 г	1,108 \pm 0,015	1,184 \pm 0,025**	1,184 \pm 0,032*	1,263 \pm 0,055***	1,076 \pm 0,027	1,085 \pm 0,019	1,116 \pm 0,019	1,178 \pm 0,017**/***
ДЦЖК, г/100 г	1,376 \pm 0,021	1,455 \pm 0,034*	1,429 \pm 0,044	1,519 \pm 0,075	1,327 \pm 0,037	1,336 \pm 0,025	1,368 \pm 0,026	1,434 \pm 0,023**
СЦЖК, г/100 г	1,256 \pm 0,018	1,404 \pm 0,029***	1,384 \pm 0,037**	1,516 \pm 0,063***	1,232 \pm 0,031	1,300 \pm 0,022	1,354 \pm 0,022**	1,441 \pm 0,020**/***
КЦЖК, г/100 г	0,444 \pm 0,007	0,498 \pm 0,011***	0,477 \pm 0,015*	0,532 \pm 0,025***	0,437 \pm 0,012	0,458 \pm 0,008	0,467 \pm 0,009*	0,483 \pm 0,008*/**
МНЖК, г/100 г	1,035 \pm 0,014	1,102 \pm 0,024**	1,102 \pm 0,031*	1,171 \pm 0,052**	1,006 \pm 0,026	1,009 \pm 0,018	1,042 \pm 0,018	1,102 \pm 0,016**/***
ПНЖК, г/100 г	0,125 \pm 0,001	0,133 \pm 0,002**	0,127 \pm 0,003	0,138 \pm 0,005*	0,122 \pm 0,002	0,124 \pm 0,002	0,127 \pm 0,002	0,130 \pm 0,002**
НЖК, г/100 г	2,204 \pm 0,031	2,453 \pm 0,051***	2,409 \pm 0,066**	2,646 \pm 0,111***	2,154 \pm 0,055	2,249 \pm 0,038	2,329 \pm 0,039**	2,472 \pm 0,035**/***
КСК, тыс. ед./мл	28 \pm 53	281 \pm 86*	586 \pm 112*/***	2039 \pm 189***	119 \pm 94	312 \pm 64	661 \pm 66***	2622 \pm 59***
ДКСК, %	33,7 \pm 0,8	59,2 \pm 1,3***	60,4 \pm 1,7***	59,3 \pm 2,8***	78,1 \pm 1,4	78,2 \pm 1,0	79,7 \pm 1,0	82,3 \pm 0,9*/**
EMV, руб. · сут ⁻¹ · гол. ⁻¹	713 \pm 8***	636 \pm 14***	551 \pm 18***	269 \pm 30	753 \pm 15***	671 \pm 10***	593 \pm 11***	330 \pm 9

Примечание. СУ — суточный удой, МДЖ — массовая доля жира, МДБ — массовая доля белка, МДК — массовая доля казеина, МДЛ — массовая доля лактозы, СВ — сухие вещества, СОМО — сухой обезжиренный молочный остаток, БГБ — бета-гидроксibuтират, жирные кислоты: С14:0 — миристиновая, С16:0 — пальмитиновая, С18:0 — стеариновая, С18:1 — олеиновая, ДЦЖК — длинноцепочечные, СЦЖК — среднецепочечные, КЦЖК — короткоцепочечные, МНЖК — мононенасыщенные, ПНЖК — полиненасыщенные, НЖК — насыщенные, КСК — количество соматических клеток, ДКСК — доля лимфоцитов и ПМН в общей сумме клеток, EMV — экономическая ценность суточной молочной продуктивности коров. Выполнено последовательное попарное сравнение.

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

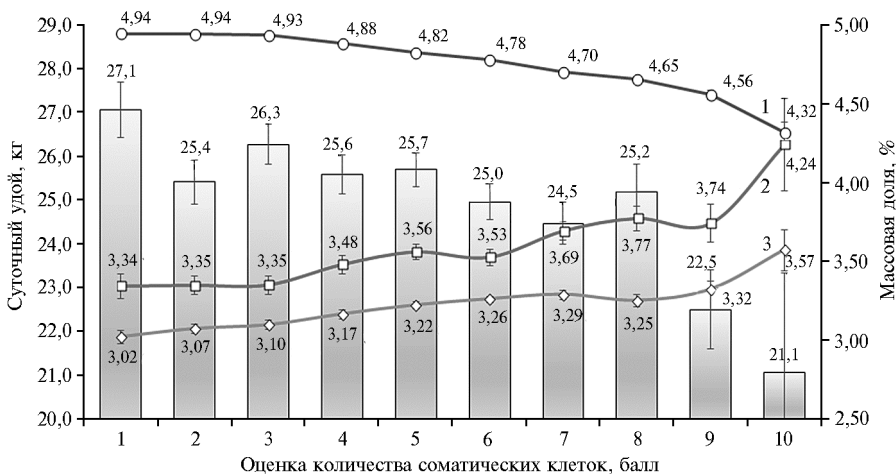


Рис. 2. Распределение LS-оценок, полученных на основе метода наименьших квадратов, для показателей молочной продуктивности и состава молока коров голштинизированной черно-пестрой породы в зависимости от количества соматических клеток в молоке: диаграмма — суточный удой, 1 — массовая доля лактозы, 2 — массовая доля жира, 3 — массовая доля белка в молоке (ПЗ «Ладожский» — филиал ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Краснодарский край, 2020-2021 годы).

На рисунке 2 представлена гистограмма, характеризующая динамику суточной продуктивности коров в связи с нормированными оценками КСК. По величине суточного удоя коровы с оценкой КСК 1 балл статистически значимо ($p \leq 0,1-0,001$) превосходили животных с 4 баллами и выше на 1,5-6,0 кг. Распределение LS-оценок для доли жира, белка и лактозы было сходным с таковым для контрольных групп сравнения ДКСК/КСК, то есть с увеличением балльной оценки наблюдался рост МДЖ и МДБ соответственно с 3,34 до 4,24 % и с 3,02 до 3,57 %. Динамика массовой доли лактозы имела обратную закономерность и составляла в среднем $-0,062$ п.п. на каждый балл оценки КСК. По нашему мнению, это может быть связано с более активным использованием молочного сахара бактериальной микрофлорой молочной железы коров.

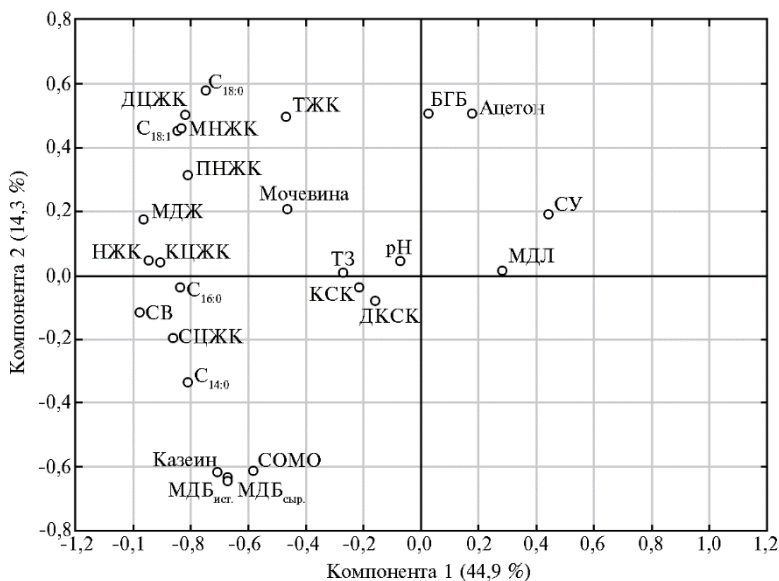


Рис. 3. Результаты анализа главных компонент по распределению показателей молока коров

голштинизированной черно-пестрой породы в связи с вариабельностью по двум факторным осям: СУ — суточный удой, МДЖ — массовая доля жира, МДБ_{ист.} — массовая доля истинного белка молока, МДБ_{сыр.} — массовая доля сырого белка молока, Казеин — массовая доля казеина, МДЛ — массовая доля лактозы, СВ — сухие вещества, СОМО — сухой обезжиренный молочный остаток, метаболиты: БГБ (бета-гидроскибутират), ацетон, мочевины; жирные кислоты: С_{14:0} — миристиновая, С_{16:0} — пальмитиновая, С_{18:0} — стеариновая, С_{18:1} — олеиновая, ДЦЖК — длинноцепочечные, СЦЖК — среднецепочечные, КЦЖК — короткоцепочечные, МНЖК — мононенасыщенные, ПНЖК — полиненасыщенные, НЖК — насыщенные, КСК — количество соматических клеток, ДКСК — доля лимфоцитов и полиморфноядерных нейтрофилов в общей сумме клеток (ПЗ «Ладожский» — филиал ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Краснодарский край, 2020-2021 годы).

Для понимания механизмов формирования состава молока и их ковариаций мы провели анализ главных компонент (рис. 3). Наиболее значимыми переменными оказались МДЖ, НЖК и сухое вещество ($P \geq 0,99$), то есть относительно них был минимизирован либо равномерно упорядочен разброс переменных и проведена максимизация дисперсии относительно компоненты 2. С помощью визуализации на основе двух компонент изменчивости было показано, что для белковой и жировой фракций молока сформированы собственные кластеры, при этом для ряда жирных кислот отмечена их структурная дифференциация по группам средне- и длинноцепочечных ЖК, моно- и полиненасыщенных ЖК. Мочевина как один из факторов изменчивости была ближе к жирным кислотам. Для биомаркеров обмена веществ (ацетон и БГБ), технологических качеств (ТЗ и рН) и соматических клеток (КСК, ДКСК) обозначались свои кластеры, не связанные с другими показателями состава молока. Первая компонента выделяла в обособленную группу суточный удой и массовую долю лактозы (вместе с кетоновыми телами), обозначая тем самым независимый (и в тоже время сложный) характер изменчивости этих переменных.

Подход, при котором соматические клетки дифференцируют по их видам, представляет интерес для точной диагностики нарушений физиологии молочной железы, контроля качества продукции, оптимизации экономических издержек в стаде. Наши исследования показали, что градация животных по группам на основании показателей ДКСК и КСК позволяет различать особей по вероятности возникновения субклинической формы мастита. Полученное распределение значений признаков молочной продуктивности и экономической эффективности коров свидетельствовало о значимом влиянии изученных факторов. Об аналогичных результатах сообщают D. Schwarz с соавт. (26): на выборке животных разных пород из популяций молочного скота Австрии, Китая, Эстонии, Германии и Испании были установлены схожие закономерности по составу молока коров (процент жира, белка, лактозы, следы мочевины) и EMV. В ранее проведенных исследованиях (9, 25) показана тесная взаимосвязь показателей ДКСК и КСК (как в комбинации, так и по отдельности) с наличием инфекционной формы мастита. При увеличении ДКСК возрастала чувствительность этого биомаркера в предсказании проявления инфекции.

Перспективны также исследования структуры микробиоты молока в зависимости от его состава, числа соматических клеток и их видов. В России уже проведен анализ связи изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных из молока, с проявлением мастита у коров (28). Мы полагаем, что контроль за изменением состава коровьего молока в стаде можно проводить по комплексу биомаркеров — количеству лактозы, следам ацетона и БГБ, что в настоящий момент используется в рутинном режиме в хозяйствах Московской области для предсказания возникновения мастита и кетоза (22). Ана-

лиз главных компонент показал свою эффективность для определения границ взаимозависимой изменчивости компонентного состава молока с целью выявления признаков с независимой вариабельностью.

Таким образом, количество соматических клеток в молоке и их дифференциация по видам могут служить дополнительными критериями при прогнозе и мониторинге распространения мастита. На коровах голштинизированной черно-пестрой породы показана возможность индивидуальной оценки состояния молочной железы в зависимости от соотношения ДКСК (доля лимфоцитов и полиморфноядерных нейтрофилов в общей сумме соматических клеток в молоке) и КСК (количество соматических клеток в молоке). Животные, отнесенные к здоровым особям и особям с подозрением на мастит (предрасположенные к началу инфекции), имели желательные показатели молочной продуктивности и экономической эффективности. Животные с высокими значениями КСК, а также с хронической формой мастита были в наибольшей степени подвержены метаболическим нарушениям и возникновению кетоза вне зависимости от ДКСК. Увеличение процента жира в молоке животных с $\text{КСК} \geq 1$ млн клеток вело к изменению соотношения жирных кислот с увеличением количества насыщенных, среднецепочечных и пальмитиновой кислоты. Использование нормированных оценок КСК более наглядно проявило наблюдаемые закономерности в изменении признаков молочной продуктивности коров: повышение ОКСК на один балл (лимиты от 1 до 10) вело к падению суточного удоя на 0,6 кг молока, лактозы — на 0,062 п.п. и повышению жирности и белковости соответственно на 0,090 и 0,055 п.п. С помощью анализа главных компонент установлена структурная кластеризация показателей состава молока для жировой и белковой фракций, следов метаболитов (ацетон, бета-гидроскибутират), соматических клеток. Дальнейшее изучение взаимосвязи между синтезом компонентов молока в молочной железе и физиологическим статусом животного позволит уточнить направление отбора особей и определить генетическую детерминацию признаков продуктивности. Разработка методов экспресс-диагностики состояния здоровья животных на основе расширенного анализа компонентного состава молока — один из приоритетов для практической апробации наших исследований в будущем.

Выражаем благодарность компании ООО «Фосс Электрик» (г. Москва) и ее сотрудникам — руководителю направления молочного животноводства и кормов Ирине Елизаровой и сервисному инженеру Денису Карлину за информационную поддержку при выполнении этого исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hanuš O., Samková E., Křížová L., Hasoňová L., Kala R. Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability — a review. *Molecules*, 2018, 23(7): 1636 (doi: 10.3390/molecules23071636).
2. Zaalberg R.M., Shetty N., Janss L., Buitenhuis A.J. Genetic analysis of Fourier transform infrared milk spectra in Danish Holstein and Danish Jersey. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(1): 503-510 (doi: 10.3168/jds.2018-14464).
3. Carvalho-Sombra T.C.F., Fernandes D.D., Bezerra B.M.O., Nunes-Pinheiro D.C.S. Systemic inflammatory biomarkers and somatic cell count in dairy cows with subclinical mastitis. *Veterinary and Animal Science*, 2021, 11: 100165 (doi: 10.1016/j.vas.2021.100165).
4. Pillai S.R., Kunze E., Sordillo L.M., Jayarao B.M. Application of differential inflammatory cell count as a tool to monitor udder health. *Journal of Dairy Science*, 2001, 84(6): 1413-1420 (doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)70173-7).
5. Rivas A.L., Quimby F.W., Blue J., Coksaygan O. Longitudinal evaluation of bovine mammary gland health status by somatic cell counting, flow cytometry, and cytology. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2001, 13(5): 399-407 (doi: 10.1177/104063870101300506).

6. Pilla R., Malvisi M., Snel G., Schwarz D., König S., Czerny C.-P., Piccinini R. Differential cell count as an alternative method to diagnose dairy cow mastitis. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(3): 1653-1660 (doi: 10.3168/jds.2012-6298).
7. Sordillo L.M., Shafer-Weaver K., DeRosa D. Immunobiology of the mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 1997, 80(8): 1851-1865 (doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76121-6).
8. Oviedo-Boysó J., Valdez-Alarcón J.J., Cajero-Juárez M., Ochoa-Zarzosa A., López-Meza J.E., Bravo-Patiño A., Baizabal-Aguirre V.M. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection*, 2007, 54(4): 399-409 (doi: 10.1016/j.jinf.2006.06.010).
9. Halasa T., Kirkeby C. Differential somatic cell count: value for udder health management. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, 7: 609055 (doi: 10.3389/fvets.2020.609055).
10. Lee C., Wooding F., Kemp P. Identification, properties, and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cows secretions, colostrum and milk from normal cows. *Journal of Dairy Research*, 1980, 47(1): 39-50 (doi: 10.1017/S0022029900020860).
11. Schwarz D., Diesterbeck U.S., König S., Brügemann K., Schlez K., Zschöck M., Wolter W., Czerny C.P. Flow cytometric differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands. *Journal of Dairy Science*, 2011, 94(10): 5033-5044 (doi: 10.3168/jds.2011-4348).
12. Schwarz D., Diesterbeck U.S., König S., Brügemann K., Schlez K., Zschöck M., Wolter W., Czerny C.-P. Microscopic differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands. *Journal of Dairy Research*, 2011, 78(4): 448-455 (doi: 10.1017/S0022029911000574).
13. Pilla R., Schwarz D., König S., Piccinini R. Microscopic differential cell counting to identify inflammatory reactions in dairy cow quarter milk samples. *Journal of Dairy Science*, 2012, 95(8): 4410-4420 (doi: 10.3168/jds.2012-5331).
14. Paape M.J., Mehrzad J., Zhao X., Detilleux J., Burvenich C. Defense of the bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocyte. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2002, 7(2): 109-121 (doi: 10.1023/a:1020343717817).
15. Schwarz D. Differential somatic cell count — a new biomarker for mastitis screening. *Proc. of the 40th ICAR Biennial Session held in Puerto Varas, Chile, 24-28 October 2016*. ICAR, Rome, Italy, 2017: 105-113.
16. Damm M., Holm C., Blaabjerg M., Novak Bro M., Schwarz D. Differential somatic cell count— a novel method for routine mastitis screening in the frame of dairy herd improvement testing programs. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(6): 4926-4940 (doi: 10.3168/jds.2016-12409).
17. Sermyagin A.A., Gladyr E.A., Kharzhau A.A., Plemashov K.V., Tyurenkova E.N., Reyer H., Wimmers K., Brem G., Zinovieva N.A. 167 Genetic and genomic estimation for somatic cell score in relation with milk production traits of Russian Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 2017, 95(4): 82-83 (doi: 10.2527/asasann.2017.167).
18. Нарышкина Е.Н., Сермягин А.А., Виноградова И.В., Хрипякова Е.Н. Влияние уровня содержания соматических клеток в молоке новотельных коров на показатели продуктивности. В сб.: *Пути продления продуктивной жизни молочных коров на основе оптимизации разведения, технологий содержания и кормления животных. Материалы международной научно-практической конференции*. Дубровицы, 2015: 69-73.
19. Wiggins G.R., Shook G.E.A Lactation measure of somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 1987, 70(12): 2666-2672 (doi: 10.3168/jds.S0022-0302(87)80337-5).
20. StatSoft, Inc. STATISTICA (data analysis software system), version 12. (2014). www.statsoft.com.
21. Часовщикова М.А., Губанов М.В. Мониторинг качества молока при контрольном доении коров в племенных хозяйствах Тюменской области. *Вестник КрасГАУ*, 2021, 9(174): 132-137 (doi: 10.36718/1819-4036-2021-9-132-137).
22. Сермягин А.А., Белоус А.А., Корнелаева М.В., Филипченко А.А., Кисель Е.Е., Букаров Н.Г., Ермилов А.Н., Янчуков И.Н., Зиновьева Н.А. Возможности использования инфракрасных спектров молока для прогнозирования функционального состояния и здоровья коров. В кн.: *Племенная работа в животноводстве Московской области и г. Москвы (2017 г.)*. М., 2018: 11-22.
23. Лашнева И.А., Сермягин А.А. Влияние наличия транс-изомеров жирных кислот в молоке на его состав и продуктивность коров. *Достижения науки и техники АПК*, 2020, 34(3): 46-50 (doi: 10.24411/0235-2451-2020-10309).
24. Santschi D.E., Lacroix R., Durocher J., Duplessis M., Moore R.K., Lefebvre D.M. Prevalence of elevated milk b-hydroxybutyrate concentrations in Holstein cows measured by Fourier-transform infrared analysis in dairy herd improvement milk samples and association with milk yield and components. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(11): 9263-9270 (doi: 10.3168/jds.2016-11128).
25. Schwarz D., Lipkens Z., Piepers S., De Vliegher S. Investigation of differential somatic cell count

- as a potential new supplementary indicator to somatic cell count for identification of intramammary infection in dairy cows at the end of the lactation period. *Preventive Veterinary Medicine*, 2019, 172: 104803 (doi: 10.1016/j.prevetmed.2019.104803).
26. Schwarz D., Kleinhans S., Reimann G., Stückler P., Reith F., Ilves K., Pedastsaar K., Yan L., Zhang Z., Valdivieso M., Barreal M.L., Fouz R. Investigation of dairy cow performance in different udder health groups defined based on a combination of somatic cell count and differential somatic cell count. *Preventive Veterinary Medicine*, 2020, 183: 105123 (doi: 10.1016/j.prevetmed.2020.105123).
 27. Schwarz D., Santschi D.E., Durocher J., Lefebvre D.M. Evaluation of the new differential somatic cell count parameter as a rapid and inexpensive supplementary tool for udder health management through regular milk recording. *Preventive Veterinary Medicine*, 2020, 181: 105079 (doi: 10.1016/j.prevetmed.2020.105079).
 28. Fursova K., Sorokin A., Sokolov S., Dzhelyadin T., Shulcheva I., Shchannikova M., Nikanova D., Artem'eva O., Zinovieva N., Brovko F. Virulence Factors and Phylogeny of *Staphylococcus aureus* associated with bovine mastitis in Russia based on genome sequences. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, 7: 135 (doi: 10.3389/fvets.2020.00135).

¹ФГБНУ ФИЦ животноводства —

ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста,

142132 Россия, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Дубровицы, 60,

e-mail: alex_sermyagin85@mail.ru ✉, lashnevair@gmail.com,

ksicins@gmail.com, ignatieva-lp@mail.ru, vjmikrob@mail.ru,

n_zinovieva@mail.ru;

²Universität für Bodenkultur,

1180 Wien, Österreich, Gregor-Mendel-Straße 33,

e-mail: johann.soelkner@boku.ac.at

Поступила в редакцию

30 сентября 2021 года

Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2021, V. 56, № 6, pp. 1183-1198

DIFFERENTIAL SOMATIC CELL COUNT IN MILK AS CRITERIA FOR ASSESSING COWS' UDDER HEALTH IN RELATION WITH MILK PRODUCTION AND COMPONENTS

A.A. Sermyagin¹ ✉, I.A. Lashneva¹, A.A. Kositsin¹, L.P. Ignatieva¹, O.A. Artemieva¹, J. Sölkner², N.A. Zinovieva¹

¹Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, 60, pos. Dubrovitsy, Podolsk District, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail alex_sermyagin85@mail.ru (✉ corresponding author), lashnevair@gmail.com, ksicins@gmail.com, ignatieva-lp@mail.ru, vjmikrob@mail.ru, n_zinovieva@mail.ru);

²Universität für Bodenkultur, 1180 Wien, Österreich, Gregor-Mendel-Straße 33, e-mail johann.soelkner@boku.ac.at

ORCID:

Sermyagin A.A. orcid.org/0000-0002-1799-6014

Lashneva I.A. orcid.org/0000-0003-4276-8782

Kositsin A.A. orcid.org/0000-0001-8484-4902

Ignatieva L.P. orcid.org/0000-0003-2625-6912

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

We express our gratitude to the company Foss Electric LLC (Russia branch, Moscow) for the information support provided in the implementation of these studies, with personal thanks to the Head of the Dairy Farming and Feed Division Irina Elizarova and the service engineer Denis Karlin.

Supported financially by the Russian Foundation for Basic Research in the framework of scientific project No. 20-316-90050 for the analysis of somatic cell count in cows' milk and by the Russian Science Foundation project No. 21-76-20046 for studying extended milk component composition based on infrared spectrometry

Received September 30, 2021

doi: 10.15389/agrobiologia.2021.6.1183eng

Abstract

The somatic cell count in cow's milk is used to control the inflammatory infection process and to assess the likelihood of subclinical and clinical mastitis. In the article, within the framework of experimental design of observations in a dairy cattle herd, the possibility in the cows' mammary gland monitoring status, based on the total somatic cell count determination and proportion for lymphocytes and polymorphonuclear neutrophils (PMN) in raw milk is shown for the first time in Russia. The obtained results confirm the relationship between somatic cell count (SCC) and daily milk yield for lactating animals. The aim of this work is to assess the relationship between the number of somatic cells in milk and their differentiation by species with milk production, milk component traits, and the risk of progressing subclinical and clinical mastitis in Holsteinized Black-and-White cows. The work was carried out from June 2020 to May 2021 (an experimental herd of Holsteinized Black-and-White

cattle, PZ Ladozhsky — a branch of the Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Krasnodar Territory). The total sample in a data set was 313 animals; the number of milk lactation records was 1931. The analysis of milk components was carried out using an automatic analyzer CombiFoss 7 DC (FOSS, Denmark) based on express methods of infrared spectroscopy and flow cytometry. The following milk traits were studied: daily milk yield, percentage of fat, protein, casein, lactose, dry matter, dry skimmed milk residue, traces of acetone and beta-hydroxybutyrate (BHB), freezing point and acidity, fatty acids (FA), SCC, DSCC (fraction of lymphocytes and PMN in the total amount of cells). In order to indirectly assess the mammary gland condition of cows, animals in the herd were conditionally divided into four groups: A — SCC \leq 200 thousand cells per ml, DSCC \leq 70 %; B — SCC \leq 200 thousand cells per ml, DSCC $>$ 70 %; C — SCC $>$ 200 thousand cells per ml, DSCC $>$ 70 %; D — SCC $>$ 200 thousand cells per ml, DSCC \leq 70 %. Also, the following animal gradation was applied regardless of the probability of mastitis: two groups with DSCC \leq 70 and DSCC $>$ 70 %; four subgroups with SCC \leq 200, 201-500, 501-1000 and \geq 1001 thousand cells per ml. We used logarithmic (normalized) SCC scores according to G.R. Wiggins et al. (1987) approach. The individual economic value of the daily milk yield of cows was determined. For assessing effects of environmental factors and their elimination on daily milk component traits, the equation of generalized linear models (GLM) was used. Estimates of phenotypic means for milk features were obtained by the GLM-equation using the least squares method. The pairwise comparison between means was performed using Tukey's test. Principal component analysis (PCA) was used to study the variability of milk composition depending on their formation in the animal organism in order to determine the most significant parameters that determine the productivity of dairy cows. Healthy individuals and animals with suspected mastitis (predisposed to the onset of infection) (groups A and B) had desirable features of milk production, the daily milk yield was 25.7-27.7 kg, the average economic efficiency of milk production was 714-744 rubles per day per cow. Cows assigned to groups C (subclinical or clinical forms of active mastitis) and revealed as D (chronic mastitis) had the milk component traits superior to other groups with a relatively lower daily milk yield. Animals with high SCC values as well as with a chronic form of mastitis were most susceptible to metabolic disorders or ketosis, regardless of DSCC. An increase in the fat percentage in milk by 0.18-0.37 % ($p \leq 0.001$) for animals with SCC \geq 1001 thousand cells per ml led to rise the share of saturated FA by 1.1-1.4 percentage points (p.p.), palmitic FA — by 0.4-1.2 p.p., medium-chain FA — by 1.0-1.4 p.p. An increase in the normalized scores of SCC by one point (limits from 1 to 10) led to a decrease in the daily milk yield by 0.6 kg, lactose percentage — by 0.062 p.p. and an increase in fat and protein by 0.090 and 0.055 p.p., respectively. Analysis of the main components revealed clear clusters for the protein and fat milk fractions, urea and fatty acids, acetone and BHB, freezing point and pH values, SCC and DSCC. A separate group included the daily milk yield and lactose percentage (together with ketone bodies) traits not related to other milk composition traits, thereby indicating the independent nature of the variability of these features. Further study of the relationship between the milk components synthesis in mammary gland and animal physiological status will make it possible to clarify the direction of selection in dairy cattle and define the genetic determination of milk production traits.

Keywords: milk, cow, somatic cell count, milk yield, fat, protein, fatty acids, acetone, BHB, mastitis, ketosis.