



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Shutterstock

Bekő Dóra¹, Póti Péter¹, Bárdos László¹, Sramek Ágnes¹, Pajor Ferenc¹

Érkezett: 2019. október – Elfogadva: 2020. április

Tőgyegészségügyi vizsgálatok egy hazai magyartarka kisgazdaságban; élelmiszerbiztonsági összefüggések

KULCSSZAVAK: nyers tehéntej, tejhigiénia, mastitis (tőgygyulladás), tej-mikrobiológia, szomatikus sejtszám, élelmiszerbiztonság

1. ÖSSZEFOGLALÁS

A vizsgálat egy Pest megyei kisgazdaságban történt, ahol magyartarka teheneket (n=20) tartanak. A teheneket naponta kétszer fejték egy három állásos fejőházban. Az állományból hasonló laktáció szakaszú és életkorú teheneket választottak ki (n=14), amelyektől a laktáció elején, közepén és végén a fejés elején a tőgynegyedekből (összesen 168 minta), majd a kifejt tőgyből (42 minta) gyűjtöttek tejmintákat. A tejmintákból (n=42) beltartalmi értékeket, szomatikus sejtszámot, valamint a tőgynegyedekből származó mintákból tőgypatogén baktériumokat határoztak meg. A patogén baktériumfajok típusa (kis- vagy nagyhatású fajok) és tőgynegyedenkénti előfordulásuk szerint a 42 tejmintát négy csoportba osztották:

- 1 – mind a négy tőgynegyed negatív;
- 2 – egy tőgynegyedben mutattak ki kishatású (minor) patogén baktériumfajokat;
- 3 – kettő-négy tőgynegyedben mutattak ki minor patogén baktériumfajokat;
- 4 – az esetszámtól függetlenül nagyhatású baktériumfajokat mutattak ki.

Megállapították, hogy a vizsgált időszakban az átlagos szomatikus sejtszám 123 ezer sejt/ml volt, valamint a tejminták 31%-ából (52 db) lehetett kimutatni tőgypatogén fajokat. Vizsgálatuk során a leggyakoribb kishatású kórokozó a koaguláz-negatív *Staphylococcus* (CNS) volt, ami a pozitív minták kétharmadában (33 db) volt jelen. A nagyhatású tőgypatogének közül a *Streptococcus uberis* (13 db), valamint a *Staphylococcus aureus* (2 db) tőgypatogéneket tudták kimutatni a 168 mintából. A nagyhatású patogén baktériumfajok akár egy tőgynegyedből történő kimutatása is nagy hatással volt az átlagos szomatikus sejtszámmra, jelentősen megnövelte azt a magyartarka tehenek tejében. A patogén és romlást okozó baktériumok elpusztítása nemcsak élelmiszerbiztonsági szempontok miatt fontos, hanem a minőségi termékek előállítására végett is kiemelkedő jelentőségű. Eredményeik szerint megfelelő higiénia mellett kisgazdaságokban is lehet kis szomatikus sejtszámú és kedvező minőségű tejet termelni.

2. Bevezetés

A tejtermelő gazdaságokban a mai napig nagy problémát jelent a tejelő tehenek tőgygyulladása, mivel ez az egyik leggyakoribb és nagy költségekkel járó betegség, így jelentős veszteség a csökkent tejár-bevétel, a selejtezés és a kezelés (pl. antibiotikum-kúra) költsége, ill. az emiatti tejmegsemmisítés tehertétele [4, 11, 16].

Hazai vizsgálatok alapján Magyarországon, telepi szinten körülbelül 106 USD (28-34 ezer Ft – Az USD árfolyama jelenleg 320 Ft körül van. A szerk.) tehenenkénti átlagos tőgyegészségügyi veszteséggel lehet számolni. Ez egy 1000 tehenet tartó telepen elérheti az évi 30 millió Ft-ot [15].

Tőgygyulladás (mastitis) kialakulásának hátterében általában valamilyen tőgypatogén baktérium

¹ SZIE Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar

áll, amely a tőgygyulladásokba kerülve elszaporodik és károsítja a szöveteket. Ha a betegség kezdetén sem a tőgygyulladás nem tapasztalható elváltozás, sem az általa termelt tej szomatikus sejtszámának növekedése nem következik be, akkor a gyulladás a szubklinikai szakaszban van. Ha *klinikai* tőgygyulladásról beszélünk, akkor megfigyelhető a tőgygyulladás hőmérsékletének emelkedése, pirossá, duzzadtá, keménnyé és érzékenyvé válik, emellett a tőgygyulladásból kinyert tejben pelyhek, csomók találhatóak, illetve a tej konzisztenciája vízszerű.

A tőgygyulladást okozó baktériumokat két csoportba sorolják, egyik az úgynevezett nagyhatású (major) tőgygyulladás, a másik csoportot az ún. kishatású (minor) tőgygyulladás baktériumok képezik [2]. A nagyhatású (major) tőgygyulladások közé sorolható a *Staphylococcus aureus*, a *Streptococcus uberis*, a *Streptococcus dysgalactiae* és az Enterobaktériumok (pl. *E. coli*). Ezek a veszélyes kórokozók a klinikai tőgygyulladás leggyakoribb kórokozói [1, 3, 12, 14]. A leggyakoribb minor tőgygyulladások a koaguláz- negatív *Staphylococcus* (röviden CNS), ill. a *Corynebacterium spp.* [19].

A szubklinikai tőgygyulladást leggyakrabban e kishatású kórokozók okozzák [9]. Mindezek alapján jól látszik, hogy a tej, ill. az abból készült tejtermékek biztonságának fontos kérdése az állatállomány higiéniai hátterének biztosítása, annak ellenőrzése. Jól ismert, hogy a kedvezőtlen minőségű tej (tőgygyulladás baktériumok jelenléte, megnövekedett szomatikus sejtszám) feldolgozhatósága nagymértékben csökken [21]. A különböző káros mikroorganizmusok elpusztítása a tej pasztörizálásával érhető el. Különböző hőkezeléseket az élelmiszer-biztonsági szemponton túl elsősorban a biztonságosabb gyártás kivitelezése céljából alkalmazzák [10].

A magyartarka szarvasmarha a hegyitarka fajtacsoportba tartozik, amely a kistenyésztés körülmények közé is beilleszthető. A magyartarka tehén súlya 600-700 kg, a bikái pedig 900-1300 kg közötti [22]. A fajta tejtermelése 5000-5500 kg, 3,9-4,1% zsírtartalommal [5]. Hazai szerzők [22] szerint a termelt tej tekintetében a magyartarkát a világfajták között a közepes teljesítményű fajták közé soroljuk. A fent említett tulajdonságok mellett a magyartarka kiváló genetikai alapokkal rendelkezik és a tenyésztők szakmai felkészültségével és elhivatottságával minden feltétel adott ahhoz, hogy a fajta a jövő kihívásainak nyertese legyen [6]. A tőgygyulladás előfordulási, gyakorisági aránya eltérő és jelentős eltéréseket mutat a kis, közepes és nagy gazdaságokban, valamint különbségek vannak fajtánként is. A nagy tejhozamú fajtákban akár 40%-os az előfordulás, míg a kis családi gazdaságokban (pl. magyar tarka esetében) kisebb (10-20%) a mastitis gyakorisága [13]. A többségben lévő holstein fríz teheneken végzett korábbi vizsgálatokban rámutattak a tőgygyulladás bakteriális szempontból történő értékelésének fontosságára, ezzel szemben a magyartarka fajtában a

tőgygyulladás baktériumok előfordulási arányairól, a baktériumoknak a tej szomatikus sejtszámra gyakorolt hatásáról kevés adat áll rendelkezésre.

3. Anyag és módszer

A vizsgálatok helyszíne egy Pest megyei (Törtel) családi gazdaság volt. A vizsgálat során gazdaságban tejlő magyartarka fajtájú teheneket (n=20) fejtek. A tehenek elhelyezésére egy 2008-ban épült 19 férőhelyes, valamint 2013-ban épült 9 férőhelyes, pihenőboxos istálló áll rendelkezésre. A tehenek fejése naponta kétszer, egy 3 állásos DeLaval fejőházban történik. A tehenek *ad libitum* lucernaszenát, réti szénát, valamint lucernaszenázást kaptak, illetve tavasztól ősz végéig a legelőre is kijárhatnak. A gazdaságban 30 ha legelő áll rendelkezésre, ebből 5 ha ősgyep, 25 ha telepített gyep. Emellett a termelő tehenek abrak-kiegészítést is kaptak darált formában (20-20%: kukorica, búza, napraforgó, árpa, tritikálé).

A vizsgálatba n=14 hasonló laktáció szakaszú és életkorú, valamint a vizsgálat alatt klinikai tőgygyulladás jeleit nem mutató teheneket választottunk ki, amelyekből a laktáció elején, közepén és végén, a fejés elején, a tőgygyulladásból külön-külön – összesen 168 mintát –, majd a teljesen kifejt tőgyből összesen 42 egyedi tejmintát gyűjtöttünk. A vizsgálatban a tőgygyulladás baktériumok típusának és előfordulási arányának összefüggéseit értékeltük az egyedi szomatikus sejtszámértékekkel, ezért nem vettünk tőgygyuladástól tejmintákat szomatikus sejtszám meghatározása céljából. A mintavételezést a befajás időpontokat követve végeztük, a vizsgálat időszakában két reggeli és egy esti fejéskor.

A mintavételek előtt a kiválasztott tehenek tőgybimbóját meleg vizes törülközővel, majd fejés előtti fertőtlenítő-kendővel kezeltük, a tőgybimbó felületén megtalálható bakteriális szennyeződések eltávolítása végett. Az első tejsugarak kifejezése után tőgygyuladástól tejmintát gyűjtöttünk, majd a fejés után a kifejt tőgyből tehenenként egy 50 ml-es tégelybe egyedi tejmintákat gyűjtöttünk. A 10 ml-es tejmintákból felületi szélesztési módszerrel a tőgygyulladást előidéző baktériumfajok [többek közt CNS (koaguláz-negatív *Staphylococcusok*); *Corynebacterium sp.*; *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus uberis*] kimutatását végeztük el az Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. gödöllői laboratóriumában. Az 50 ml-es tejmintából tejszírt, tejfehérjét, tejcukrot, pH-értéket, elektromos vezetőképességet mértünk és szomatikus sejtszámot határoztunk meg. A tej összetételének (szárazanyag, tejfehérje, tejszír, tejcukor) vizsgálatát LactoScope™ készülékkel (Delta Instruments Ltd., Netherlands) végeztük. A tej pH-értékét és elektromos vezetőképességét (EC600, Extech Instruments Ltd., USA) műszerrel mértük. A szomatikus sejtszámot MT-05 típusú szomatikus sejtszámmérő eszközzel határoztuk meg. A három mintavétel időszakában a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet Kft. Nyerstej Minősítő Laboratóriuma

(Budapest) által vizsgált elegyitejek összes mikroba-szám adatait is felhasználtuk.

A tőgygyulladás baktériumfajok típusának (kis- vagy nagyhatású fajok) és tőgygyuladástól tejminták (42 minta) szomatikus sejtszámának alakulására. A kimutatott tőgygyulladás baktériumfajok típusa és előfordulása szerint négy kategóriát alakítottunk ki:

1. Mind a négy tőgygyuladástól tejminták negatív, azaz nem mutattunk ki semmilyen tőgygyuladástól tejminták baktériumfaját,
2. Egy tőgygyuladástól tejmintákban mutattunk ki kishatású (minor) tőgygyuladástól tejminták baktériumfaját,
3. Kettő, három vagy négy tőgygyuladástól tejmintákban mutattunk ki kishatású (minor) tőgygyuladástól tejminták baktériumfaját,
4. Esetszámtól függetlenül nagyhatású tőgygyuladástól tejminták baktériumfaját mutattunk ki.

Az adatok statisztikai kiértékelését az SPSS 23.0 programcsomaggal végeztük (normalitás és homogenitás vizsgálat). Az adatok normalitás vizsgálatát Kolmogorov-Smirnov teszttel végeztük el. Megállapítottuk, hogy a szomatikus sejtszámértékek nem mutattak normáloszlást, ezért ezeket az adatokat logaritmizáltuk a további statisztikai vizsgálatok elvégzése érdekében. Majd parametrikus tesztekkel végeztünk a vizsgálatuk során. A tőgygyuladástól tejminták alapján kialakított csoportok között ANOVA és Chi² tesztet végeztünk. A csoportok közötti elemszám-különbség miatt a Tukey post hoc tesztet alkalmaztuk.

4. Eredmények

A tejminták beltartalmi értékeit, az elektromos vezetőképességet, pH-t, szomatikus sejtszámot, valamint az elegyitej összcsíraszámát az **1. táblázatban** foglaltuk össze.

1. táblázat. Beltartalmi értékek, elektromos vezetőképesség, pH, szomatikus sejtszám és összcsíraszám alakulása a mérések során
Table 1. Mean values of the chemical composition, conductivity, pH, somatic cell number and total plate count parameters during sampling period

Mért jellemzők Measured characteristics	1. mérés Measure 1.	2. mérés Measure 2.	3. mérés Measure 3.	Átlag Average
Zsír % / Fat %	3.75±1.26	3.97±1.26	3.59±1.20	3.77±1.05
Fehérje % / Protein %	3.09±0.25	3.21±0.24	3.31±0.30	3.20±0.27
Tejcukor % / Lactose %	4.97±0.18	4.84±0.18	4.75±0.17	4.86±0.20
Szárazanyag % / Dry material %	10.96±0.84	10.96±0.85	10.76±0.73	10.88±0.79
Elektromos vezetőképesség mS/cm Electrical conduction mS/cm	4.79±0.29	4.97±0.38	5.23±0.28	4.99±0.36
pH	6.67±0.05	6.62±0.05	6.65±0.04	6.65±0.05
Szomatikus sejtszám ezer sejt/ml Somatic cell count thousand cells/ml	82.00±12.07	171.00±368.34	116.69±28.60	122.39±209.46
Összes csíraszám ezer sejt/ml Total mesophilic germ count thousand cells/ml	12	13	9	11.33±2.08

Több szerző [17] szerint a tej beltartalmi értékei és mikrobiológiai állapota döntően befolyásolja a tej feldolgozhatóságát és az ebből származó termékek minőségét. A mikrobiológiai minőség esetén a szomatikus sejtszám és a mikrobaszám szigorú kritérium, hiszen ezek a paraméterek nagy hatással vannak a nyers tej feldolgozhatóságára. A 853/2004/EK rendelet III. melléklet, IX. szakasz, III. fejezetének [23] nyers tejjel vonatkozó kritériumai szerint, a nyers tehéntej megengedhető legmagasabb összcsíraszám 100 000 sejt/ml, valamint szomatikus sejtszáma nem haladhatja meg a 400 000 sejt/ml-t. Eredményeinkből megállapítható, hogy mindhárom mérés során a nyerstej-minták megfeleltek a fenti követelményeknek, sőt a vizsgálat során mért szomatikus sejtszám és az összes csíraszám-érték kedvező volt. Ez előnyös a tej feldolgozása során, mivel a nagy összcsíraszámú tejből alapvetően jó minőségű tejtermékek nem, vagy csak bonyolult technológiai lépések sorozatával állíthatók elő.

A tejminták tőgygyuladástól tejminták előfordulásának számát és arányát a **2. táblázat** foglalja össze.

A vizsgálatunk során 116 negatív mintát találtunk, amelyek átlagos aránya közel 70% volt. Egyébiránt azt tapasztaltuk, hogy a laktáció előrehaladtával a pozitív minták száma és aránya megnövekedett, a kezdeti 23%-ról (13 db) 39%-ra (22 db). A vizsgált időszakra vetített átlag 31% volt. Az eredményül kapott arány kedvező, összehasonlítva olyan, korábbi eredményekkel [8], ahol a szerzők csehtarka állományban végzett vizsgálataikban a pozitív minták aránya 27% volt. Ugyanebben a vizsgálatban a holstein fríz állományból származó tejminták 42%-a volt pozitív. Más szerzők [18] hasonló 33,5%, megint mások [7] ennél nagyobb értékeket találtak (61-78%).

Veszélyes tőgygyuladástól tejminták, mint pl. *S. uberis* és *S. aureus* csak 16 mintából mutattunk ki. Nagyhatású tőgygyuladástól tejminták közül 13 mintában volt jelen a *Streptococcus uberis*, ez a pozitív minták egynegyedét jelentette. Amíg két mintában volt jelen a

Staphylococcus aureus (3,8%). Egy minta esetében mindkét nagyhatású kórokozó jelen volt, ez az összes pozitív mintának 1,9%-a. Az összes nagyhatású tőgypatogén a pozitív mintákon belül 30,8%-ot, a 168 mintához viszonyítva pedig 9,5%-ot tett ki. Korábbi vizsgálatokban is a *Streptococcus uberis* és a *Staphylococcus aureus* tőgypatogén baktériumokat mutatták ki a szerzők [8]. Ezen tőgypatogén baktériumok élelmiszer-biztonsági kockázatot jelentenek, a kórokozók elpusztítása céljából fontos a megfelelő hőkezelési eljárás alkalmazása.

Vizsgálataink eredményei szerint a leggyakoribb kishatású tőgypatogén baktérium a koaguláz-negatív *Staphylococcus* (CNS) volt, hasonlóan a korábbi vizsgálatokhoz [8, 9]. Ez a kórokozó 33 mintában volt jelen, ami a pozitív minták 63,5%-át jelentette és az összes mintának 19,6%-át tette ki. Továbbá 3 mintában egyéb, kisebb jelentőségű kórokozót találtunk (5,7%).

További vizsgálatunkban a 14 tehéntől 3 alkalommal vett tejmintát 4 csoportra bontottuk a kimutatott tőgypatogén baktériumfajok típusa (minor vs. major) és tőgynegyedenkénti előfordulása alapján. A különböző tőgypatogén baktérium-kategóriák és a tej szomatikus sejtszáma között kerestünk összefüggéseket. Az eredményeket a 3. táblázat foglalja össze. A táblázat alapján a negatív mintákban, valamint a kishatású (minor) tőgypatogén baktériumok előfordulása esetén a tehéntej szomatikus sejtszámban, ill. a 100 ezer sejt feletti minták arányában nem volt eltérés. Legkevesebb szomatikus sejtszámot (4,92, 4,92 és 4,90 log db/ml) az 1, a 2 és a 3 csoportokba került tehének tejmintáiban mértünk. 0, 1, illetve 2-4 tőgynegyedben voltak kimutatható minor tőgypatogén baktériumok. A 100 ezer feletti szomatikus sejt-

számú minták aránya is alacsony volt, 21-30% között változott. Amennyiben a teheneiktől vett tejmintákból kimutatható volt nagyhatású (major) tőgypatogén baktériumfaj (4. csoport), az jelentősen megnövelte a tej szomatikus sejtszámát (5,15 log db/ml), valamint a 100 ezer sejt feletti minták arányát (60%).

A fentebb leírtakból következik, hogy a kishatású tőgypatogének normál tartási, takarmányozási és higiéniai viszonyok mellett a magyartarka esetében nem okoznak számottevő állategészségügyi kockázatot, illetve gazdasági kárt, viszont kedvezőtlen körülmények hatására fogékonyabbá tehetik a tőgyet a nagyhatású tőgypatogén baktériumok elszaporodása iránt. A patogén és romlást okozó baktériumokat tartalmazó tejből jó minőségű termék nem állítható elő. Ezért az egészségügyi és ezen keresztül az élelmiszerbiztonsági kockázatokat a feldolgozók jellemző módon pasztörözéssel csökkentik. A pasztörözést azonban úgy kell végezni, hogy az alkalmazott hőkezeléssel a tej eredeti jellege és tulajdonságai jelentősen ne változzanak. Ez a tejfeldolgozási technológia szigorú felügyeletét követeli meg.

A 4. táblázatban a nagyhatású tőgypatogén előfordulása előtti minták állapotát mutatjuk be. Az általunk vizsgált állomány főleg a takarmányok jellege miatt nem minősült organikus (bio) gazdaságnak, de összehasonlításként megemlíthető, hogy a szintén kisebb állományokat tartó európai organikus farmokban a tőgyegészségügyi állapot kedvezőbb a nagyüzemenél a diagnózis, a kezelés és annak hatékonysága területén is. Bár az összehasonlítás kritériumai nem teljesen azonosak, ez is rámutat arra, hogy gazdasági szempontból is megtérül, ha az állattartók kiemelt figyelmet szentelnek az állatok egészségi állapotára [20].

2. táblázat. A három mérés időszakában előforduló tőgypatogén baktériumok*
Table 2. Presence of udder pathogen bacteria at the three sampling period*

Baktériumfajok Bacterial species	1. mérés Measure 1.		2. mérés Measure 2.		3. mérés Measure 3.		Összesen Total	
	db	%	db	%	db	%	db	%
Negatív / Negative	43	77	39	70	34	61	116	69
Pozitív / Positive	13	23	17	30	22	39	52	31
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	2	9.1 (3.5)	2	3.8 (1.2)
<i>Streptococcus uberis</i>	2	15.3 (3.5)	5	29.3 (8.8)	6	27.2 (10.6)	13	25 (7.7)
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus uberis</i>	0	0	0	0	1	4.5 (1.8)	1	1.9 (0.6)
Összes nagyhatású tőgypatogén baktérium All high potency udder pathogenic bacteria	2	15.3 (3.5)	5	29.4 (8.9)	9	40.9 (16)	16	30.8 (9.5)
CNS	10	77 (17.8)	10	58.7 (17.8)	13	59.1 (23)	33	63.5 (19.6)
Egyéb kórokozók Other pathogenes	1	7.7 (1.7)	2	11.7 (3.5)	0	0	3	5.7 (1.8)

*A zárójeles értékek az összes mintaszámra vetített arányt mutatják.

*The numbers in brackets concern to the total values of sample

CNS= koaguláz-negatív *Staphylococcus* / CNS= Coagulase-negative *Staphylococcus*

Az olyan tejmintákban, amelyekben nem fordult elő minor tőgypatogén baktérium, a későbbi mintavétel során kisebb arányban találtunk nagyhatású tőgypatogén baktériumot. Amennyiben azonban az előző mintavétel során vett mintákban kishatású tőgypatogén baktériumok voltak jelen, úgy a következő mintavételkor már nagyobb arányban találtunk nagyhatású kórokozót is. Bár a kishatású tőgypatogének nem okoznak nagymérvű tejhigiéniai és egészségügyi kockázatot, de növelhetik az esélyét a későbbi nagyhatású tőgypatogén baktériumok megjelenésének, elszaporodásának, és növelhetik a tőgyegészségügyi kezelések költségét és az alapanyag élelmiszer-biztonsági kockázatát.

5. Következtetések

Eredményeink alapján a negatív minták esetében, valamint a kishatású tőgypatogén baktériumok előfordulásakor mértük a legkisebb szomatikus sejtszám-értékeket. Ha azonban nagyhatású tőgypatogén baktériumfajokat is kimutattunk, azokkal párhuzamosan a tejminták szomatikus sejtszáma ugrásszerűen megemelkedett. A fakultatív tőgypatogén baktériumok jelenléte a tőgyegészség romlását

3. táblázat. Tőgypatogén baktériumok előfordulásának és típusának hatása a tej szomatikus sejtszámára
Table 3. Effect of numbers and type of udder pathogenic bacteria on the somatic cell counts

Kategória Category	n	Átlag (log db/ml) Average (log db/ml)	Szórás Standard deviation	100 ezer feletti sejt/ ml arány (%) Above 100 thousands cell/ml ratio (%)
1	14	4.92a	0.1	21a
2	10	4.92	0.13	30a
3	8	4.9	0.09	25a
4	10	5.15b	0.38	60b

Magyarázat: 1: negatív; 2: minor tőgypatogén egy tőgynegyedben; 3: minor tőgypatogén 2-4 tőgynegyedben; 4: major tőgypatogén; ab=P <0,05

Explanation: 1: negative; 2: minor pathogen in one quarter; 3: minor pathogen in 2 or 4 quarters; 4: major pathogens; ab=P<0.05

4. táblázat. Nagyhatású tőgypatogének előfordulása a korábbi bakteriológiai eredmény alapján
Table 4. Major udder pathogen pattern (%) in relation to results of previous bacteriology investigation

Kód / Code	%	95% konfidencia intervallum (%) 95% range of confidence (%)
0	36	24-46
1	64	54-74
P	<0.001	

Megjegyzés: 0= az előző mintavételnél nem volt tőgypatogén baktérium a mintában; 1= az előző mintavételnél volt kishatású tőgypatogén baktérium a mintában.

Remark: 0= no udder pathogenic bacterium in the previous sample; 1= there were minor pathogens in the previous sample.

Dóra Bekő¹, Péter Póti¹, László Bárdos¹, Ágnes Sramek¹, Ferenc Pajor¹

Received: October 2019 – Accepted: April 2020

Udder health investigations in a Hungarian Fleckvieh small-scale herd, related to food safety

KEYWORDS: raw cow milk, milk hygiene, mastitis, milk microbiology, somatic cell number, food safety

1. SUMMARY

Data about the presence of pathogenic bacteria in the udders of Hungarian Fleckvieh cows and about their milk quality parameters is fairly lacking. The aim of this research was to evaluate the prevalence of mastitis pathogens in Hungarian Fleckvieh milk. This study was carried out in a small-scale (n=20) dairy farm in Pest county, Hungary. The cows were milked twice a day in a milking parlor with three stalls. Milk samples were taken from cows at similar stages of lactation and of similar age (n=14) three times during the lactation (beginning, midpoint and end of lactation) from udder quarters (n=168) at the beginning of milking for analyzing pathogenic udder bacteria, and from fully milked udders (n=42) for analyzing milk composition and somatic cell count. The 42 milk samples were divided into four groups by the type (minor or major) and prevalence of the pathogenic bacteria by udder quarter:

- 1 – all four udder quarters negative;
- 2 – minor pathogenic bacterial species in one udder quarter;
- 3 – minor pathogenic bacterial species in two, three or four udder quarters;
- 4 – major pathogenic bacterial species detected regardless of the case count.

It was determined that the mean somatic cell count was 123 thousand cells/ml, moreover pathogenic udder bacterial species have been found in 31% (n=52) of the milk samples. In the investigation the mastitis pathogen most frequently encountered was coagulase-negative *Staphylococcus* (CNS), which was present in two thirds of the positive samples (n=33). Of the major udder pathogens, *Streptococcus uberis* (n=13) and *Staphylococcus aureus* (n=2) were detected in the 168 samples. When major pathogenic bacterial species were detected even in one udder quarter, it significantly affected the mean somatic cell count of the milk of Fleckvieh cows. The elimination of pathogenic and spoilage bacteria is important not only from a food safety point of view, but it is also of paramount importance for the production of high quality milk products. Based on our results, milk with a low somatic cell count and of favorable quality can be produced when compliance with appropriate hygienic practice is ensured under small-scale farm management conditions.

2. Introduction

To date, mastitis in dairy cows is a major problem in dairy farms, as it is one of the most common and costly diseases, resulting in significant losses due to reduced income from the sale of milk, the cost of culling and treatment (e.g. courses of antibiotics), or the burden of milk dumping because of it [4, 11, 16].

Based on domestic studies, in Hungary the average udder health loss per cow is approximately USD 105.9 (HUF 28,000-29,000 – Today this sum is approximately 34,000 HUF. The Editor.). On a farm with 1,000 cows, this could be as much as HUF 30 million per year [15].

The development of mastitis is usually caused by some kind of pathogenic udder bacterium that multiplies and damages the tissues when entering the udder quarters. If, at the onset of the disease, there is no change in the udder quarter and there is no increase in the somatic cell count of the milk produced by it, then the inflammation is in the subclinical stage. When we are talking about a *clinical* mastitis, an increase in the temperature of the udder quarter can be observed, it becomes red, swollen, hard and sensitive and, in addition, the milk extracted from the udder quarter contains flakes or lumps, and the consistency of the milk becomes water-like.

Bacteria that cause mastitis are divided into two groups, one of which is the so-called major udder pathogens, while the other group is the so-called minor udder pathogenic bacteria [2]. Major udder pathogens include *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* and Enterobacteria (e.g., *E. coli*). These dangerous pathogens are the most common causes of clinical mastitis [1, 3, 12, 14]. The most common udder pathogens are coagulase-negative *Staphylococcus* (CNS, in short) and *Corynebacterium* spp. [19].

Subclinical mastitis is most often caused by these minor pathogens [9]. Based on all this, it is clear that providing the hygiene background of the livestock and its control are important issues from the point of view of the safety of milk and the dairy products made from it. It is well known that the processability of poor quality milk (presence of udder pathogenic bacteria, increased somatic cell count) is greatly reduced [21]. The destruction of various harmful microorganisms can be achieved by the pasteurization of milk. In addition to food safety considerations, various heat treatments are also used to achieve safer production [10].

The Fleckvieh is a breed of cattle originating from cross-breeding of Central European stocks with Simmental cattle, and it can be integrated into small farm conditions. The weight of the Fleckvieh cow is 600-700 kg, and that of the bull is 900-1,300 kg [22]. Annual milk production of the breed is 5,000-5,500 kg, with a fat content of 3.9 to 4.1% [5]. According to Hungarian authors [22], in terms of the amount of milk produced, Fleckvieh is classified as a medium-performing breed among all world breeds. In addition to the above-mentioned traits, the Fleckvieh has excellent genetic characteristics, and with the professionalism and commitment of the breeders, all the conditions are in place for the breed to be the winner of the challenges of the future [6]. The incidence and frequency of mastitis vary and show significant differences in small, medium and large farms, and there are also differences between the breeds. In high yielding breeds, the incidence is as high as 40%, while in small family farms (e.g., in the case of the Fleckvieh) mastitis occurs less frequently (10-20%) [13]. Previous studies, using the majority Holstein

Friesian cows, have shown the importance of evaluating udder health from a bacterial point of view, whereas very little data are available on the prevalence of udder pathogenic bacteria in the Fleckvieh breed and on the effect of the bacteria on the somatic cell count.

3. Materials and methods

The location of the study was a family farm in Pest county (Törtel). In the course of the investigation, Fleckvieh cows (n=20) were milked on the farm. There were two barns to accommodate the cows: one with 19 stalls, built in 2008, the other one with 9 stalls, built in 2013. The cows were milked twice a day, in a DeLaval milking parlor with 3 stalls. The cows were fed alfalfa hay, meadow hay and alfalfa haylage *ad libitum*, and could also graze from spring to late autumn. The farm has 30 hectares of pasture, 5 hectares of which is native grassland and 25 hectares is planted grassland. In addition, dairy cows also received feed supplements in a ground form (20% each of corn, wheat, sunflower, barley and triticale).

Cows (n=14) with similar lactation stages and ages, and not showing the signs of clinical mastitis during the investigation were selected for the study, from which a total of 168 samples were collected at the beginning, middle and end of the lactation period, from the udder quarters separately, with an additional 42 individual milk samples collected from fully milked udders. In the study, the correlations between the types and incidence of udder pathogenic bacteria were evaluated using the individual somatic cell count values, therefore, milk samples were not taken from each udder quarter to determine the somatic cell count. Sampling was performed by following the milking times, during the two morning and one evening milking in the course of the study period.

Prior to sampling, the teats of the selected cows were treated with a warm water cloth and then, before milking, with a disinfectant wipe to remove bacterial contaminants from the teat surfaces. After draining the first jet of milk, individual milk samples were collected from each udder quarter in 10 ml jars and from each milked udder in a 50 ml jar for each cow after milking. Bacterial species causing mastitis [including CNS (coagulase-negative *Staphylococcus*); *Corynebacterium* sp.; *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus uberis*] were detected in the 10 ml samples by the surface spreading method in the Gödöllő laboratory of the Animal Breeding Performance Testing Kft. In the 50 ml milk samples, milk fat, milk protein, lactose, pH value and electrical conductivity were measured, and the somatic cell count was determined. The composition of milk (dry matter, milk protein, milk fat, lactose) was analyzed using a LactoScope™ (Delta Instruments Ltd., Netherlands) instrument. The pH value and electrical conductivity of milk were measured by an EC600 (Extech Instruments Ltd., USA) instrument. Somatic cell count

¹ Szent István University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences

was determined using an MT-05 somatic cell count device. During the three sampling periods, the total plate count data of the Budapest Raw Milk Qualification Laboratory of the Hungarian Milk Research Institute Kft. were also used.

The effect of the type of udder pathogenic bacterial species (minor or major species) and their incidence by udder quarter on the somatic cell count of the individual milk samples (n=42) of the cows were evaluated. Four categories were defined according to the type and occurrence of the udder pathogenic bacterial species detected:

1. All four udder quarters are negative, i.e., no udder pathogenic bacterial species were detected,
2. A minor udder pathogenic bacterial species was detected in one udder quarter,
3. Minor udder pathogenic bacterial species were detected in two, three or four udder quarters,
4. Major udder pathogenic bacterial species were detected, regardless of the case count.

Statistical evaluation of the data was performed with the SPSS 23.0 software package (normality and homogeneity test). The normality analysis of the data was carried out using the Kolmogorov-Smirnov test. It was found that somatic cell count values did not show a normal distribution, so these data were logarithmized in order to be able to perform further statistical studies. Then parametric tests were performed during their study. ANOVA and Chi² tests were performed between the groups formed on the basis of udder pathogenic bacteria. Due to the difference in the number of items between the groups, the Tukey post hoc test was used.

4. Results

The nutritional value, electrical conductivity, pH, somatic cell count and the total plate count of the mixed milk are summarized in **Table 1**.

According to several authors [17], the nutritional values of milk and its microbiological condition have a decisive influence on the processability of milk and the dairy products made from it. In the case of microbiological quality, somatic cell count and plate are strict criteria, as these parameters have a large impact on the processability of raw milk. According to the criteria of Chapter I of Section IX of Annex III of Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council for raw milk, the maximum total plate count of raw cow's milk shall not exceed 100,000 cells/ml, and the somatic cell count shall not exceed 400,000 cells/ml. Our results show that, during all three measurements, the raw milk samples met the above requirements, moreover, the somatic cell count and total plate count values measured in

the course of the study were favorable. This is advantageous in the processing of milk, since good quality dairy products basically cannot be produced from milk with a high total plate count, or only with a series of complicated technological steps.

The number and proportion of udder pathogenic bacteria in the milk samples are summarized in **Table 2**.

In our study, 116 negative samples were found, the average rate of which was thus nearly 70%. Furthermore, it was found that the number and proportion of positive samples increased from the initial 23% (n=13) to 39% (n=22) as lactation progressed. The average value for the period investigated was 31%. The resulting ratio is favorable compared to previous results [8], where the proportion of positive samples was 27% in a study carried out by the authors with Czech Fleckvieh cows. In the same study, 42% of milk samples from a Holstein Friesian herd were positive. Some authors found similar (33.5%) values [18], while others [7] found higher values (61-78%).

Dangerous udder pathogens such as *S. uberis* and *S. aureus* were detected only in 16 samples. Of major udder pathogenic bacteria, *Streptococcus uberis* was present in 13 samples, representing a quarter of the positive samples. *Staphylococcus aureus* was present in two samples (3.8%). Both major pathogens were present in one sample, representing 1.9% of all positive samples. The total major udder pathogens accounted for 30.8% of the positive samples and 9.5% of the 168 total samples. In previous studies, it was also the *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* udder pathogenic bacteria that were detected by the authors [8]. These udder pathogenic bacteria pose a food safety risk, so it is important to use an appropriate heat treatment procedure to kill the pathogens.

According to the results of our investigations, the most common minor udder pathogenic bacterium was coagulase-negative *Staphylococcus* (CNS), similarly to previous studies [8, 9]. This pathogen was present in 33 samples, representing 63.5% of the positive samples and 19.6% of the total samples. In addition, other pathogens of less significance were found in 3 samples (5.7%).

In our further study, milk samples taken three times from 14 cows were divided into 4 groups based on the type of udder pathogenic bacterial species detected (minor vs. major) and their occurrence by udder quarter. Correlations were sought between the different udder pathogenic bacterium categories and the somatic cell count of the milk. The results are summarized in **Table 3**. According to the table, in the negative samples and in the case of the presence of minor udder pathogenic bacteria, there was no difference in the somatic cell count of cow's milk or in the proportion of samples with a cell count exceeding 100,000. The lowest somatic cell counts (4.92, 4.92

and 4.90 log/ml) were measured in the milk samples classified as belonging to groups 1, 2 and 3. Minor udder pathogenic bacteria could be detected in 0, 1 or 2-4 udder quarters. The proportion of samples with a somatic cell count exceeding 100,000 was also low, ranging from 21 to 30%. If a major udder pathogenic bacterial species could be detected in a sample taken from the cows (Group 4), the somatic cell count of the milk (5.15 log/ml) and the proportion of samples with a cell count exceeding 100,000 (60%) were significantly increased.

It follows from the above that, under normal housing, feeding and hygiene conditions, no significant animal health risk is posed or economic damages caused by minor udder pathogens in the case of Fleckvieh cows, however, under unfavorable conditions, they may make the udder more susceptible to the growth of major udder pathogenic bacteria. Good quality product cannot be prepared from milk that contains pathogenic or spoilage bacteria. Therefore, the risk to health and thus to food safety are typically reduced by processors through pasteurization. However, pasteurization must be carried out in such a way that the heat treatment applied does not significantly alter the original nature and characteristics of the milk. This requires strict supervision of the milk processing technology.

Table 4 shows the condition of the samples before the occurrence of major udder pathogens. The livestock examined by us did not qualify as an organic farm mainly due to the nature of the feed, but by way of comparison, it can be stated that in European organic farms that also have smaller herds, udder health conditions are more favorable than those in large plants, both in terms of diagnosis, treatment and its effectiveness. Although the criteria for comparison are not exactly the same, it still shows that it pays off economically as well if particular attention is paid by livestock keepers to the health of the animals [20].

In the milk samples in which no minor udder pathogenic bacteria were present, a smaller proportion of major pathogenic bacteria was found during the subsequent sampling. However, if minor udder pathogenic bacteria were present in the samples taken previously, then a higher proportion of major pathogens were found during the subsequent sampling. Although no significant dairy hygiene and health risk is posed by minor udder pathogens, they can increase the chances of subsequent appearance and growth of major udder pathogenic bacteria, as well as the cost of udder health treatments and the food safety risk of the raw material.

5. Conclusions

Based on our results it can be stated that the lowest somatic cell count values were measured in the case of negative samples and in the presence of minor ud-

der pathogenic bacteria. However, when major udder pathogenic bacterial species were also detected, the somatic cell count of the milk samples increased dramatically in parallel. The presence of facultative udder pathogenic bacteria means a deterioration in udder health, as it can make the udder more susceptible and major udder pathogenic bacteria, which can also cause severe udder diseases, can more easily proliferate. Such milk lots significantly impair the financial performance of dairy farms, make it more difficult, or even impossible, to process raw milk in the food industry, and they pose a food safety risk to the consumers of the milk and dairy products.

6. Acknowledgement

This publication was supported by the project EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008. The project was supported by the European Union and co-financed by the European Social Fund.

7. References

- [1] Barkema, H.W., Schukken, Y.H., Zadoks, R.N. (2006): Invited review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Dairy Sci.*, 89. p. 1877-1895.
- [2] Biró G. (2014): Élelmiszer- higiénia, Tőgygyulladást okozó, kórokozó baktériumok http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_533_ElelmiszerHigienia/ch02s05.html (utolsó letöltés: 2016. 10. 26.)
- [3] Breen, J.E., Green, M.J., Bradley, A.J. (2009): Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. *J. Dairy Sci.*, 92. p. 2551-2561.
- [4] Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., Hogeveen, H. (2007): Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Vet. Q.*, 29. p. 18-31.
- [5] Holló I., Szabó F. (2011): Szarvasmarhatechnológia http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0059_szarvasmarha_tenyesztetes/ch04.html (utolsó letöltés: 2016. 10. 28.)
- [6] Húth B. (2016): A magyartarka tenyésztők válasza napjaink kihívásaira. In: *Kistermelők Lapja*, 11. p. 16 - 17.
- [7] Kalmus, P., Aasmäe, B., Kärssin, A., Orro, T. Kask, K. (2011): Udder pathogens and their resistance to antimicrobial agents in dairy cows in Estonia. *Acta Vet. Scand.*, 53. p. 1-7.
- [8] Klimesova-Vyletelova, M., Dufek, A., Nemeczkova, I., Horacek, J., Ponizil, A., Nejeschlebova, L. (2014): *Staphylococcus aureus* and other pathogens in relation to breed of cattle and somatic cell count. *Bulg. J. Agri. Sci.*, 20. p. 1477-1482.

- [9] Koivula, M., Pitkälä, A., Pyörälä, S., Mäntysari, E.A. (2007): Distribution of bacteria and seasonal and regional effects in a new database for mastitis pathogens in Finland. *Acta Agric. Scand. A Anim. Sci.*, 57. p. 89–96.
- [10] Korzenszky P., Kovács Á, Meixner R., Pettó Cs. (2017): A tej hőkezelésének élelmiszer-biztonsági és energetikai vizsgálata. *Élelmiszervizsg. Közl.*, 63. 3. p. 1680-1691.
- [11] Kovács P., Tibold J., Ózsvári L. (2015): A *Staphylococcus aureus* tőgygyulladás elleni védekezés egy nagyüzemi holstein-fríz állományban és a fertőzés gazdasági hatásai. *Magy. Áo. Lapja*, 137. p. 707-718.
- [12] Levison, L.J., Miller-Cushon, E.K., Tucker, A.L., Bergeron, R., Leslie, K.E., Barkema, H.W., Devries, T.J. (2016): Incidence rate of pathogen-specific clinical mastitis on conventional and organic Canadian dairy farms. *J. Dairy Sci.*, 99. p. 1341–1350.
- [13] Németh A., Sensen M.: Tőgygyulladás gyógyítása csírákkal *Biokultúra 2013/3* www.biokontroll.hu/togygyulladas-gyogytasa-csirakkal
- [14] Olde Riekerink, R.G., Barkema, H.W., Kelton, D.F., Scholl, D.T. (2009): Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. *J. Dairy Sci.*, 91. p. 1366–1377.
- [15] Ózsvári L., György K., Illés B.Cs., Bíró O. (2003): A tőgygyulladás által okozott gazdasági veszteségek számszerűsítése egy nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben. *Magy. Áo. Lapja*, 125. p. 273-279.
- [16] Ózsvári L., Muntyán J., Filipisz I. (2016): A staphylococcusok és az *E. coli* által okozott tőgygyulladás elleni vakcinás védekezés termelési tapasztalatai és gazdasági megtérülése egy hazai nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben. *Magy. Áo. Lapja*, 138. p. 195-206.
- [17] Peles F., Máthéné Sz.Zs., Béri B., Szabó A. (2008): A tartástechnológia hatása a nyers tej mikrobiológiai állapotára. *Agrártudományi Közlemények, Debrecen*, 31. p. 67-75.
- [18] Pitkälä, A., Haveri, M., Pyörälä, S., Mylly, V., Honkanen-Buzalski, T. (2004): Bovine mastitis in Finland 2001 - prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J. Dairy Sci.* 87. p. 2433–2441.
- [19] Reyher, K.K., Dohoo, I.R., Scholl, D.T., Keefe, G.P. (2012): Evaluation of minor pathogen intramammary infection, susceptibility parameters, and somatic cell counts on the development of new intramammary infections with major mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.*, 95. p. 3766 – 3780.
- [20] Ruegg PL. (2009): Management of mastitis on organic and conventional dairy farms. *J Anim Sci.*, 87. (13 Suppl) p. 43-55.
- [21] Ryhanen E.L., Tallavaara K., Griinari J.M., Jaakkola S., Mantere-Alhonen S., Shingfield K.J. (2005): Production of conjugated linoleic acid enriched milk and dairy products from cows receiving grass silage supplemented with a cereal-based concentrate containing rapeseed oil. *Intern. Dairy J.* 15. p. 207-217.
- [22] Stefler J. (2014): A magyartarka kialakulásának kezdetei, In: Stefler J., A magyartarka tenyésztése, *Magyartarka Tenyésztők Egyesülete*, p. 26.
- [23] 853/2004/EC (2004): Laying down specific hygiene rules for food of animal origin (EU Regulation). Annex III, Section IX, Chapter I / III. 3.(b) p. 66.

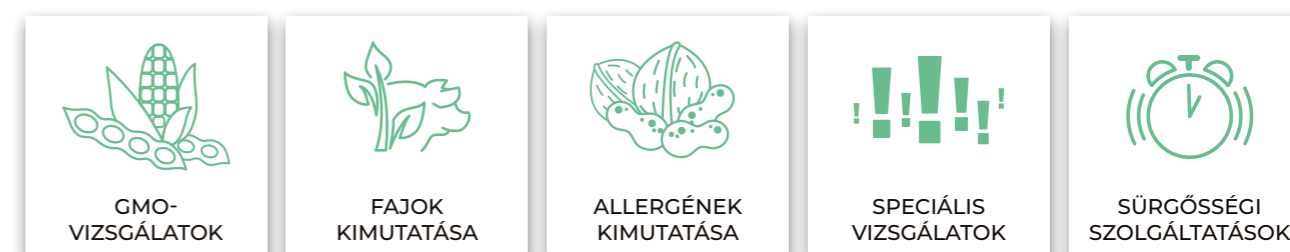
A MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI LABORATÓRIUM

ÜGYFELEINK SZOLGÁLTATÁBAN 2005 ÓTA

BIOMI: A GMO-VIZSGÁLATOK SPECIALISTÁJA

A Biomi Kft. a WESSLING cégcsoport biotechnológiai és molekuláris biológiai szolgáltató vállalkozása. Szakértelmünkkel 15 éve szolgáljuk partnereinket, hogy kérdéseikre gyors, pontos és megbízható válaszokat kapjanak.

AKKREDITÁLT SZOLGÁLTATÁSOK



GENOMIKAI SZOLGÁLTATÁSOK



BIOMI KFT.

2100 Gödöllő, Szent-Györgyi Albert u. 4.
Tel: +36 28 526 148 | e-mail: biomi@biomi.hu

Megújult honlapunk:

BIOMI.HU