

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.
Тимирязева»
(ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева)

На правах рукописи

Сиднев Никита Юрьевич

**Совершенствование диагностики и терапия маститов у лактирующих коров
в условиях интенсивного производства**

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и
токсикология.

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель –
доктор ветеринарных наук,
профессор Федотов Сергей
Васильевич

Москва 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1. Диагностика маститов у коров	11
1.1 Диагностика воспаления молочной железы приборными методами	11
1.1.2 Общие показатели и маркеры мастита	12
1.1.3 Использование физико – химических маркеров для диагностики	12
1.1.4 Подсчет количества соматических клеток.	13
1.1.5. Калифорнийский тест на мастит	14
1.1.6 Автоматическая цифровая диагностика	15
1.1.7 Инфракрасная термография	15
1.1.8 Современные сенсорные системы для диагностики маститов	16
1.1.9 Протеомные и специфические тесты для диагностики мастита	18
1.1.10 Биомаркеры, специфичные для мастита.	23
1.2 Лечение и профилактика маститов	26
1.2.1 Терапия с растительными препаратами	30
1.2.2. Разработка вакцин	32
1.2.3 Влияние доильных аппаратов и управление доением	34
1.2.4 Экономические критерии	36
1.2.5. Лекарственные препараты	37
1.3 Заключение по обзору литературы	39
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	41
3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	48
3.1 Определение предрасположенности коров к маститам с использованием УЗИ – диагностики	48
3.2 Определение терапевтической эффективности препарата «АНТИМАСТ №13»	58
3.3 Совершенствование профилактики субклинического мастита при использовании препарата «Антимаст 13».	57
3.4 Определение терапевтической эффективности препарата «Антимаст №1»	71
3.5 Отработка новых маркеров (уровень NO) для диагностики субклинических маститов	85
3.6 Экономическая эффективность применения препарата «Антимаст №13»	96
3.7 Обсуждение собственных результатов	99
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	107
5. ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ	109
6. ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ	110
7. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	110
8. ПРИЛОЖЕНИЯ	134

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В настоящее время молочная промышленность – это многомиллиардная отрасль, удовлетворяющая потребности в питании всё население нашей планеты, а также приносящая доход мелким фермерам и крупным молочно – производственным холдингам.

Молочная железа крупного рогатого скота является необыкновенным органом, который способен вырабатывать более 3000 килограмм молока за полный цикл лактации и соответственно такой орган требует к себе повышенного внимания, не допуская заболеваний, которые могут привести к прекращению лактации временно или вовсе. Таким заболеванием может оказаться мастит, который вызывает резкое снижение количества молока в производстве и напрямую влияет на доходы за счет: снижения выработки молока, снижения качества молока, потери стоимости животных, закупок лекарственных препаратов для лечения, риска выбраковки животных, и даже гибели животных. Экономический ущерб для мировой молочной промышленности составляет приблизительно 7 миллиардов долларов в год. (Rathaur A., Bhatshwar V., 2020; Televičius M., Juozaitiene V., Malašauskienė D., Antanaitis R., Rutkauskas A., Urbutis M., Baumgartner W. Inline, 2021; Hashem Y. A., Abdelrahman K. A., Aziz R. K., 2021).

Мастит крупного рогатого скота – это воспаление молочной железы, которое вызывает физические, химические и бактериологические изменения в молоке, а также патологические изменения в железистых тканях вымени, которые влияют на качество и количество молока. Клинический мастит диагностируется по выраженным внешним клиническим проявлениям, таким как: покраснение, жжение, отечность молочной железы. И наличие примесей в самом молоке таких как: кровь, хлопья или сгустки. В то время как субклинический мастит не проявляет никаких видимых клинических проявлений в молочной железе и молоке (Алиев А.Ю. и др., 2021, 2022; Семиволос А.М., 2023; Choudhary R.K., Li R.W., Evock – Clover C.M., 2013).

Резкое увеличение экономических потерь из – за высокой распространенности и низкого уровня излечимости этого заболевания вызывает повышенную тревогу в молочном секторе, что в свою очередь обращает внимание ветеринарной науки на совершенствование схем лечения и разработку новых ветеринарных препаратов, а также разработку современных диагностических методов с целью обнаружения заболевания на самых ранних этапах его развития.

В молоке, полученном от коров с субклинической формой мастита, понижается содержание сухого вещества за счет снижения количества молочного жира, казеина, лактозы, кальция и возрастает количество сывороточных белков и соматических клеток, при этом снижаются санитарно – гигиенические показатели молока (Баймишев, М.Х. и др., 2023; Fedotov S.V., Avdeenko V.S., Belozercheva N.S., Yahaev I.M., 2019). У животных, больных маститом, снижается молочная продуктивность и увеличивается количество мезофильных аэробных микроорганизмов и факультативно – анаэробных микроорганизмов (Егунова А. В. и др., 2016; Федотов С.В. и др., 2020).

Примесь маститного молока приводит к изменениям химического состава сборного молока, вследствие чего нарушаются биохимические и микробиологические процессы при его переработке (изменяется химический состав молока и ухудшаются его технологические свойства). Такое молоко плохо свертывается сычужным ферментом, менее термочувствительно (нарушается ход технологического процесса приготовления продукта). В нем плохо развиваются многие производственно – ценные молочнокислые бактерии. Так же меняются структурно – механические свойства кислотных и кислотно – сычужных сгустков. Они имеют повышенную вязкость, меньшую плотность и хуже отделяют сыворотку (Алиев А.Ю. и др., 2021; Белозерцева Н.С. и др., 2019; Федотов С.В. и др., 2013).

Используемые на производстве методы экспресс – диагностики для определения поражения вымени у коров удобны в использовании, но могут

давать положительные реакции при изменении физиологического состояния животного, а также при нарушении кормления. В частности, при постановке проб с димастином или калифорнийским тестом можем получить изменение цвета реактива и появление сгустка при взятии молока от коровы в фазу возбуждения полового цикла (Федотов С.В., Сиднев Н.Ю., Гаде Реган Редди, Сакр Фуад, Яхаев И.М., 2022).

Для улучшения продуктивности коров необходимо изучать этиологию, патогенез патологий молочной железы с применением современных ветеринарных технологий. Целесообразно разрабатывать новые методы улучшения продуктивных функций у молочных коров, связанных с нарушением маммогенеза и с интенсивной системой содержания.

В условиях импортозамещения необходимо обеспечить население Российской Федерации в достаточном количестве качественными и биологически полноценными молочными продуктами, которые будут удовлетворять организм человека в полной физиологической потребности. Это является первостепенной задачей, стоящей перед всей агропромышленной отраслью нашей страны.

Следовательно, существует растущая необходимость в совершенствовании лечения, улучшение профилактики и ранней диагностики мастита у молочных коров в условиях отечественных производств.

Степень разработанности темы. Улучшение племенной работы в скотоводстве предъявляет повышенные требования к продуктивным качествам коров, предназначенных для лактации. При этом от 27,0 до 51,0 % лактирующих самок выбраковывается из – за патологии молочной железы (Алиев А.Ю. и др., 2021, 2022; Белозерцева Н.С. и др., 2019; Рогожин В.В., 2006; Семиволос А.М. и др., 2016, 2017, 2023).

По данным ряда авторов одной из основных причин маститов является проникновение микроорганизмов непосредственно в цистерну молочной железы через сосковый канал. При этом основными патогенами являются *E.*

coli, *Staph. aureus*, *St. Uberis*, *C. sporogenes*, *C. butyricum*, а также *C. Tyrobutyricum*, *C. tertium*, *Salmonella*. Определение патогенных свойств возбудителей необходимо при подборе терапевтических и профилактических средств (Абдессемед Д. и др., 2014; Баймишев М.Х., 2016; Егунова А.В. и др., 2016; Матренов И.С. и др., 2018; Fedotov S.V. et al, 2022).

В условиях импортозамещения необходимо обеспечение населения РФ в достаточном количестве качественными и биологически полноценными молочными продуктами, удовлетворяющими в полной мере физиологические потребности организма человека. Это является основополагающей задачей, стоящей перед работниками агропромышленного комплекса (Алиев А.Ю., Федотов С.В., Н.С. Белозерцева, И.М. Яхаев., 2020; Лободин К.А., Нежданов А.Г., 2021; Семиволос А.М., Семиволос С.А., Токарев Д.Н., 2023)

Для повышения уровня продуктивности молочных коров необходимы инновационные и экономически выгодные технологии, которые могут обеспечить высокие темпы воспроизводства животных с отличными племенными и продуктивными качествами (Авдеенко В.С. и др., 2020; Гнездилова Л.А., и др., 2021; Баймишев М.Х. и др., 2023; Филатова А.В. и др., 2023)

Цель и задачи исследований. Цель научной работы – совершенствование ранней диагностики патологии вымени и определение эффективности препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1» при маститах у высокопродуктивных коров в условиях интенсивного содержания.

Задачи научной работы:

- Определить возможность полипозиционного сканирования молочной железы у высокопродуктивных коров с использованием 2D УЗ – аппаратов для выявления патологии вымени;
- Выявление новых маркеров для диагностики субклинических маститов у коров в сыворотки крови (NO) с помощью метода электронного парамагнитного резонанса;

- Проведение скрининговых исследований препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1» на целевых животных;
- Определение влияния препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1» на показатели качества сырого молока, полученного от коров в условиях интенсивного производства;
- Внедрение двухмерной ультразвуковой сонографии молочной железы в систему текущей диспансеризации лактирующих коров

Объект исследования. Объектом исследований являлись коровы черно – пестрой породы, а также биологические жидкости (кровь, молоко) от экспериментальных животных.

Предмет исследования. Научное обоснование использования УЗИ – диагностики для выявления патологии молочной железы у коров, а также испытание препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1» при мастите у лактирующих коров в условиях интенсивного ведения животноводства.

Научная новизна. В результате проведенных научно – исследовательских работ была доказана возможность применения УЗ – диагностики для постановки диагноза на субклинические формы маститов у лактирующих коров, а также для определения потенциальной молочной продуктивности по особенностям строения тканей вымени.

Предложен метод определения количества оксида азота в качестве нового маркера для диагностики субклинических маститов лактирующих коров в условиях интенсивного производства молока.

Для постановки точного диагноза на начальные стадии субклинического мастита предложено включить в протокол физико – химические, а также микробиологические и санитарно – гигиенические показатели молока.

Были проведены клинические испытания нового препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1», и разработана схема профилактики и лечения субклинических маститов у коров. Наши исследования вошли в досье

препарата «Антимаст №13». Препарат был зарегистрирован в РФ как лекарственное средство под коммерческим названием «Мастиблок».

Теоретическая и практическая значимость работы. УЗИ имеет возможность использования для качественной диагностики начальной стадии субклинического мастита у высокопродуктивных коров, а также по особенностям строения вымени определять потенциальную молочную продуктивность.

Апробация препарата «Антимаст №13» (Организация – разработчик: ООО «НВЦ Агроветзащита», организация – производитель ООО «АВЗ С–П» (Россия) на целевых видах животных – крупный рогатый скот показала, что нанесение в терапевтической дозе не оказывает отрицательного влияния на общее состояние животных, и способствует сохранению молочной продуктивности у проблемных лактирующих коров на 14,1% при интенсивном способе содержания, и на 19,3% при экстенсивном способе.

Выявлено, что применение препарата «Антимаст №13» не влияет на качественные показатели молока.

Методология и методы исследований. Методологическая основа научного исследования базируется на работах отечественных и зарубежных ученых в области ветеринарии, посвящённые акушерству, гинекологии и биотехнике размножения животных. Эти исследования посвящены изучению диагностики, возникновения и лечения мастита у коров. В процессе работы мы использовали комплексный подход, который включал в себя современные методы исследования: биохимические, общеклинические, морфологические, фармакологические, а также статистическую и аналитическую обработку данных.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Полипозиционное сканирование молочной железы у высокопродуктивных коров с использованием 2D УЗ – аппаратов для выявления патологии вымени;

- Новые маркеры для диагностики субклинических маститов у коров в сыворотки крови (NO) с помощью метода электронного парамагнитного резонанса;
- Скрининговые исследования препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1» на целевых животных;
- Внедрение двухмерной ультразвуковой сонографии молочной железы в систему текущей диспансеризации лактирующих коров

Степень достоверности и апробация результатов. Материалы диссертационной работы доложены на следующих конференциях и конкурсах: IX научно – практическая конференция «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии», проводимая в рамках всероссийского фестиваля науки, Москва 2021; X научно – практическая конференция «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, товароведения и экспертизы сырья и продуктов животного и растительного происхождения, зоотехнии и биотехнологии», проводимая в рамках всероссийского фестиваля науки, Москва 2022; Всероссийский конкурс на лучшую научную работу, среди студентов, аспирантов и молодых ученых аграрных образовательных и научных учреждений России, Москва 2023 (призовое место); III Национальная премия «Серебряный микроскоп» XXXI Московского международного Ветеринарного Конгресса; Семинар молодых ученых на иностранных языках, Москва 2023; Международная научно – практическая конференция «Перспективы развития ветеринарного акушерства, гинекологии и биотехники репродукции животных», Москва 2023.

Публикации. По материалам диссертационных исследований опубликовано 12 научных работ, из них 2 – в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 3 – в изданиях Scopus. Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Программа нейросетевого анализа биохимических показателей крови животных» №2023662779 от 14.06.2023.

Общий объем публикаций составляет 2,38 п. л., из которых 1,44 п. л. принадлежат лично соискателю.

Личное участие автора в получении научных результатов.

Диссертация выполнена автором самостоятельно и является результатом собственных научных исследований. Автором лично сформулирована и обоснована проблема, определены цель и задачи исследований, пути их решения, подобрана методология и проведены экспериментальные исследования, обработка и интерпретация результатов.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 139 страницах компьютерного текста и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, собственные исследования, заключение, рекомендации производству, перспективы дальнейшей разработки темы и список литературы. Содержит 40 таблиц, 9 рисунков и 5 приложений. Список литературы включает 191 источник, из которых 116 иностранных авторов.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Диагностика маститов у коров

Исторические данные свидетельствуют о том, что коров доили на территории современной Индии по самым скромным подсчетам с 3100 года до нашей эры, и вполне вероятно, что мастит крупного рогатого скота существовал уже в то время. На протяжении тысячелетий тесный контакт, требуемый при ручном доении, позволял легко выявлять плохое состояние молочной железы и аномалии получаемого молока, но мало что было известно о причинах мастита или способах его лечения. Глубокое изучение и понимание, что такое мастит было невозможно до тех пор, пока человечество не изобрело микроскоп, который позволил обнаруживать микроорганизмы, являющиеся основными этиологическими агентами заболевания (Баймишев М. И др., 2023; Баймишев Х.Б. и др., 2020; Федотов С.В. и др., 2018; Boss R. et al., 2018).

Самое раннее упоминание о мастите крупного рогатого скота было опубликовано в журнале *Journal of Dairy Science* в третьем номере 1917 года и было посвящено рискам для здоровья населения, связанным с высоким содержанием бактерий в сыром молоке. (Onzález Pereyra V. Pol, M.Pastorino, F. Herrero, 2015).

1.1. Диагностика воспаления молочной железы приборными методами

Внедрение **приборных методов** и диагностических экспресс-тестов на мастит способствуют своевременному и точному диагнозу, тем самым позволяет применить своевременное эффективное лечение (С.В. Федотов и др., 2022; Баймишев, М.Х., 2016).

Подобные тесты основаны на выявлении некоторых особенностей патогенов, а также изменений характеристик молока и жидкостей организма животного с использованием специфических биомаркеров (Sandip Chakraborty., et al., 2019; Tanni N.S, Islam M.S., Kabir M., Parvin S., Ehsan M.A., Islam M.T., 2021).

1.1.2. Общие показатели и маркеры мастита

Это тесты для диагностики фенотипического мастита, поскольку они указывают на общие изменения, которые могут быть видимыми или невидимыми и которые не являются специфичными для какого – либо патогена, но являются диагностическими для субклинического мастита (Sandip Chakraborty., et al., 2019). Они включают физико – химико – биологическую диагностику (рН, электропроводность, ферменты, биохимические молекулы, неспецифический посев), количество соматических клеток, калифорнийский мастит – тест, цифровые тесты на выявление мастита, внутримаммарную термографию, биосенсоры или протеомные подходы (Rossi R.S., Amarante A.F., Correia L.B.N., Guerra S.T., Nobrega D.B., Latosinski G.S., Rossi B.F., Rall V.L.M., Pantoja J.C.F. J.,2018).

1.1.3. Использование физико – химических маркеров для диагностики

К ним относятся многочисленные физические, биохимические и/или маркерные показатели, которые изменяются во время субклинического мастита, будь то в молоке, крови или сыворотке (Sandip Chakraborty., et al., 2019). Физические показатели включают общий внешний вид молока, электропроводность (Tommasoni. C. et al., 2023) и рН (Ashraf A. et al., 2020), а биохимические – различные метаболитические вещества, такие как лактоза (Heikkilä A.M. et al., 2018), белки, например, амилоид А, пептиды и ферменты, например, N–ацетил– β –d–глюкозаминидаза, лактатдегидрогеназа, щелочная фосфатаза или аргиназа молока (Fedotov S.V. et al. 2022). Диагностические тесты на основе ферментов обычно ненадежны, поскольку они могут варьироваться и при других заболеваниях. Однако уровни щелочная фосфатаза и кальция в сыворотке крови были значительно снижены, в то время как уровни С – реактивного белка и фосфора были повышены у коров, страдающих маститом. Кроме того, не было отмечено существенных изменений в уровнях лактатдегидрогеназы, аспаратаминотрансферазы, гамма – глутамилтрансферазы, альбумина,

натрия, калия и хлоридов в сыворотке крови. Обнаружение этих маркеров эволюционировало от обычной спектрофотометрии к различным новым методам диагностики, таким как иммунологические анализы (Hussein et al., 2018). Они обладают высокой специфичностью и чувствительностью, но менее применимы в полевых условиях. В настоящее время разрабатываются и оцениваются передовые цифровые средства автоматической диагностики, такие как Affimilk, детектор молока Draminski или Portascan, для диагностики мастита (Hussein et al., 2018). Несмотря на то, что они удобны, их точность ограничена.

1.1.4. Подсчет количества соматических клеток.

Было установлено, что подсчет соматических клеток является идеальным методом диагностики субклинического мастита. Он удобен и надежен. Прямое измерение соматических клеток с использованием искусственного интеллекта обладает высокой точностью, но является дорогостоящим и во многих случаях остается недоступным (Shi, Y. et al., 2021). Ранее ручной подсчет количества соматических клеток рассматривался как трудоемкая процедура, как для отдельных образцов, так и для группы образцов, в то время как интерпретация и точность были сомнительными. В настоящее время благодаря новым передовым средствам диагностики таким как: счетчик клеток DeLaval, счетчик клеток Fossomatic, PortaCheck®, Somaticell® подсчет количества соматических клеток стал простым и точным, (Sandip Chakraborty., et al., 2019). Для измерения количества соматических клеток во многих образцах вместе обычно используются счетчики клеток с высокой производительностью, которые основаны на принципе проточной цитометрии, например подсчет клеток Fossomatic. Этот метод надежен для измерения количества соматических клеток (Jansen, J. et al., 2016). Аналогичным образом, было обнаружено, что Somaticell® сравним с микроскопическим измерением количества соматических клеток и калифорнийским мастит тестом (Sandip Chakraborty., et al., 2019; Zhang, J. et al., 2018).

По мнению ряда исследователей в отношении подсчета количества соматических клеток, как метода диагностики клинического (более 5 000 000 соматических клеток) или субклинического (более 200 000 соматических клеток) мастита соблюдаются универсальные стандарты, но на эти показатели могут влиять многочисленные факторы (Семиволос А.М., Молчанов А.В., Рыхлов А.С., Кривенко Д.В., Егунова А.В., Панков И.Ю., 2017).

1.1.5. Калифорнийский тест на мастит

Калифорнийский мастит тест – это простой, быстрый и экономичный метод оценки соматических клеток (Sandip Chakraborty., et al., 2019; Sarvesha K. et al., 2017). Данный тест используется для первоначального скрининга образцов молока от коров в условиях производства. При этом его выполняют доярки перед тем, как надеть молочные стаканы на сосковую часть вымени, и из – за неправильного выполнения манипуляций качество выполнения теста остается под вопросом (С.В. Федотов, Н.С. Белозерцева, И.Р. Мясникова, В.В. Гоминюк, 2016; Семиволос А.М. Лощинин С.О., Агольцова В.А., Семиволос С.А., Падило Л.П., 2024).

Использование данного теста не рекомендуется для выявления мастита ранее, чем через четыре дня после отела. Тем не менее, тест имеет большое значение для мониторинга успешности терапии на основе оценки соматических клеток после лечения. Как правило, калифорнийский тест на мастит считается менее точным (87,4 – 90,8%), в сравнении с подсчетом соматических клеток, который показал чувствительность 94,9 – 99,5% (Rossi R.S. et al., 2018).

Кроме того, калифорнийский мастит тест – это трудоемкий процесс; таким образом, он не подходит для большого количества образцов, особенно на крупных фермах, и поэтому его заменили новыми чувствительными и быстрыми методами диагностики, такими как цифровые тесты или биосенсоры (Sandip Chakraborty., et al., 2019).

1.1.6. Автоматическая цифровая диагностика

Автоматические системы обнаружения мастита – это новые методы диагностики, которые применимы в полевых условиях, просты и быстры в использовании (Pellegrino, M.S., 2019). К ним относятся прибор для проверки молока, измеритель фоссоматики, детектор мастита Драмински/Викривача, счетчик клеток Делаваля, детектор мастита Afimilk, тест UdderCheck® и тест PortaSCC® (Sandip Chakraborty., et al., 2019; Tanni N.S et al., 2021).

Работа детекторов мастита основаны либо на выявлении физико – химических и биологических изменений в молоке, либо на оценке биомаркеров в молоке и сыворотке, связанных с маститом (Yang W.T. et al., 2019). Точность PortaSCC®, а также счетчика клеток DeLaval была признана более подходящей для оценки соматических клеток (Washburn S.P. et al., 2002).

В настоящее время, разрабатываются новые методы диагностики, которые одновременно определяют эти аспекты. Для этой цели доступны автоматизированные системы идентификации, а именно идентификационные карты VITEK, предоставляющие результаты идентификации бактерий и чувствительности к антибиотикам (Dąbrowska K. Et al., 2019). Система зарекомендовала себя как быстрая, надежная и точная (Abdel Khalek A. et al., 2019). Эта система смогла правильно идентифицировать 84,09 – 100% *Staphylococcus aureus*, и считается, что ее точность составляет 90% (Castelani L. et al., 2019).

1.1.7. Инфракрасная термография

Новые методы диагностики, такие как инфракрасная термография (Rathaur A., et al., 2020), также нашли применение в диагностике мастита. Это может стать очень простой перспективой для диагностики субклинического мастита в полевых условиях. (Das, D. et al. 2018) оценили инфракрасную термографию для диагностики мастита и смогли хорошо соотнести его с количеством соматических клеток. При некоторой доработке и усовершенствовании инфракрасная термография в будущем может стать

очень полезным и удобным инструментом на ферме. Инфракрасная термография – это простой, эффективный, неинвазивный метод диагностики на месте, основанный на нагреве или разнице температур кожи или поверхности вымени; следовательно, отражается в виде изображений, которые полезны при диагностике воспаления вымени (Gao X. et al., 2019). Было установлено, что для выявления субклинического мастита у коров диагностическая чувствительность и специфичность инфракрасная термография составляют 95,6 и 93,6% соответственно, по сравнению с 88,9 и 98,9% для калифорнийского мастит – теста (Kher M.N, et al., 2019).

Инфракрасная термография может дифференцировать клинический мастит от субклинических случаев мастита у крупного рогатого скота и овец (Gomes, F., et al., 2019).

Это было доказано рядом исследователей. Так, более высокая температура в клинических, и более низкая в субклинических случаях мастита была зарегистрирована методом инфракрасная термография у овец (Gomes, F., et al., 2019) и крупного рогатого скота (Lanctôt, S. et al., 2017).

Таким образом, Sandip Chakraborty., et al., (2019) предположили, что инфракрасная термография – это чувствительная и малотрудозатратная диагностическая процедура, которая помогает в раннем выявлении мастита.

Moreira L.H. et al. (2018) доказали, что высокочувствительная тепловизионная камера инфракрасной термографии может обнаружить даже незначительные изменения температуры при воспалении вымени, а благодаря мобильному приложению инфракрасная термография может стать удобным и портативным диагностическим инструментом.

1.1.8. Современные сенсорные системы для диагностики маститов

Использование сенсорных технологий, таких как метод определения количества соматических клеток в режиме реального времени наряду с измерением электропроводности молока позволяет своевременно распознать воспаление молочной железы. Основываясь на этой концепции, в 2006 – 2007 годах в Новой Зеландии было проведено исследование на 200 коровах, и

полученные результаты привели к рекомендации по комбинированному использованию для диагностики клинического мастита (Radostitis O. et al., 2007).

Аналогичным образом, были использованы многие другие сенсорные системы обнаружения мастита, и исследователи (Sandip Chakraborty., et al., 2019) сравнили их эффективность. По их данным, такие методы обладали минимальной чувствительностью 80% и специфичностью не менее 90%, а временной интервал обнаружения составил 48 часов.

Однако, при проведении исследований в хозяйствах РФ сравнительные результаты по диагностики субклинических маститов показали, что существуют большие различия между моделями приборов, основанных на сенсорных датчиках (Авдеенко В.С., Авдеенко А.В., Шабашева Ю.Г., Рыхлов А.С., Давидюк Е.В., 2016).

Колориметрический биосенсорный анализ на основе магнитных наночастиц был разработан с использованием протеолитической активности плазмина в качестве биомаркера, поскольку в случаях мастита плазмин усиливает протеолиз казеина и снижает качество молока. Этот анализ позволяет отличить молоко здоровых животных от молока животных, пораженных маститом. Плазмин, прикрепленный к магнитным наночастицам, присутствовал в виде монослоя на поверхности золотого сенсора, а усиленный золотистый цвет поверхности биосенсора является прямым показателем протеолитической активности плазмина. Этот биосенсор очень чувствителен к обнаружению небольших количеств плазмина, присутствующего *in vitro* в образцах молока (Ranjani S., et al., 2022).

Varela – Ortiz D.F et al., (2018) при проведении исследований на 47 коровах с подозрением на субклинический мастит использовали магнитные наночастицы для специфического выявления различных видов стафилококков. Для иммунологической магнитной детекции они использовали антитела против *S. aureus* и антитела против *Staphylococcus*

spp., чувствительность которых составила 57,1 и 79,3%, а специфичность – 75 и 50%.

Очевидно, что эти методы магнитного обнаружения нуждаются в дальнейшем совершенствовании.

1.1.9. Протеомные и специфические тесты для диагностики мастита

Протеомный подход не только является многообещающей областью, но и оказался весьма полезным в диагностике, прогнозировании и профилактике мастита у молочных животных наряду со стандартизацией качества (Vidlund Jessica J. et al., 2022; Castelani L. et al., 2019). Этот метод облегчает идентификацию биомаркеров, помимо подтверждения многих аналогичных подходов, использовавшихся ранее при оценке мастита (Felipe V. et al., 2019; Gomes, F., et al., 2019; Gutiérrez D., et al., 2020; Potapow A. et al., 2010).

Chajęcka Wierzchowska W. et al., (2019) наблюдали снижение регуляции флагеллина и других жгутиковых белков при использовании масс – спектрометрии для мониторинга отдельных реакций для количественного определения 13 белков, реагирующих на мишени в молоке. В данном эксперименте взаимодействие *in vivo* с продуктами грамотрицательных бактерий и грамположительных бактерий привело к последовательной активизации белков врожденного иммунного ответа. Введение грамотрицательных бактерий вызывало более интенсивный и быстрый иммунный ответ по сравнению с введением грамположительных бактерий.

Многие белки исследуются для различных диагностических возможностей при обнаружении маститов. В частности, лактоферрин, обнаруженный в коровьем молоке, может быть использован в качестве предполагаемых биомаркеров при постановке ИФА, а также основой для протеомической диагностики заболеваний крупного рогатого скота (Cheng W.N. et al., 2019; Nadrich. J.C. et al., 2018).

К специфическим методам по определению генотипического типа мастита относятся диагностические тесты, которые выявляют патогены или

их генетический материал (Ashraf A. et al., 2020; Montironi I.D. et al., 2019; Méric, G. et al., 2016; Hong H. et al., 2018).

Данные тесты специфичны для диагностики мастита, они позволяют провести количественную оценку, и включают в себя специфические культуры, молекулярные методы на основе ПЦР, секвенирование нуклеотидов, MALDI – TOF, специфические иммуноанализы и специфические биомаркеры (Holko I. et al., 2019).

ПЦР зарекомендовала себя как быстрый, чувствительный 76,9 – 100% и специфичный 63,3 – 98,7% метод диагностики мастита (Choudhary R.K. et al., 2013).

Методы бактериального культивирования также используются для выявления возбудителей мастита, но они гораздо менее чувствительны 32,2%, чем ПЦР – анализы 70,6% (Zhang, J. et al., 2018).

У крупного рогатого скота часто можно выделить возбудителя мастита, такого как *S. aureus* генотипа В, и лечения против такого вида возбудителя мастита в странах ЕС запрещено. Был разработан анализ, основанный на ПЦР в режиме реального времени, для выявления этого патогена в молоке, хранящемся в сборных емкостях (Rossi R.S. et al., 2018).

O'Driscoll T. et al., (2015) провели работу целью которых был анализ патогенов, наиболее часто встречающихся при воспалении молочной железы. Всего было происследовано 12 патогенов, вызывающих мастит. Время проведения анализа ограничено для образцов, которые отбираются свежими или консервированными. Преимущество исследований авторов заключается в том, что анализ способен обнаруживать бактерии, которые либо мертвы, либо рост которых подавлен, тем самым уменьшая количество ложноотрицательных результатов.

Kher M.N. et al., (2019) указывают, что при рутинной регистрации образцов молока применение ПЦР-анализа в качестве подходящего инструмента для обнаружения организмов, вызывающих мастит, является эффективным.

Внедрение ПЦР-анализа для диагностики маститов проводилось в различных европейских странах. При этом было обязательным получение значений порога цикла для мишеней бактериальной ДНК с целью количественной оценки (Carrillo – Casas, E.M. et al., 2012; Hong H. et al., 2018; Zadoks R.N. et al., 2011; Zhang, J. et al., 2018; Singh, K. et al. 2018; Mourya A. et al., 2020).

Мультиплексная ПЦР, основанная на спейсерной области 16S – 23S рРНК, была разработана для выявления *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* и *S. uberis* (Vidlund Jessica J. et al., 2022). Мультиплексная ПЦР доступна также для выявления основных возбудителей мастита в молоке буйволицы (Zhou, M. et al., 2021).

Можно использовать секвенирование наряду с обратной транскрипцией ПЦР для подтверждающей диагностики патогенов мастита в сочетании с другими методами лабораторного культивирования (Pessora R.V. et al., 2012).

Gelsomino R. et al., (2002) были разработаны специфические праймеры. Виды бактерий, которые филогенетически тесно связаны, могут быть выделены с помощью таких праймеров. Было установлено, что предел обнаружения составляет $3,12 \times 10^2$ КОЕ мл – 1.

Секвенирование стало важным инструментом диагностики мастита не только для определения вида, подвида, штамма микроорганизмов, но и для преодоления проблем с индентификацией. Дифференциация различных штаммов бактерий внутри вида может быть осуществлена с помощью этих молекулярных методов (Zadoks et al., 2011; Zhang, J. et al., 2018; Gutiérrez D. et al., 2020; Zadoks et al., 2011; Van Hoesel R.J et al. 2018; Varela – Ortiz D.F., et al., 2018).

Различные молекулярные методы, такие как риботипирование (Choudhary et al., 2013), гель – электрофорез в импульсном поле (Zhang, J. et al., 2018), полиморфизм длины амплифицированного фрагмента (Mourya A. et al., 2020), случайная амплифицированная полиморфная ДНК и

мультилокусное типирование последовательностей (Gutiérrez D. et al., 2020) часто использовались для целей генотипирования.

На уровне штамма может быть выполнен мультилокусный анализ тандемных повторов с переменным числом, а на уровне вида – анализ полиморфизма длины межгенного спейсера переносимой ДНК, а также риботипирование (Varela – Ortiz D.F., et al., 2018).

Наряду с бинарным межпространственным типированием может данный метод может быть успешно применен с целью генетического анализа изолятов *S. aureus* из секрета молочной железы крупного рогатого скота. Установлено, что бинарное типирование является надежным методом (Zadoks et al., 2011).

Suzuki N. et al., (2020) указывают, что наиболее подходящим методом распознавания штаммов *S. aureus* является протокол, где большие молекулы ДНК разделяются, при этом используется электрическое поле. В этой связи авторы упоминают, что типы коагулазы, а также белка А могут быть коррелированы с типами.

Среди штаммов возбудителей наблюдается огромное разнообразие, что приводит к изменению эпидемиологической картины заражения молочных животных из – за генетической изменчивости (Shi, Y. et al., 2021). Они были использованы с целью генотипирования для характеристики различных штаммов *S. aureus*, вызывающих мастит крупного рогатого скота (Zhao Q., et al., 2018).

За этим следует представление штаммов в схему характеристики. Эта схема состоит из широкого спектра анализов в отношении патогенности и устойчивости к антибиотикам (García – Solache M., et al., 2019).

С помощью этого были идентифицированы новые штаммы *S. uberis*, ответственные за рецидивирующую инфекцию (Gao, J. et al., 2017).

Также интересно отметить, что с помощью данного исследования наряду с риботипированием может быть обнаружено генетическое родство

между изолятами стрептококков группы В при мастите человека и крупного рогатого скота (Halasa T. et al., 2007).

В случае резистентности к маститу для определения общегеномных маркеров, связанных с локусом количественного признака, был использован метод AFLP (Piotr S. et al., 2018).

Было задокументировано, что 108 штаммов *S. agalactiae* агалактии были подтверждены лабораторными методами культивирования, лампой и ПЦР, как причина мастита крупного рогатого скота (Rossi R.S. et al., 2018).

Vander Elst N., et al. (2020) отобрали патогенные микроорганизмы, принадлежащие к 12 родам, вызывающим мастит, оптимизировали условия амплификации ДНК.

Сверхэффективная жидкостная хроматография – квадрупольная масс – спектрометрия с временным прохождением (Tommasoni C. et al., 2023) и специфические иммунологические анализы (Hussein et al., 2018) это новейшие методы диагностики мастита.

Используя MALDI – TOF (Boss R. et al., 2016) идентифицировали грамположительные, каталазоотрицательные кокки, ассоциированные с маститом крупного рогатого скота. Аналогичным образом (Castelani L. et al. 2019) идентифицировали NAS, ассоциированный с маститом крупного рогатого скота.

Zhou, M. et al., (2021) использовали ИФА для определения молочного амилоида А в качестве многообещающего биомаркера для выявления субклинического мастита.

Abdel Khalek A. et al., (2019) исследовали непрямой ИФА на белок Sip *S. agalactiae* для диагностики мастита крупного рогатого скота. Иммуноферментные анализы были разработаны только для нескольких отдельных патогенов, а именно *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* и *E. coli*. S. набор для тестирования на антитела к золотистому стафилококку был разработан для первичного скрининга коров на мастит *S. aureus* (Blum, S.E. et

al., 2008). Авторы указали, что преимуществом ИФА на основе магнитных шариков перед обычным ИФА является его быстрота в диагностики.

Gao X. et al., (2019) разработали и стандартизировали ИФА для выявления и оценки белков кателицидина, присутствующих в молоке овцематок с маститом. Кателицидины – это небольшие антибактериальные белки, связанные с врожденным иммунитетом, секретируемые в молоке при мастите. Исследование было проведено с использованием 705 образцов молока с овцеводческих ферм, и результаты показали наличие кателицидинов наряду со значительным содержанием SCC, а бактериальный посев подтверждает наличие мастита у овец.

ИФА может помочь в диагностике мастита с помощью новых биомаркеров (Hussein et al., 2018; Zhang X. et al., 2022; Carrillo – Casas, E.M. et al. 2012). К недостаткам этих методов относятся неспецифичность из – за перекрестных реакций, следовательно, меньшая точность, высокая стоимость и требования к инфраструктуре и технически квалифицированным специалистам.

1.1.10 Биомаркеры, специфичные для мастита.

Существует множество индикаторных биомаркеров на основе молока или сыворотки, которые могут быть оценены для постановки диагноза мастита. Изменение их уровней может в значительной степени коррелировать с маститом. В молоке происходит высвобождение различных ферментов из – за иммунных реакций животных на различные инфекционные заболевания и изменения проницаемости кровеносных сосудов. Наблюдается тенденция к снижению уровня ферментов, участвующих в синтезе молока, наряду с повышением активности ферментов, обнаруживаемых в связи с воспалением (Heikkilä A.M. et al., 2018). Наблюдается экспоненциальное увеличение активности ферментов, которые происходят из фагоцитов, таких как N – ацетил – d – глюкозаминидаза, ЛДГ молока, ЩФ, аргиназа и каталаза наряду с β – глюкокоронидазой. У коров, страдающих маститом, было отмечено значительное повышение активности ЛДГ в молоке, активности

ЩФ и уровней фосфора, а также снижение уровня кальция (Hadrich. J.C. et al., 2018). Также наблюдается повышение ферментативной активности плазминогена в крови полностью активированного до плазмина и протеолитического фермента, который отвечает за расщепление фибрина наряду с казеином (Heikkilä A.M. et al., 2018). Для диагностики мастита в качестве биомаркеров могут быть успешно использованы различные белки острой фазы, а именно сывороточный амилоид А (Hussein et al., 2018; Zhang X. et al., 2022).

Повышение активности фермента ЛДГ при воспалении могут быть измерены с помощью колориметрических, а также флуориметрических анализов на ранней стадии мастита (Avdeenko, V.S. et al., 2015). Во время мастита высвобождение белков в молоке может быть вызвано протеолизом, вызванным либо бактериями, либо эндогенными протеазами. Пептидные биомаркеры могут быть использованы для диагностики мастита, что также помогает различать микробные (бактериальные) причины мастита. Панель биомаркеров, состоящая из нескольких пептидов, была выявлена с помощью жидкостной хроматографии, капиллярного электрофореза, а также масс – спектрометрии с высокой чувствительностью и еще более высокой специфичностью (Denamur, E. et al., 2021).

Хотя эти биомаркеры также подвержены изменениям при других заболеваниях, следовательно, они служат биомаркерами общего типа, как обсуждалось ранее, однако, когда изменения коррелируют с маститом, они могут уточнить диагноз, и особенно когда описываются изменения в молоке или вымени, они могут быть биомаркерами, специфичными для мастита. Белки острой фазы, включая гаптоглобин, и ассоциированный с молочной железой сывороточный амилоид А₃, также используются в качестве биомаркеров для диагностики мастита крупного рогатого скота. Эти белки действительно увеличиваются в молоке в процессе воспаления, но обнаруживаются в гораздо более низких концентрациях в образцах здорового молока (Méric, G. et al., 2016). Кроме того, эти белки острой фазы

варьируются в зависимости от возбудителя и типа мастита (С.В. Федотов, Н. С. Белозерцева, А.В Деринов, 2013). Мастит *E. coli*, *S. uberis* и *S. dysgalactiae* приводит к более высокому повышению уровня в молоке по сравнению с другими патогенами (Moussaoui F. et al., 2004). Уровни варьируются в зависимости от клинического и субклинического течения мастита, однако демонстрирует незначительные изменения (Potarow A. et al., 2010; Рогожин В.В., 2006).

Диагностика, основанная на этих биомаркерах, может быть полезна для дифференциации здоровых коров от коров, страдающих клиническим или субклиническим маститом. Действительно, часто используются иммуноферментные анализы для выявления белков острой фазы для диагностики мастита крупного рогатого скота, такие как разработка ИФА, направленного на Hp в молоке с пределом обнаружения 0,07 мкг мл⁻¹. (Salamon, H. et al., 2020).

Это связано с открытием новых медиаторов воспаления. ELISA играют гораздо меньшую роль из – за доступности ограниченного количества антител, которые по своей природе специфичны для бычьего изогиота (Richards, V. P. et al. 2015). Были проведены исследования по совершенствованию стратегий диагностики мастита крупного рогатого скота, ассоциированного с кишечной палочкой, путем сочетания метаанализа, а также машинного обучения (инструменты интеллектуального анализа данных), которые обладают способностью обнаруживать наиболее информативные гены. Такие гены могут выступать в качестве биомаркеров мастита, индуцированного *E. coli*, у крупного рогатого скота (Salamon, H. et al., 2018).

Секвенирование Solexa (метод секвенирования, основанный на обратимых красителях – терминаторах, которые позволяют идентифицировать отдельные основания по мере их введения в нити ДНК) наряду с биоинформационными инструментами было использовано для анализа микроРНК в случае экспериментально индуцированного мастита

(вызванного *S. aureus*), что указывает на то, что микро РНК являются потенциальными биомаркерами для диагностики мастит крупного рогатого скота (Vander Elst N. et al., 2020) сообщили, что концентрации триптофана, кинуренина и кинуреновой кислоты в сыворотке крови и молоке были ниже у коров с субклиническим маститом, вызванным не – золотистыми стафилококками. Эти данные могут быть использованы для диагностики мастита крупного рогатого скота, поскольку это снижение также может быть маркером, указывающим на мастит.

1.2. Лечение и профилактика маститов

Мастит увеличивает затраты на рабочую силу и замену коров, снижает продолжительность лактации, приводит к ранней выбраковке, а также на количество и качество молока. Современное животноводство уделяет большое внимание производству молока высочайшего качества (Yang W.T. et al. 2019; Ashraf A. et al., 2020; Алиев, А.Ю. и др., 2021; Семиволос А.М. и др., 2013; Чичкин А.Н. и др., 2016).

В последнее время приоритетное внимание уделяется поддержанию здоровья молочных желез жвачных животных. На молочных фермах большой проблемой являются нарушения, которые снижают надои молока. Различные формы мастита приводят к потерям и ухудшению качества молока (Баймишев, М. и др., 2023; Желанова, А.С. и др., 2023; Ионова, И.С. и др., 2014; Чучин, В.Н. и др., 2014.).

Негативное экономическое воздействие также включает в себя увеличение расходов на лечение и ранний убой животных. Эти факторы делают своевременную и точную диагностику и прогноз крайне важными. Это требует использования современных, точных и быстрых методов обследования, таких как ультразвуковое исследование (Семиволос А.М., Семиволос С.А., Лощинин С.О., Горюнова Д.А., 2023; Абдессемед, Д., и др., 2014; Семиволос А.М. и др, 2023; Яхаев, И.М. и др., 2020).

Было обнаружено, что устойчивость к маститу и короткоцепочечные жирные кислоты молока тесно связаны с особенностями строения вымени и

сосков. В результате было высказано предположение, что отбор коров с идеальной формой вымени и сосков может помочь снизить заболеваемость маститом и улучшить качество молока (Albino R.L. et al., 2017).

Коровы с субклиническим маститом, выявленные с помощью калифорнийского теста на мастит и подсчетом соматических клеток в молоке не рассматривался в данном исследовании, поскольку они получали противовоспалительное лечение и антибиотики для борьбы с инфекцией вымени. Диагноз клинического мастита был поставлен ветеринарным врачом животноводческого хозяйства с использованием калифорнийского теста на мастит и подсчетом соматических клеток в молоке (Семиволос А.М. и др. 2023; Gundling N. et al., 2021, Hussein H.A. et al., 2018).

Клинически значимое количество соматических клеток в четвертях вымени для качественной диагностики, и принятии решения для терапии должно составлять не менее 500 000 клеток на мл. (Rossi R.S. et al. 2018).

С помощью фенотипической морфометрии могут быть изучены и проанализированы факторы риска, связанные с заболеваемостью вымени. Определение переменных риска имеет решающее значение для разработки программ лечения мастита у коров (Зирук, И.В. и др., 2015).

Не во всех случаях клинического мастита требуются антибиотики, так как примерно в 10 – 40% культивируемых образцов не наблюдается бактериального роста и, следовательно, лечение антибиотиками не требуется. Кроме того, еще 40% положительных образцов в основном грамотрицательные микроорганизмы и дрожжи устойчивы к антибиотикам, разрешенным для внутримаммарного введения. Внутримаммарное введение антибиотиков обычно рекомендуется при инфекциях, вызванных грамположительными микроорганизмами, такими как золотистый стафилококк, агалактический стрептококк и другие виды стрептококков, обитающих в окружающей среде. Однако большинство грамотрицательных инфекций у молочных коров излечиваются их собственной иммунной системой. Таким образом, антибиотики, используемые для обработки вымени

молочных коров, могут быть эффективны только примерно в 20 – 50% случаев клинического мастита. Специфическим механизмом действия нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) является ингибирование циклооксигеназы (ЦОГ). Это снижает выработку простагландинов, медиаторов воспаления. ЦОГ имеет две изоформы: ЦОГ – 1, которая естественным образом экспрессируется во всех тканях и играет важную роль в поддержании нормальной физиологической функции; и ЦОГ – 2, который индуцируется воспалительными стимулами и цитокинами. НПВП, которые более избирательно ингибируют ЦОГ – 2, обладают большей терапевтической эффективностью, в то время как те, которые в большей степени ингибируют ЦОГ – 1, имеют больше побочных эффектов. К ним относятся повышенный риск задержки плаценты, воспаления матки и раздражения желудка (Авдеенко В.С. и др., 2016; Алиев А.Ю. и др., 2022; Федотов С.В. и др., 2018).

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), используемые для лечения мастита крупного рогатого скота, включают флуниксин, меглюмин, мелоксикам, кетопрофен и карпрофен. Флуниксин меглюмин – единственный НПВП, который был одобрен Управлением по контролю за продуктами и лекарствами в США для молочных коров для борьбы с лихорадкой, связанной с маститом, и эндотоксикозом, вызванным кишечной палочкой. Он широко используется в кормлении животных в США в качестве обезболивающего средства. Флуниксин ингибирует как циклооксигеназу ЦОГ – 1, так и ферменты ЦОГ – 2, но он более избирателен в отношении ЦОГ – 1, что может увеличить риск задержки плаценты и проблем с пищеварением. Однако использование однократной дозы флуниксина может уменьшить эти побочные эффекты. У коров с маститом, вызванным липополисахаридами, флуниксин увеличивал время кормления и жевания в течение первых 9 и 12 часов, а также улучшал активность жвачки. Кроме того, флуниксин снижал концентрацию неэтерифицированных жирных кислот в крови у коров, что указывает на уменьшение

воспалительной реакции. Мелоксикам является более селективным ингибитором ЦОГ – 2, значительно снижающим побочные эффекты, связанные с ингибированием ЦОГ – 1. В исследовании с участием 2653 коров из 20 стад пероральное введение мелоксикама в дозе 1 мг/кг при отеле снижало частоту субклинического мастита, увеличивало потребление корма и выработку молока, а также уменьшало системное воспаление. Мелоксикам также облегчал боль, вызванную ЛПС – индуцированным клиническим маститом, и уменьшал отек вымени и ректальную температуру (Ashraf A., et al. 2020).

При использовании мелоксикама для лечения мастита легкой и средней степени тяжести в течение первых 120 дней лактации у инфицированных коров, сокращается интервал между отелами и повышается частота зачатия, что положительно сказывается на производстве молока на пастбищах. Кетопрофен ингибирует как ЦОГ– 1, так и ЦОГ – 2 и используется для лечения мастита крупного рогатого скота благодаря быстрому началу действия, короткому периоду полувыведения из крови, низкой токсичности и отсутствию отторжения молока. Он был одобрен для использования в Канаде, Бразилии и других странах (Var. D. et al., 2008).

Внутримаммарное введение кетопрофена снижает количество соматических клеток и повреждает гематоэнцефалический барьер, снижая концентрацию иммуноглобулина G в молоке при мастите, вызванном липополисахаридами. Сам по себе кетопрофен оказывает положительное воздействие на хронический мастит, хотя его влияние на острый мастит менее очевидно (Семиволос А.М., Семиволос С.А., Калюжный И.И., 2022, Егунова А.В. и др., 2016).

Карпрофен, как и мелоксикам, является селективным ЦОГ – 2 НПВП (нестероидным противовоспалительным препаратом), предназначенным для одноразового применения при лечении мастита крупного рогатого скота. У коров с маститом карпрофен снижает частоту сердечных сокращений, ректальную температуру и отек вымени. У коров с маститом, вызванным

кишечной палочкой, карпрофен также снижает ректальную температуру и стимулирует перистальтику рубца. Все большее признание получает применение НПВП для лечения воспаления, боли и выработки эндотоксинов у коров с маститом. В Дании более 70% ветеринаров используют только НПВП для лечения мастита, особенно если он вызван грамотрицательными бактериями (Blowey R.W., et al., 2010).

Некоторые НПВП, такие как мелоксикам и кетопрофен, можно сочетать с антибиотиками для лечения мастита. Кроме того, некоторые НПВП, такие как мелоксикам, могут блокировать вирулентные гены и предотвращать гемолиз. Они также снижают экспрессию генов, участвующих в образовании биопленки, и подавляют рост золотистого стафилококка (Семиволос А.М., Семиволос С.А., Лоцинин С.О., 2022). Основываясь на этих данных, мы делаем вывод, что НПВП могут полностью заменить антибиотики при лечении мастита крупного рогатого скота при отсутствии бактериального роста или в большинстве случаев грамотрицательной инфекции. Кроме того, поскольку основной механизм действия НПВП против мастита напрямую не связан с бактериями, резистентные штаммы вряд ли повлияют на их эффективность (Cheng W.N. et al., 2019; Costa A. et al., 2019).

1.2.1 Терапия с растительными препаратами

Растительные лекарственные препараты получают из природных растений и имеют долгую историю применения. Их лечебная ценность часто обусловлена содержащимися в них метаболитами, такими как фенольные кислоты, алкалоиды, флавоноиды, терпеноиды и эфирные масла. Эти метаболиты обладают антибактериальными, антиоксидантными и противовоспалительными свойствами (Devriese L. A. et al., 1995).

Многие растительные лекарственные средства обладают антибактериальными свойствами. Например, красный имбирь обладает хорошим бактерицидным действием против эпидермального стафилококка, золотистого стафилококка и *S. aureus*. агалактии, которые, образуются при

мастите крупного рогатого скота. Бактерицидный эффект достигается за счет куркумина и гингеролов, которые убивают бактерии, разрушая их внеклеточные мембраны. Эфирные масла, которые являются вторичными метаболитами растений, обладающими антимикробными свойствами, не стимулируют устойчивость при длительном использовании. Было доказано, что эфирные масла орегано, тимьяна, карвакрола и тимола убивают более 30 различных видов стафилококков (Ebrahimie E. et al., 2018).

К другим растительным препаратам, обладающим бактерицидной активностью, относятся терминалия обыкновенная, портулак и одуванчик. Мастит возникает, когда иммунная система молочной железы не в состоянии защитить ее от бактериальной инфекции, поэтому важно укреплять иммунную функцию для профилактики и лечения этого заболевания. Доказано, что одуванчик обладает антиоксидантными свойствами, а также обладает антибактериальным и противовоспалительным действием. На мышинной модели инфекции, вызванной золотистым стафилококком, было показано, что одуванчик подавляет воспалительную реакцию. Также было показано, что витексин повышает активность ферментов фактора некроза опухоли альфа – индуцируемый белок 1, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и каталаза при инфицировании золотистым стафилококком как *in vitro*, так и *in vivo*. Биологически активный компонент *Scutellaria baicalensis georgi*, снижает экспрессию факторов воспаления и апоптоз в эпителиальных клетках молочной железы крупного рогатого скота у коров с маститом, вызванным липополисахаридами, а также защищает молочные железы от повреждений, вызванных липополисахаридами. Лечебный эффект мангостина при липополисахаридами – индуцированном мастите объясняется его способностью подавлять выработку воспалительных цитокинов, в частности, путем ингибирования ядерного фактора каппа и нуклеотид – связывающего домена олигомеризации, подобного рецептору белка 3 (Feng J., et al., 2022).

Иммунитет играет решающую роль в возникновении, развитии и устранении мастита у коров. Коровы с сильным иммунитетом часто способны уничтожать патогенные бактерии при инфицировании вымени. Помимо мощного антибактериального действия, эфирные масла могут использоваться в качестве альтернативы антибиотикам для повышения эффективности кормов, усвоения питательных веществ и улучшения здоровья животных. Введение в рацион пищевых добавок с маслом семян черного тмина, ромашки или душицы обыкновенной за 8 недель до отела повышает иммунитет молочных коров. Кроме того, добавление эфирных масел в рацион коров улучшает выработку молока, его качество, здоровье вымени и иммунитет (Franz C. M., et al. 1999).

Таким образом, фитотерапия содержит биологически активные соединения, которые обладают большим потенциалом в профилактике и лечении мастита крупного рогатого скота. Эти соединения обладают механизмами действия, аналогичными механизмам действия антибиотиков, но они не содержат остатков антибиотиков в молоке. Однако некоторые бактерии естественным образом сопротивляются растительным соединениям, а у других со временем развивается резистентность (Gao J., et al, 2020).

Кроме того, лишь немногие растительные препараты были одобрены для клинического применения Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США, главным образом из – за сложного характера их состава и трудностей с точной оценкой эффективности и безопасности. Хотя эти проблемы потенциально могут быть решены, исследователям и производителям важно продолжать разработку новых лекарственных препаратов на растительной основе, которые были бы эффективными и безопасными для применения у животных (Hadrich. J.C., et al., 2018).

1.2.2. Разработка вакцин

Эффективные вакцины могут снизить заболеваемость маститом. Вакцины были разработаны против определенных патогенов, вызывающих клинический мастит, таких как кишечная палочка, золотистый стафилококк и

стрептококки. Среди них вакцины на основе мутантного штамма J5 являются прорывом в разработке вакцин против кишечной палочки (Rainard P., Gilbert F.B, Germon P., Foucras G., 2021).

В клинических испытаниях вакцинация *E. coli* J5 снижала заболеваемость грамтрицательным маститом у молочных коров, обеспечивая защиту на срок до трех месяцев после начала лактации. (Pirnay J.P, Verbeken G, Ceyskens P.J, Huys I, De Vos. D, Ameloot C., 2018) В другом исследовании вакцинация препаратом J5 не была эффективной в снижении заболеваемости маститом, вызванным кишечной палочкой, но она уменьшила его тяжесть (Gutiérrez D., Garrido V., Fernández L., Portilla S., Rodríguez A, Grilló M.J., 2020).

Вакцины для борьбы с маститом *S. aureus* включают либо целые клетки (аутовакцины), либо их фрагменты: рекомбинантные белки и экстракты бактериальной поверхности (Vidlund Jessica J., 2022). Разновидности *S. aureus* с небольшими колониями обладают потенциалом для разработки живой вакцины, которая может предотвращать мастит у молочного скота. (Vidlund Jessica J., 2022) разработали новый аттенуированный мутант, отключив гены *hemB* и *vraG*, продемонстрировав его потенциал в качестве аттенуированной вакцины для лечения инфекций вымени, вызываемых золотистым стафилококком. Экспериментальная вакцина на основе поверхностно – ассоциированных белков *S. aureus* был многообещающим препаратом, повышающим уровень сывороточного белка и сохраняющим эффективность в течение четырех месяцев (Dąbrowska K., Abedon S.T., 2019).

В другом исследовании использовалась технология рекомбинантного белка для подтверждения иммуногенности генов, связанных с усвоением железа, как у кроликов, так и у крупного рогатого скота. Пятьдесят четыре штамма *S. aureus* были подвергнуты скринингу на наличие пяти генов, связанных с системой усвоения железа: *isd*, *fep*, *sir*, *sts* и *fhu*. Белок *IsdH*, входящий в систему *isd*, вызывает длительный иммунный ответ у крупного рогатого скота при вакцинации, что позволяет предположить, что он является

хорошим кандидатом для использования в вакцине против мастита *S. aureus* (Vander Elst N., Linden S.B., Lavigne R., Meyer E., Briers Y., Nelson D.C., 2020).

Стрептококки, тесно связанные с маститом у молочных коров это в основном *S. uberis*, а также *S. agalactiae* и *Streptococcus dysgalactiae*. В качестве источника вакцины использовали штамм *S. uberis*, который образовал наибольшую биопленку. Проведена оценка субъединичной вакцинации на основе липофосфатидной кислоты для *S.* против экспериментальных внутримолочных гетерозиготных штаммов инфекции у молочных коров. Защита была неполной, но вакцинация значительно уменьшила клинические проявления и ускорила выработку молока по сравнению с контрольной группой. Коровы, получавшие стрептококки при подкожном введении, были более высокие титры сывороточных антител и менее тяжелые клинические проявления, чем у непривитых коров. Однако эта вакцина была эффективна только против гомологичных, но не гетерологичных штаммов. Вакцины обладают большим потенциалом для профилактики мастита у молочных коров. Однако очевидно, что количество патогенных бактерий, вызывающих мастит у коров, намного превышает количество бактерий, на которые нацелены современные разработки вакцин. Кроме того, пути и механизмы инфицирования этими патогенными бактериями различны, что затрудняет разработку эффективных вакцин против мастита у коров. Существуют также многочисленные ограничения, такие как сроки введения и продолжительность эффективности (Shi Y., Zhao W., Liu G., Ali T., Chen P., Liu Y., 2021).

1.2.3 Влияние доильных аппаратов и управление доением

Во время машинного доения соска может подвергаться воздействию внешних факторов, которые могут нарушить целостность соскового отверстия и соскового канала. Это может повлиять на их способность выполнять функцию барьера против патогенов, вызывающих мастит. Тестирование во время доения – это метод, используемый для оценки

состояния вакуума в доильном стакане во время доения (Семиволос А.М. и др., 2018; Гнездилова Л.А и др., 2021).

Это важный параметр, поскольку он управляет потоком молока через сосок и может привести к разрушению вкладыша во время пульсации. Повышение уровня вакуума на конце соска увеличивает физическую силу, действующую на сосок. Высокий уровень вакуума на конце соска связан с повышенной частотой возникновения гиперкератоза на конце соска, который, в свою очередь, может быть фактором риска развития клинического мастита. Однако неизвестно, является ли высокий вакуум, наблюдаемый у соска в доильном туннеле, фактором риска развития субклинического мастита, хотя консультанты в отрасли часто предполагают именно это (Филатова А.В. и др., 2023).

Уровень вакуума в полости мундштука доильного аппарата был предложен в качестве показателя того, насколько хорошо соска прилегает к вкладышу. В литературе описаны взаимосвязи между этим вакуумом и показателями здоровья вымени. Высокий вакуум в мундштуке может вызвать отек на конце соска, что потенциально негативно влияет на риск развития мастита (Копчекчи М.Е и др. 2018; Бибаева Ю.В. и др., 2023).

Стабильность вакуума указывает на техническое состояние доильного оборудования и может помочь выявить потенциальные проблемы с оборудованием. Частые перепады давления во время доения связаны с повышенным риском новых внутримаммарных инфекций (Ferreira M., Ogren M., Dias J.N.R., Silva M., Gil S., Tavares L., 2021). В связи с тем, что данные высокого вакуума регистрируются на уровне коровы, а на условия разрежения в доильном стакане влияют различия в скорости потока молока между отдельными коровами, важно отметить, что уровни разрежения, регистрируемые во время одного доения, могут не быть репрезентативными для всего стада (Ranjani S., Priya P.S., Veerasami M., Hemalatha S., 2022). Изменения в системе доения обычно затрагивают всех коров в стаде или группе. Однако влияние на здоровье вымени на уровне отдельных коров

становится очевидным. По этой причине важно изучить взаимосвязи между переменными вакуума и соматические клетки на уровне коров, чтобы лучше понять сильные и слабые стороны вакуума как инструмента консультирования по вопросам здоровья вымени (Moreira L.H., de Souza J.C.P., de Lima C.J, Salgado M.A.C., Fernandes A.B., Andreani D.I.K., 2018).

1.2.4 Экономические критерии

Был предложен метод для сбора данных о факторах, которые оказывают влияние на затраты на лечение мастита. Выбранными факторами были те, которые связаны с текущими расходами на лечение мастита и профилактику, а также потери продукции, связанные с маститом, например, выбраковка животных, выбракованное молоко, снижение надоев, которые могут быть легко оценены производителями молочной продукции. Дополнительно включали факторы, связанные с лекарствами, выбракованным молоком в процессе лечения, ветеринарными услугами, рабочей силой, качеством продукции, диагностическими мероприятиями, материалами и возможными инвестициями (Ashraf A., Imran M., 2021).

Среди компонентов структуры, предложенной (Семиволос А.М., Панков И.Ю., 2017) повышенный риск других заболеваний после клинического мастита не был включен в исследования, поскольку причинно – следственная связь между клиническим маститом и другими проблемами со здоровьем недостаточно хорошо продемонстрированы, и нельзя исключить обратную причинно – следственную связь.

Хотя в нескольких исследованиях были представлены доказательства влияния мастита на репродуктивную эффективность, среди этих исследований не было найдено единого мнения относительно его точного воздействия и последующих экономических последствий. Для каждого компонента затрат были сформулированы уравнения для оценки затрат за год для данного стада (Aghamohammadi M. et al., 2018).

Снижение надоев молока после случая субклинического мастита было оценено с использованием результатов исследования (Aishwarya Sunder H. et

al., 2022) сообщали о том, что корова, страдающая клиническим маститом, производила на 5% меньше молока за всю лактацию независимо от соотношения, изолированного возбудителя и нового по сравнению с повторным характером случая клинического мастита. Для оценки общей потери производства молока из – за субклинического мастита была использована модель, предложенная (Чичкин А.Н. Гритчин А.В., Семиволос А.М., 2016). В этой модели предполагается снижение на 190 кг молока на дойную корову за каждое увеличение среднего линейного показателя стада на 1 единицу.

1.2.5. Лекарственные препараты

Из – за опасений относительно экономической эффективности лечения субклинического мастита в период лактации и риска образования остатков антимикробных препаратов, лечение коров субклинического мастита в период доения проводится нечасто. Таким образом, мы предположили, что, кроме сухого лечения коров, лекарственные препараты не использовались для лечения субклинического мастита в период лактации (Fedotov S.V. et al., 2019).

Также, терапевтические протоколы часто выбираются исходя из тяжести клинических признаков, и на многих фермах лечат не все случаи субклинического мастита. Таким образом, считалось, что при легкой и среднетяжелой форме субклинического мастита (т.е. аномальном молоке с появлением аномальной четверти или без нее, но без системных признаков) используются различные протоколы лечения по сравнению с тяжелой формой субклинического мастита (т.е. системными клиническими признаками). Предполагалось, что при лечении легкой и среднетяжелой формы клинического мастита применяются исключительно внутримаммарные противомикробные препараты. Для лечения тяжелой формы клинического мастита производители обычно также проводят системное лечение противомикробными и противовоспалительными препаратами в дополнение к типичному внутримаммарному лечению.

Предположительно наиболее распространенное лечение тяжелой формы клинического мастита будет состоять, в дополнение к местному лечению, из трехразового введения системных противомикробных препаратов плюс 1 доза нестероидного противовоспалительного препарата (Nameed K.G.A. et al., 2007; Holko I., et al., 2019; Kader M. A., et al. 2003).

Следовательно, чтобы оценить затраты на лекарства, используемые для лечения клинического мастита, мы учли для каждой фермы количество случаев клинического мастита за год, долю тяжелых случаев, долю случаев клинического мастита легкой и среднетяжелой степени тяжести, которые были пролечены, среднее количество дней лечения одного случая, частоту приема лекарств введения в день и стоимость лекарств за одно введение (Krömker V., et al. 2017; Lanctôt S, et al., 2017; Lundberg Å., et al., 2015).

По данным те же авторов (Krömker V. et al., 2017; Lanctôt S. et al., 2017; Lundberg Å. et al., 2015) в дополнение к препаратам, используемым для лечения клинического мастита, внутримаммарные противомикробные вливания, как правило, вводятся всем четвертям всех коров после высыхания.

Роль рационального питания в развитии мастита долгое время была спорной, и ее трудно отделить от других сопутствующих эффектов. Ранее, ошибочно предполагали, что питание высококонцентрированными диетами является фактором риска развития мастита, но о прямом влиянии питания на мастит не сообщалось до тех пор, пока (Devriese L. A. et al., 1995) не провели эксперименты, которые продемонстрировали, что дефицит селена и витамина Е в рационе увеличивает частоту и продолжительность клинического мастита.

Первоначальные эксперименты были подкреплены более поздними полевыми исследованиями (Valde J.P. et al., 1997), которые продемонстрировали усиление субклинического и клинического мастита в стадах с дефицитом селена. Исследователи провели эксперименты, которые продемонстрировали существенную роль этих питательных веществ в поддержании эффективной функции нейтрофилов. Важная роль витамина Е

и селена в поддержании здоровья вымени в настоящее время хорошо установлена, и эта работа внесла вклад как в модификацию рациона питания, так и в важные знания о функции нейтрофилов (Franz C. M. et al., 1999).

Достижения в генетическом отборе на устойчивость к маститу были невозможны до широкого внедрения тестирования соматических клеток в программы. Поощрялся отбор на устойчивость к маститу, поскольку было показано, что генетическое увеличение надоев молока коррелирует с повышенной восприимчивостью к маститу. Показатели соматических клеток были включены в индексы отбора в США в 1994 году (Devriese L. A. et al., 1995). Хотя повышение устойчивости к маститу не было высшим приоритетом американских молочных фермеров, значительный прогресс был достигнут в других странах (Harrell F.E. et al., 2015), и будущие инновации в технологиях геномной селекции, вероятно, будут использованы для ускорения генетического повышения устойчивости к маститу (Denamur E. et al., 2021).

Заключение по обзору литературы

В настоящее время молочная промышленность – это многомиллиардная отрасль, удовлетворяющая потребности в питании всё население нашей планеты, а также приносящая доход мелким фермерам и крупным молочно – производственным холдингам.

Мастит у лактирующих коров диагностируется по выраженным внешним клиническим проявлениям, таким как: покраснение, жжение, отечность молочной железы. И наличие примесей в самом молоке таких как: кровь, хлопья или сгустки. В то время как субклинический мастит не проявляет никаких видимых клинических проявлений в молочной железе и молоке.

Согласно последним данным литературы о распространенности мастита крупного рогатого скота во всем мире, субклинический мастит является наиболее часто регистрируемым и вызывающим крупные экономические потери.

Таким образом, раннее выявление субклинических форм мастита имеет основополагающее значение для адекватного лечения заболевших животных в стаде, в связи со строгими ограничениями на использование противомикробных препаратов для профилактики контроля роста и распространения явлений резистентности. В прошлом профилактическое использование противомикробных препаратов в молочных стадах часто применялось, особенно в период сухостоя. В связи с этим требуются альтернативные решения для контроля мастита, включая геномную селекцию на устойчивость, новые диагностические и терапевтические инструменты.

При субклиническом мастите увеличивается количество мезофильных аэробных микроорганизмов и факультативно – анаэробных микроорганизмов. Примесь такого молока приводит к изменениям химического состава сборного молока, вследствие чего нарушаются биохимические и микробиологические процессы при его переработке (изменяется химический состав молока и ухудшаются его технологические свойства).

Резкое увеличение экономических потерь из – за высокой распространенности и низкого уровня излечимости этого заболевания вызывает повышенную тревогу в молочном секторе, что в свою очередь обращает внимание ветеринарной науки на совершенствование схем лечения и разработку новых ветеринарных препаратов, а также разработку современных диагностических методов с целью обнаружения заболевания на самых ранних этапах его развития.

Используемые на производстве методы экспресс – диагностики для определения поражения вымени у коров удобны в использовании, но могут давать положительные реакции при изменении физиологического состояния животного, а также при нарушении кормления. В частности, при постановке проб с димастином или калифорнийским тестом можем получить изменение цвета реактива и появление сгустка при взятии молока от коровы в фазу возбуждения полового цикла.

В условиях импортозамещения необходимо обеспечить население Российской Федерации в достаточном количестве качественными и биологически полноценными молочными продуктами, которые будут удовлетворять организм человека в полной физиологической потребности. Это является первостепенной задачей, стоящей перед всей агропромышленной отраслью нашей страны.

Следовательно, существует растущая необходимость в совершенствовании лечения, улучшение профилактики и ранней диагностики мастита у молочных коров в условиях отечественных производств.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований

Научно – исследовательские работы проводились с 2021 по 2024 г. на базе кафедры ветеринарной медицины ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева.

Опытные работы проводились в условиях стационара (вивария) ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, а также в базовых хозяйствах Московской и Владимирской областях.

Исследования по показателю оксида азота проведены в сотрудничестве с Сереженковым В.А., старшим научным сотрудником Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук».

Доклинические исследования проводились на кафедре ветеринарной медицины ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, где функционирует центр «Доклинические исследования», оснащенный согласно приказа от 6 марта 2018 г. №101 «Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для

ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения».



Рисунок 1 – Схема опыта №1

При проведении оценки переносимости препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1» при многократном применении в повышенных дозах лекарственных препаратов на целевых видах животных использовали классическую схему.

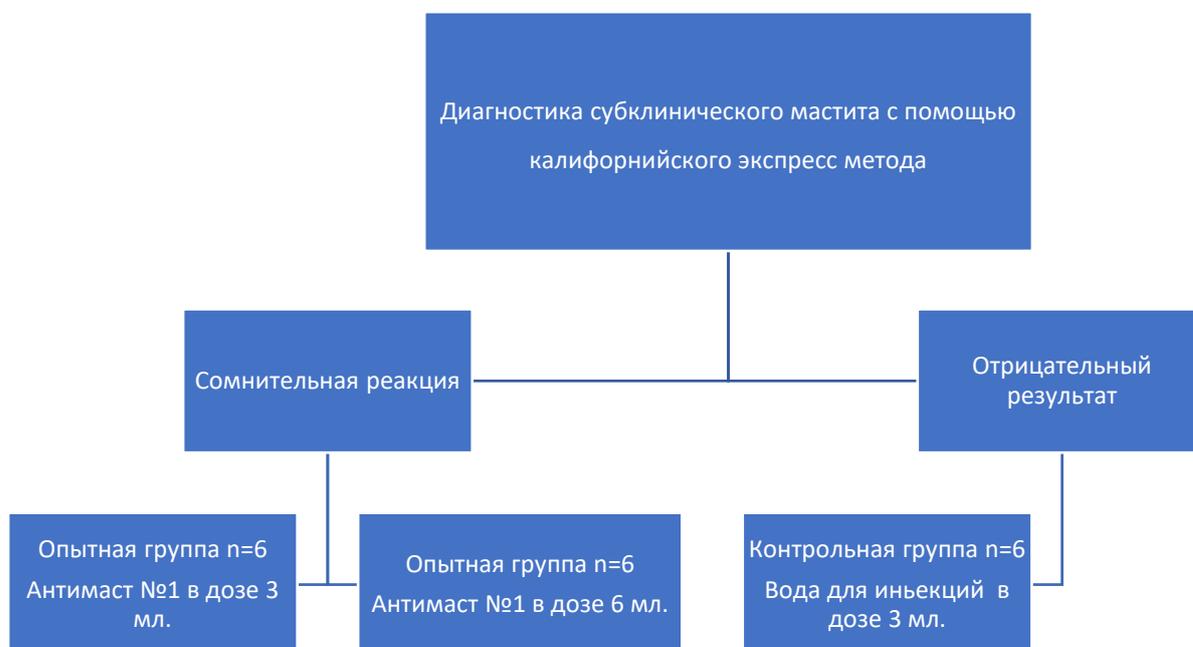


Рисунок 2 – Схема опыта №2

Для обработки полученных экспериментальных данных была использована компьютерная программа Microsoft Office Excel, в частности её функция «Анализ данных».

При производственном испытании препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1» в течение эксперимента за животными вели ежедневное наблюдение, учитывая клиническое состояние, активность, потребление корма и воды.

Полученный материал (молоко, кровь) от коров, содержащихся в племязаводе АО «Леднево» отправляли в ветеринарную лабораторию «ГБУ Владимирская областная ветеринарная лаборатория» (г. Владимир). Транспортировка осуществлялась в специальных контейнерах с температурой около 5°C.

Объектом исследования было каждое отдельное животное. Их идентифицировали и оценивали в зависимости от исследуемой переменной, делали это индивидуально для каждого животного. Все животные прошли комплексное клиническое и лабораторное обследование.

Формирование групп проводили по сходным физиологическим показателям. Животные представлены черно – пестрыми, голштинизированными особями. Во время эксперимента коровы находились на выгульных площадках, что обеспечивало соблюдение санитарно – гигиенических норм.

Регистрация поведения и производственных признаков отмечали следующим образом: зимой коров кормили сенажом и добавками в виде кормовых концентратов. Во время пастбищного сезона, если это было возможно, животные пасли зеленый корм, растущий на пастбищных угодьях, а внутри животные получали добавки в виде кормовых концентратов. Количество кормовых концентратов зависело от стадии лактации (от 6 кг в начале лактации до 1 кг в конце лактации кормового концентрата на корову в день). Кормовой концентрат делили на две порции и давали животным после утреннего и дневного доения.

Коров с субклиническим маститом мы выявляли с помощью калифорнийского теста на мастит и подсчетом соматических клеток в молоке. Образцы молока были взяты перед ультразвуковым исследованием. Клинически значимое количество соматических клеток в четвертях вымени составляло не менее 500 000 клеток на мл.

Нами были проведены выезды в хозяйство с целью сбора информации об их системе ведения животноводства. Для выявления клинических проявлений мастита были проанализированы вымя и молоко. С помощью фенотипической морфометрии были изучены и проанализированы факторы риска, связанные с заболеваемостью вымени. Определение переменных риска имеет решающее значение для разработки программ лечения мастита у коров.

Для изучения переносимости препарата «Антимаст №13» на целевых видах животных было сформировано 3 группы коров по 6 голов в каждой (2 опытные и 1 контрольная). Дизайн опыта приведен в таблице 1 и 2.

Таблица 1 – Дизайн опыта по изучению переносимости препарата «Антимаст №1» на целевых животных.

Группа	Вид животных	Кол – во животных в группе	Препарат (вариант опыта)	Разовые дозы, кол – во	Режим введения
1	Коровы	6	Испытуемый препарат	50 г на животное весом не менее 250 кг	Тонким слоем на кожу вымени, два раза в день в течение 42 дней
2	Корова	6	Испытуемый препарат	100 г на животное весом не менее 250 кг	Тонким слоем на кожу вымени, два раза в день в течение 42 дней
3	Коровы	6	Контроль, вазелиновое масло	50 г на животное весом не менее 250 кг	Тонким слоем на кожу вымени, два раза в день в течение 42 дней

Таблица 2 – Дозы нанесения препарата «Антимаст №1» на целевых животных.

Номер животного	Номер группы	Вес, кг	Дозировка
виварий	1 (ТД)	553	50 г
виварий	1 (ТД)	596	50 г
виварий	1 (ТД)	601	50 г
2878	1 (ТД)	623	50 г
3264	1 (ТД)	644	50 г
1531	1 (ТД)	613	50 г
1586	2 (2 ТД)	648	100 г
3256	2 (2 ТД)	634	100 г
1627	2 (2 ТД)	608	100 г
1422	2 (2 ТД)	631	100 г
1254	2 (2 ТД)	603	100 г
1436	2 (2 ТД)	646	100 г
1159	3 (К)	629	50 г
1028	3 (К)	603	50 г
1209	3 (К)	611	50 г
1177	3 (К)	618	50 г
2710	3 (К)	638	50 г
1301	3 (К)	622	50 г

Исходя из данных, изображенных на рисунке 2, для изучения переносимости препарата «Антимаст №1» на целевых видах животных было сформировано 3 группы коров по 6 голов в каждой (2 опытные и 1 контрольная).

Дизайн и организация исследования направлены на решение поставленной цели и базируются на общих принципах организации исследований по оценке переносимости при многократном применении в повышенных дозах лекарственных препаратов на целевых видах животных (таблица 3).

Таблица 3 – Дизайн опыта по изучению переносимости препарата Антимаст №1 на целевых животных.

Группа	Кол – во животных в группе	Препарат (вариант опыта)	Дозы, кол – во	Режим введения
1	6	Испытуемый препарат	1 шприц в каждую четверть вымени	Интрацестернально, ежедневно в течение 5 дней
2	6	Испытуемый препарат	2 шприца в каждую четверть	Интрацестернально, ежедневно в течение 5 дней
3	6	Контроль, вода для инъекций	3 мл в каждую четверть	Интрацестернально, ежедневно в течение 5 дней

Проводили отбор проб крови (натошак) для гематологического (количество эритроцитов, лейкоцитов (эозинофилов, базофилов, лимфоцитов, моноцитов) тромбоцитов, гемоглобин, СОЭ) и биохимического (креатинин, мочевины, билирубин общий, щелочная фосфатаза, глюкоза, общий белок, белковые фракции, альбумины, ALT, AST).

Для определения уровня NO в плазме крови, полученной от коров с субклинической формой мастита, использован метод спиновых ловушек, основанный на применении дитиокарбамата и железа.

Нитрит (NO_2), как показатель продукции NO, определяли в 100 мкл супернатантов клеточной культуры размером 5×10^4 М/М с использованием 100 мкл реактива Грисса (Sigma Chemical Company, Сент – Луис, Миссури). Содержание NO_2 рассчитывали по стандартной кривой NaNO_2 . Через 15 мин измеряли оптическую плотность при 540 нм (A_{540}). Для количественного определения индукции апоптоза измеряли конденсацию хроматина через 8, 16 и 24 ч и фрагментацию ДНК через 16 и 24 ч после заражения. Тройные копии 2×10^5 МФ, нанесенных на покровные стекла круглой формы диаметром 12 мм, культивировали на 24 – луночных планшетах для культивирования тканей и окрашивали пропидийдодидной (5 мкг/мл и 150 мкг/мл рибонуклеазой А) (компания Sigma, Сент – Луис, Миссури) для подсчета конденсированных ядер хроматина из 200 клеток на покровное стекло с помощью эпифлуоресцентного микроскопа (Leica, Microstar IV). Результаты представляют собой среднее значение ± 1 SD в процентах по результатам трех повторений трех независимых экспериментов. Аликвота 10^6 клеток, культивированных в тефлоновых колбах объемом 50 мл, использовали для подсчета фрагментированных ядер ДНК методом анализа TUNEL с набором APO – BRDU (BD Biosciences, Сан – Хосе, Калифорния) в соответствии с инструкциями производителя. Все клетки были окрашены в присутствии или отсутствие фермента TdT для контроля специфичности анализа. Количество флуоресцеинтиоцианат – позитивных клеток (FITC) определяли путем подсчета 1×10^4 клеток с использованием проточного цитометра (Coulter, EPICS Altra). Данные анализировали с помощью программного обеспечения Expo Altra v.2. Результаты представлены в виде гистограмм общего количества клеток в зависимости от сигнала FITC в логарифмической шкале. Значения представляют собой процентное содержание бромдезоксисуридин (BrdU) – FITC – позитивных клеток. Обработанные камптотецином (10 мкг/мл в течение 48 ч) МФ использовались в качестве контроля положительных

признаков апоптоза, тогда как неинфицированные МФ использовались в качестве отрицательного контроля.

Статистический анализ проводился с использованием GraphPad Prism версии 5.00 для Windows. Значение p , равное или менее 0,05, считалось статистически значимым.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Определение предрасположенности коров к маститам с использованием УЗИ – диагностики

Ультразвуковое исследование – это простой, неинвазивный метод визуализации паренхимы вымени и лимфатических узлов. Анализ эхотекстуры сонограмм вымени был использован для оценки паренхимы молочной железы и увеличения объема полученной информации. Эхотекстура это внешний вид, структура и расположение частей объекта на ультразвуковом изображении.

Мастит у крупного рогатого скота, согласно систематике, принятой в странах ЕС, это инфекционное и воспалительное заболевание молочной железы. Это наиболее распространенное и дорогостоящее заболевание молочного скота. Ранняя диагностика и своевременное лечение этого заболевания являются неотъемлемой частью его лечения.

Одним из методов ранней диагностики патологии молочной железы у коров является ультразвуковое исследование. С помощью ультразвукового исследования можно выявить гематомы, абсцессы, воспаление, рост тканей, врожденные патологии, повреждения слизистой оболочки и инородные тела в вымени.

Нами выявлено, что ультразвуковое исследование является эффективным методом для быстрого выявления субклинического мастита. Ультразвуковое исследование продемонстрировало взаимосвязь между течением мастита и изменениями размера лимфатических узлов (длина и ширина), а также другие морфологические характеристики. Эти критерии включали ширину соска, ширину доильной камеры, толщину стенки соска,

длину соскового канала. В дополнение к патогенным факторам, морфометрия вымени и сосков влияет на распространенность мастита.

По нашему мнению, существует сильная генетическая корреляция между молочной продуктивностью и особенностями типа вымени. Отбор коров по наиболее подходящим признакам, связанным с формой вымени, может повысить их продуктивность и снизить риск заболеваний, таких как мастит. Типовые признаки выявляются относительно рано и передаются по наследству.

До и после обработки нами были проведены измерения вымени и сосков, которые отображены в таблицах 5 и 6.

С помощью ультразвукового исследования нами были получены двумерные изображения тканей в режиме реального времени. Установив взаимосвязь между количеством соматических клеток, морфометрическими характеристиками сосков и лимфатическими узлами у высокопродуктивных молочных коров, мы готовы предложить эффективный и быстрый способ диагностики мастита.

Нами была проведена ультрасонографическая морфометрия 40 сосков 10 молочных коров в период их третьей лактации. Ширина соска, ширина соска в розетке Фюрстенберга, ширина доильной камеры, толщина стенки соска, длина доильного канала, а также размер лимфатического узла.

Также мы проанализировали все отклонения в секреции, размере, консистенции или температуре у всех дойных коров экспериментального хозяйства.

Ультразвуковое исследование паренхимы вымени, сосков и надвыменных лимфатических узлов у коров является оптимальным выбором для исследования, поскольку оно неинвазивно и требует минимальных усилий со стороны животных.



Рисунок 3 – Эхограмма здоровой доли вымени.

На изображении (рисунок 3) можно увидеть, как крупные молочные протоки впадают в цистерну железы. Степень наполненности молочной железы влияет на её эхогенность.

Этот характерный внешний вид обусловлен тем, что паренхима железы, имеющая более низкую эхогенную плотность, равномерно распределена по всей ткани. Соединительная ткань, обладающая более высокой эхогенностью, также равномерно распределена в молочной железе.

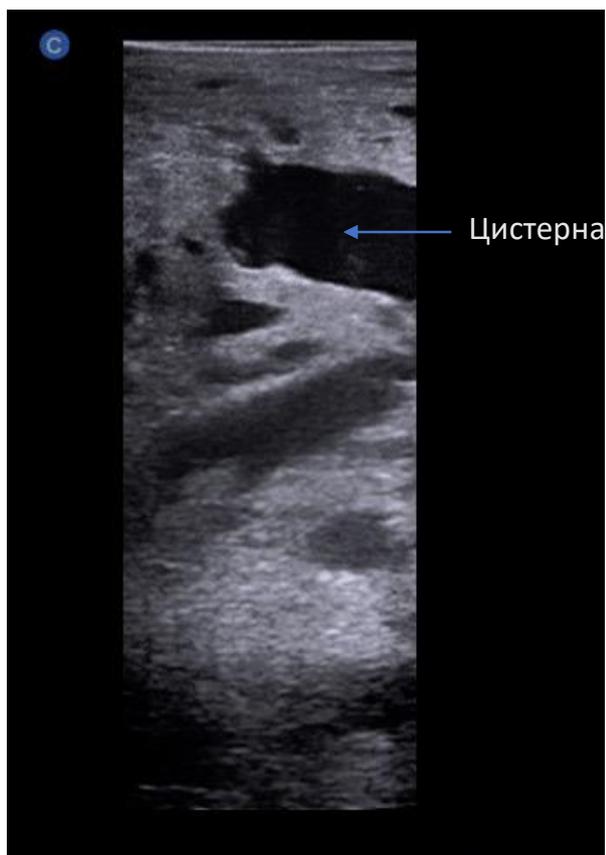


Рисунок 4 – Эхограмма доли вымени при субклиническом мастите.

Ультразвуковые наблюдения рисунка 4 при субклиническом мастите включают аномальную форму соскового канала и пазухи, отсутствие трёхслойности соска, перекрывающийся сосочковый проток. На снимке чётко видны паренхима вымени и пазухи железы. Также наблюдались утолщение стенки соска и увеличение его диаметра, а также закупорка соска по Фюрстенбергу гиперэхогенными, казеозными материалами в сосковой камере. Пораженный сосок коровы включает в себя гиперэхогенные чешуйки, сосковый канал и Фюрстенберг исчезают. Наблюдалось толстая гиперэхогенная стенка соска, а также множество гиперэхогенных структур в полости соска и паренхиме вымени и полное замещение молочных альвеол гиперэхогенной фиброзной тканью.

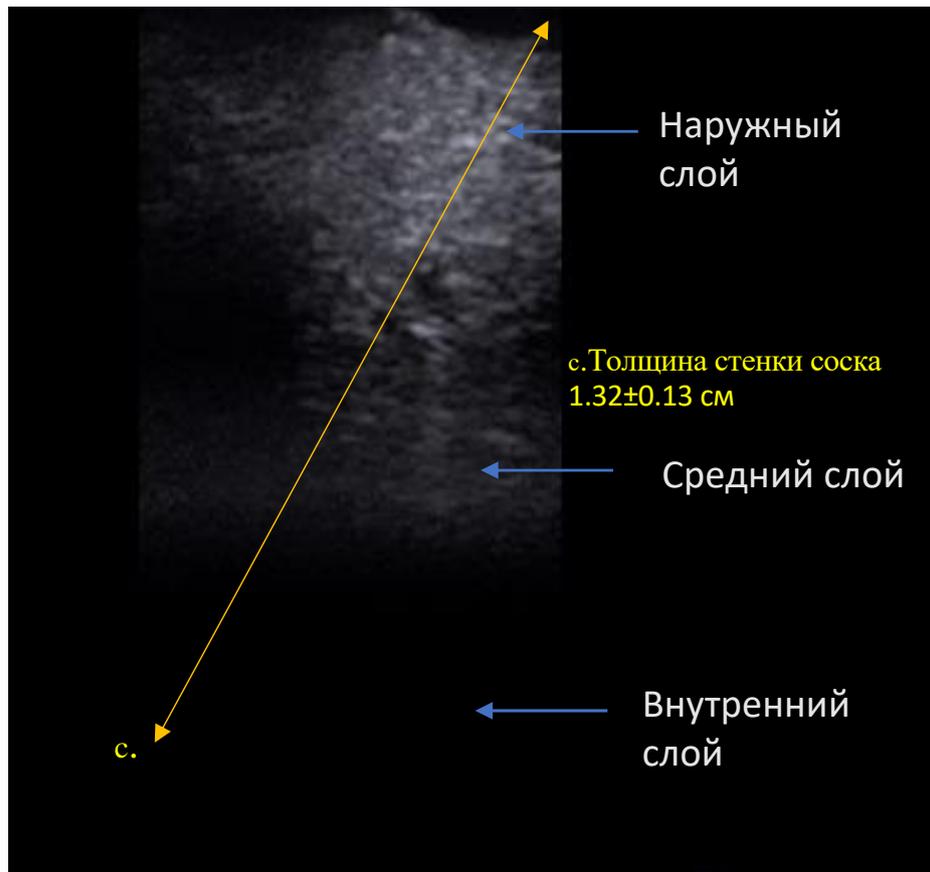


Рисунок 5 – Эхограмма стенки соска по слоям

На рисунке 5 было выявлено, что стенки сосков имеют типичную структуру, состоящую из трёх различных слоев:

1. Наружный слой, который отличается высокой эхогенностью.
2. Средний слой, отличающийся большей толщиной и более низкой эхогенностью.
3. Внутренний слой, стенки которого расширены и анэхогенные.

У коров при субклиническом мастите была частично видна сосковая камера (рисунок 6), Наличие гипоэхогенного казеозного материала полностью закупорило доильную камеру, и трехслойный рисунок стенки соска был нарушен.

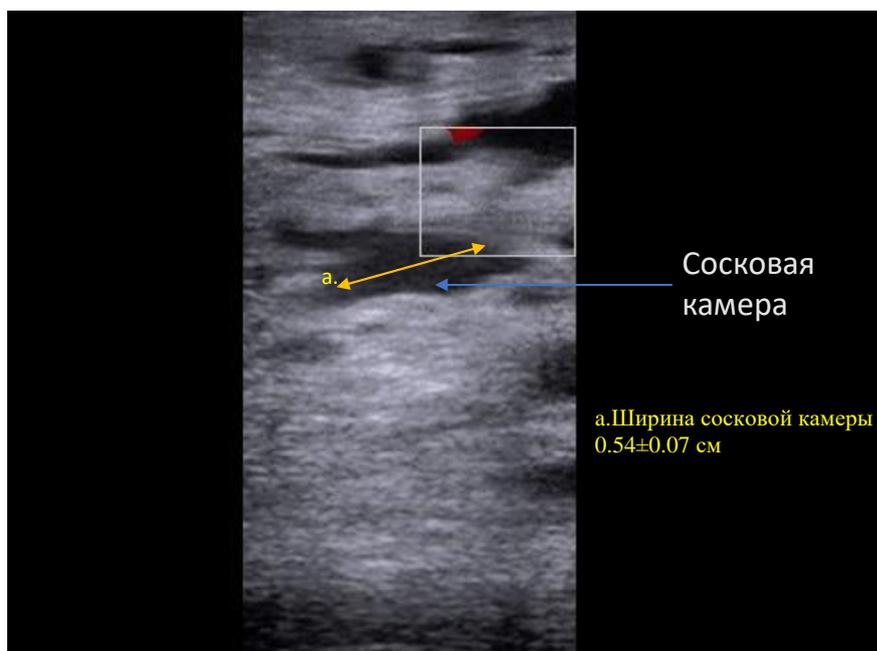


Рисунок 6 – Эхограмма доли вымени при субклиническом мастите

Ширина соска в пораженных отделах была больше ($2,16 \pm 0,15$ см) ($P < 0,05$), чем ширина соска ($1,84 \pm 0,12$ см), у животных с отрицательным тестом на мастит и количество соматических клеток ≤ 150 клеток/мл (таблица 6).

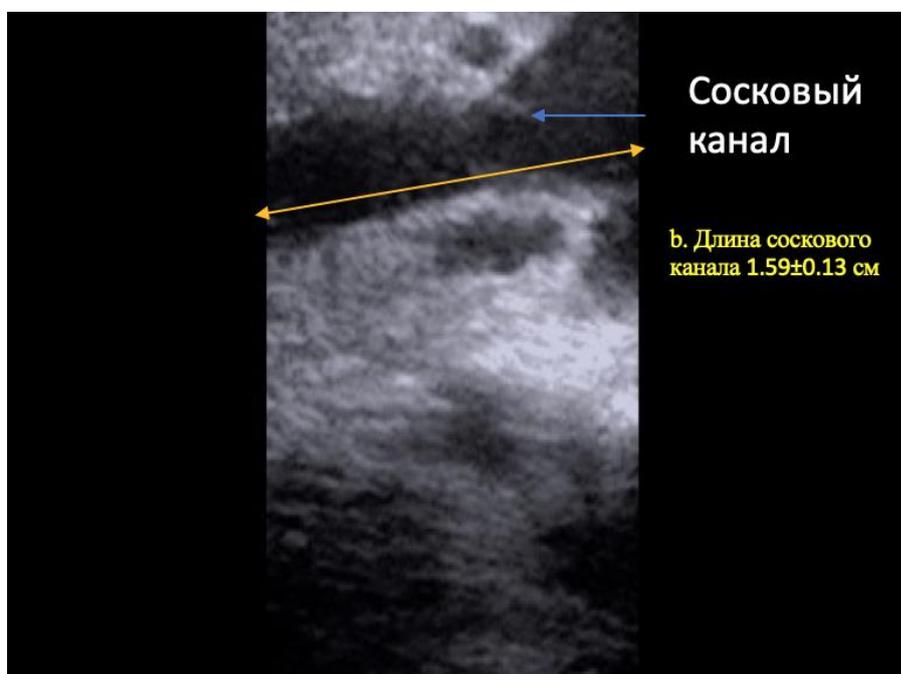


Рисунок 7 – Эхограмма соскового канала здоровой доли вымени

Во время нашего исследования были хорошо видны наружный, средний и внутренний гиперэхогенные слои стенки соска (рисунок 8). Между

цистерной и соском имелась кольцевая складка. От венозного кольца Фюрстенберга отходили дополнительные кровеносные артерии. Сосковый канал (рисунок 7) и синус имели правильные очертания.

Ширина соска у розетки Фюрстенберга в пораженных участках была больше, чем у здоровых коров, на $1,89 \pm 0,14$ см и $1,69 \pm 0,14$ см соответственно (таблица 5). Средняя толщина стенки соска составила $1,62 \pm 0,17$ см у коров с маститом и $1,30 \pm 0,11$ см в контроле ($P < 0,05$); размеры полости соска были аналогичными ($0,52 \pm 0,07$ см и $0,56 \pm 0,07$ см соответственно; $P > 0,05$) (таблица 5).

Длина соскового канала до и после лечения составила $1,84 \pm 0,15$ см и $1,59 \pm 0,13$ см соответственно ($P < 0,05$) (таблица 5).

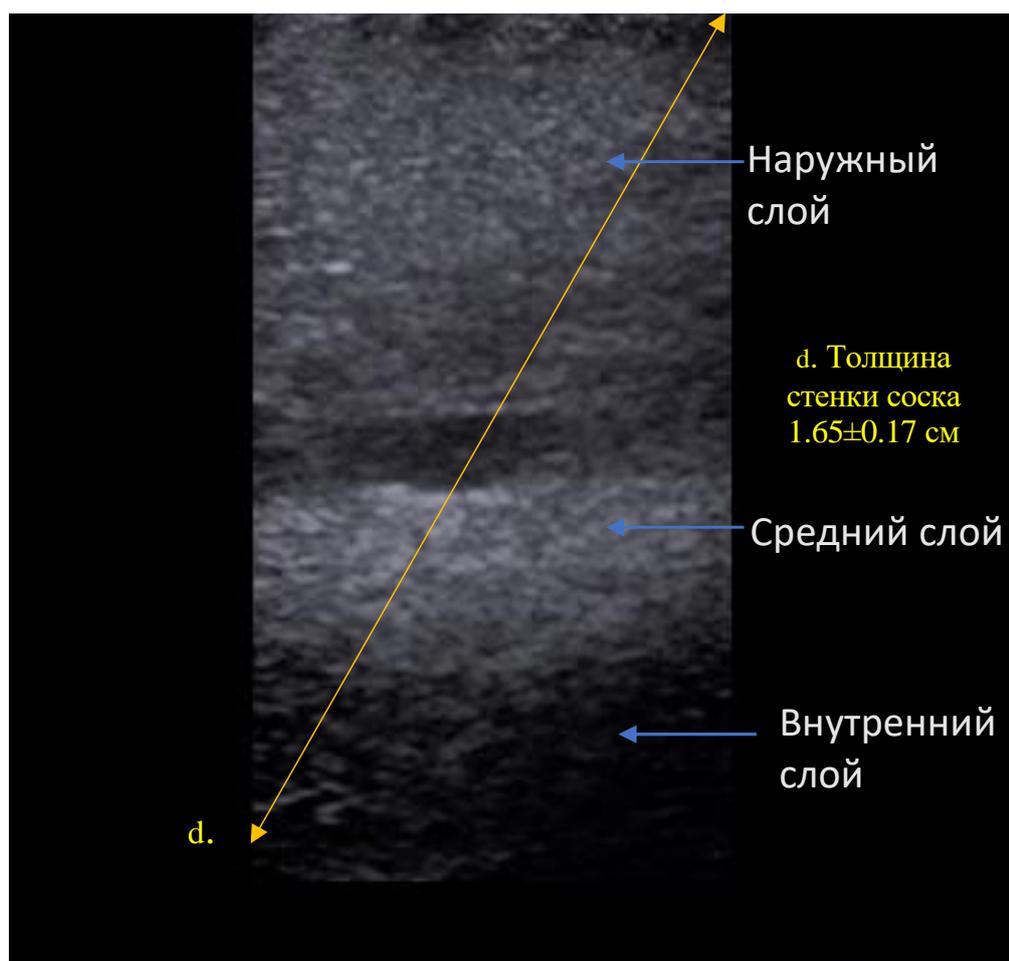


Рисунок 8 – Эхограмма стенки соска по слоям при субклиническом мастите

Таблица 4 – Показатели молочной железы после диагностики с биохимическими тестами (n=10)

Показатель	До лечения	После лечения
Калифорнийский тест на мастит	Сомнительный результат	Сомнительный результат
Количество соматических клеток	625,27±69,91	129,26±27,41*

* – P <0,05;

Таблица 5 – Показатели молочной железы при УЗИ диагностике (n=10)

Показатель	До лечения	После лечения
Ширина соска	2,19±0,15	1,84±0,12*
Ширина соска в розетке Фюрстенберга	1,93±0,17	1,72±0,15*
Толщина стенки соска	1,65±0,17	1,32±0,13*
Ширина полости соска	0,54±0,07	0,57±0,07*
Длина соскового канала	1,84±0,15	1,59±0,13**

* – P <0,05; ** – P <0,01

Таблица 6 – Фенотипические показатели молочной железы во время исследования (n=10)

Показатель	До лечения	После лечения
Окружность вымени	148,61±6,50	136,57±5,97**
Глубина вымени	44,47±3,47	40,47±3,16**
Длина вымени	60,54±4,50	56,24±4,18**
Длина соска	6,39±0,83	5,60±0,73**
Диаметр соска	2,51±0,23	2,22±0,20**
Кратчайшее расстояние от кончиков сосков до пола	42,21±2,55	43,65±2,58*

* – P <0,05; ** – P <0,01

При проведении сонографического мониторинга секреторной системы вымени КРС нами обнаружены следующие закономерности анатомического строения:

- Животные с увеличенным резервуаром цистернального типа (86 куб. см) демонстрируют магистральную сеть ветвления секреторных каналов.

- Особи, характеризующиеся промежуточными и минимальными параметрами цистернального объема (диапазон 38-52 куб. см), отличаются комбинированной протоковой системой.
- Животные с редуцированными показателями цистерны обладают дисперсной конфигурацией ветвления выводящих протоков.

Наше исследование охватило билатеральную визуализацию 10 лимфотических узлов. Интрамаммарный лимфатический узел располагается в субэпителиальной зоне вымени. Физиологическая морфология узла характеризуется овоидной конфигурацией с эхопозитивной полостью при гипоехогенной структуре паренхимы. Морфометрические параметры интрамаммарного лимфатического узла определялись посредством портативного сонографического аппарата “Chison sonotouch” с конвексным датчиком частотного диапазона 3,5–5 МГц.

Продольный размер лимфоидной структуры на преклинической стадии терапии превышал аналогичный показатель постклинического периода на $6 \pm 1,07$ см. Поперечная метрика узла до терапевтического вмешательства составила $3,37 \pm 0,78$ см, с последующей редукцией до $2,63 \pm 0,62$ см после лечебных мероприятий. Цитологический профиль соматических элементов выступает индикатором структурной деструкции тканевого комплекса вымени при воспалении и служит маркером иммунологической реакции организма на патогенную флору. Повышенная концентрация соматических клеточных элементов негативно коррелирует с качественными характеристиками молока.

Сонографическая диагностика субклинической формы мастита визуализирует повышенную эхогенность цистернального содержимого при сохранении анатомической целостности сосковой стенки и канала. Хронический патологический процесс характеризуется гиперэхогенными экскретатами и фокальными участками усиленной эхогенности в паренхиматозной ткани. Ультрасонографический метод обеспечивает

выявление структурных альтераций, прогностическую оценку и мониторинговый контроль терапевтической эффективности.

Сонографические трансформации на всех фазах воспалительного процесса, затрагивающие вымя, соски молоко, демонстрируют переменную эхогенную картину. Паренхиматозный компонент молочной железы представлен гомогенной гипоэхогенной структурой; сосудистые магистрали визуализируются как анэхогенные элементы; лобулярные и альвеолярные структуры имеют сферическую анэхогенную конфигурацию. Цистернальная полость эхопозитивна вследствие аккумуляции секрета, с неравномерным контуром стенки из-за множественных протоковых отверстий. Лактоферные каналы и артериальные стволы вымени представлены анэхогенными образованиями. При остром мастите паренхима характеризуется гетерогенностью со сниженной или повышенной эхогенной активностью. Хронические патологические процессы сопровождаются гиперэхогенностью железистой ткани с редукцией количественных параметров лактоферных протоков.

Диаметральные характеристики соскового канала и толщина стенки соска являются диагностически значимыми параметрами. В здоровом органе ультрасонографическая картина демонстрирует гомогенную гипоэхогенную паренхиму с включениями анэхогенных сосудистых, альвеолярных и протоковых структур. Цистернальная аккумуляция секрета визуализируется как расширенное анэхогенное пространство с минимальными гипоэхогенными включениями. Сосковый канал идентифицируется как унитарная гипоэхогенная зона, отграниченная от цистернальной полости циркулярной структурой.

Ультрасонографический метод обеспечивает визуализацию тканевых комплексов в двухмерной проекции в режиме реального времени.

3.2. Определение терапевтической эффективности препарата «Антимаст №13»

Первый этап исследований проводили в рамках договора по созданию научно – технической продукции с ООО «НВЦ Агроветзащита». Была определена переносимость препарата «Антимаст №13» на целевых видах животных – крупный рогатый скот.

На протяжении опыта при осмотре опытных животных получавших препарат в терапевтической дозе в течение 42 дней изменений со стороны тканей вымени не отмечено, клинических изменений в общем состоянии и отклонений в поведении не наблюдалось, также не было замечено нарушений двигательной активности и аппетита.

Температура тела животных, во время проведения исследования оставалась в пределах физиологических значений во всех группах коров, и не отличались от показателей контрольных групп животных (таблица 8).

Таблица 7 – Референсные значения температуры тела животных

Вид животных	Температура тела, °С
коровы	38,2 – 39,5

Таблица 8 – Динамика температуры тела животных (n=6)

№	№ группы	Средняя температура тела (°С) в ходе эксперимента (сутки)			
		до нанесения	15 сутки	43 сутки	52 сутки
1	1 – я опытная (коровы)	38,34±0,35	38,43±0,32	38,54±0,49	38,42±0,38
2	2 – я опытная (коровы)	38,62±0,64	38,48±0,41	38,57±0,28	38,54±0,35
3	3 – я контрольная (коровы)	38,21±0,05	38,42±0,38	38,42±0,25	38,46±0,39

Температура тела у животных из 1,2 и 3 групп в течение всего опыта варьировалась на средних значениях нормы. Общее состояние животных было без ухудшений

На основании этих данных, а также результатов проведения клинического осмотра, можно сделать вывод, что препарат не угнетает и не ухудшает общее состояние животных во время его применения.

Данные, полученные при оценке количества соматических клеток в молоке коров в процессе опыта, представлены в таблице 9.

Эти клетки всегда присутствуют в молоке, так как в вымени происходит отторжение старых клеток, в результате чего они попадают в молоко, однако повышенное содержание соматических клеток может свидетельствовать о наличии какого – либо воспалительного процесса.

Таблица 9 – Динамика количества соматических клеток в молоке у коров в течение экспериментального периода, тыс./ см³ (n=6)

Группа животных	Период исследования			
	До нанесения	15 день	43 день	52 день
1 группа n=6	130,8±16,2	123,8±18,9	139,7±17,8*	174,3±14,9**
2 группа n=6	143,4 ±15,1	158,8±12,2*	159,8±16,2*	216,4±16,8
3 группа n=6	108,8±13,9	122,5±12,6*	121,5±14,2**	179,8±15,1**

* – P <0,05; ** – P <0,01

При анализе количества соматических клеток в молоке коров на протяжении экспериментального периода во группах, которым применяли препарат, не установлено повышения количества этих клеток за границу нормы (500 тыс/см³), а также показатели не сильно превышают данные контрольной группы, что свидетельствует об отсутствии негативного воздействия на ткани вымени.

Таким образом, можно сделать вывод, что применение препарата в терапевтической и двукратной терапевтической дозах не вызывает увеличения количества соматических клеток в молоке крупного рогатого скота.

Таблица 10 – Молочная продуктивность подопытных коров, л (n=6)

Группа животных	Период исследования			
	До нанесения	15 день	43 день	52 день
1 группа n=6	31,5±9,4	30,2±10,6	35,3±10,1	34,2±8,7*
2 группа n=6	31,2±5,4	30,7±6,4	30,8±5,8	30,9±4,7
3 группа n=6	30,7±10,5	29,1±10,6	29,3±10,5	29,5±10,5

* – $P < 0,05$;

Данные молочной продуктивности, полученные за период исследования отображены в таблице 10.

Из полученных результатов следует вывод, что применение препарата, как в терапевтической, так и в двукратной терапевтической дозах не приводит к понижению молочной продуктивности у коров.

Также, для оценки влияния препарата на молочную железу, был проведен анализ качественных показателей молока коров (таб. 11 – таб. 13).

Таблица 11 – Динамика качественных показателей молока у коров первой группы (n=6)

Показатель	Период исследования			
	До нанесения	15 день	43 день	52 день
Жир, %	3,7±0,3	3,7±0,2	3,8±0,3	3,7±0,4
Белок, %	5,5±1,7	5,6±1,8	5,4±1,9	5,5±1,7
СОМО, %	9,5±0,3	9,4±0,08	9,4±0,2	9,4±0,3

Таблица 12 – Динамика качественных показателей молока у коров второй группы (n=6)

Показатель	Период исследования			
	До нанесения	15 день	43 день	52 день
Жир, %	3,7±0,1	3,6±0,2	3,8±0,1	3,4±0,3
Белок, %	5,7±1,6	5,5±1,4	5,8±1,65	5,9±1,6
СОМО, %	9,1±0,2	9,1±0,4	9,2±0,2	9,4±0,2

Таблица 13– Динамика качественных показателей молока у коров третьей группы (n=6)

Показатель	Период исследования			
	До нанесения	15 день	43 день	52 день
Жир, %	3,6±0,3	3,6±0,4	3,8±0,3	3,7±0,3
Белок, %	5,8±0,8	5,6±1,0	5,6±1,0	5,8±0,9
СОМО, %	9,2±0,5	9,05±0,4	9,3±0,5	9,2±0,4

Обеспечение безопасности ветеринарных препаратов является фундаментальным аспектом современной ветеринарной медицины. Особую значимость данный вопрос приобретает при разработке и внедрении лекарственных средств для продуктивных животных, в частности, крупного рогатого скота. Применение ветеринарных препаратов у дойных коров требует тщательной оценки не только терапевтической эффективности, но и отсутствия негативного влияния на качество получаемой продукции и общее состояние животных. В нашем исследовании представлены результаты комплексного исследования безопасности препарата «Антимаст №13» для крупного рогатого скота с оценкой его влияния на различные физиологические параметры и качество молока.

Исследование проводилось на трех группах коров: две экспериментальные и одна контрольная. Животные первой экспериментальной группы получали препарат в терапевтической дозе, второй группы – в двукратной терапевтической дозе. Препарат применялся наружно дважды в день на протяжении 42 суток. Контрольная группа не подвергалась воздействию исследуемого препарата.

Для всесторонней оценки безопасности препарата «Антимаст №13» проводили исследования, которые включали в себя:

- Анализ качественных показателей молока до начала применения препарата, в процессе лечения и после его завершения;
- Биохимическое исследование крови для оценки функционального состояния внутренних органов;
- Исследование морфологического состава клеток периферической крови и уровня гемоглобина;
- Мониторинг общего состояния животных, включая температуру тела и динамику массы;
- Оценка состояния кожи вымени и измерение морфометрических параметров вымени до и после лечения;

Аналитическая оценка качественных характеристик молока (таблицы 11-13) продемонстрировала отсутствие статистически значимых изменений при применении препарата «Антимаст №13». Исследование подтвердило безопасность ветеринарного препарата при длительном применении у крупного рогатого скота. Показатели молока животных экспериментальных групп не отличались от аналогичных параметров контрольной группы и находились в пределах физиологической нормы как при использовании терапевтической, так и двукратной терапевтической дозы.

Данный факт имеет особую значимость, поскольку современные ветеринарные препараты для крупного рогатого скота должны соответствовать строгим критериям безопасности, особенно в отношении влияния на качество молочной продукции. Отсутствие негативного

воздействия на молоко свидетельствует о высоком уровне безопасности препарата «Антимаст №13».

Биохимические показатели крови коров оставались в пределах референсных значений на протяжении всего исследования. Результаты биохимического анализа крови (таблицы 14-17) не выявили статистически достоверных отклонений между экспериментальными и контрольной группами. Все исследуемые параметры соответствовали физиологическим нормам для данной породы и возрастной категории животных.

Особое внимание уделялось маркерам функционального состояния печени и почек, поскольку эти органы играют ключевую роль в метаболизме и элиминации лекарственных веществ. Отсутствие патологических изменений в биохимических показателях свидетельствует о том, что препарат «Антимаст №13» не оказывает токсического воздействия на внутренние органы даже при длительном применении в повышенной дозировке.

Исследование морфологического состава клеток периферической крови и уровня гемоглобина (таблица 18) также не выявило отклонений от физиологической нормы. Качественные ветеринарные препараты не должны влиять на биохимические показатели крови животных, что и было подтверждено в ходе данного исследования.

Результаты гематологического исследования, проведенного до начала применения препарата, показали сопоставимость показателей у животных всех групп. В процессе исследования не было зафиксировано выхода гематологических параметров за пределы референсных значений, что подтверждает отсутствие негативного влияния препарата на систему кроветворения.

Особое внимание уделялось безопасности применения препаратов у дойных коров для сохранения качества молока. Комплексная оценка общего состояния животных, включая мониторинг температуры тела, динамику

массы и состояние кожных покровов вымени, не выявила каких-либо нежелательных реакций на применение препарата.

Ежедневное двукратное наружное применение препарата «Антимаст №13» в течение 42 суток не оказывало отрицательного воздействия на общее состояние коров, не вызывало изменений кожи вымени и не влияло на температуру тела. Терапевтическая доза ветеринарного препарата «Антимаст №13» не вызывала нежелательных реакций у подопытных животных, что также подтверждалось при использовании двукратной терапевтической дозы.

Важным аспектом исследования стала оценка морфометрических параметров вымени до и после применения препарата. Были зафиксированы следующие изменения:

- Уменьшение окружности вымени с $148,65 \pm 6,54$ см до $136,57 \pm 5,97$ см;
- Сокращение диаметра вымени с $44,47 \pm 3,47$ см до $40,47 \pm 3,16$ см;
- Уменьшение длины вымени с $60,54 \pm 4,50$ см до $56,24 \pm 4,18$ см;
- Сокращение общей длины соска с $6,39 \pm 0,83$ см до $5,64 \pm 0,73$ см;
- Уменьшение диаметра соска с $2,51 \pm 0,23$ см до $2,22 \pm 0,21$ см;
- Увеличение расстояния от кончика соска до пола с $42,21 \pm 2,52$ см до $43,65 \pm 2,58$ см.

Данные изменения свидетельствуют о положительной динамике состояния вымени, что может указывать на терапевтическую эффективность препарата «Антимаст №13» при лечении патологических состояний молочной железы.

Полученные результаты демонстрируют высокий профиль безопасности исследуемого ветеринарного препарата «Антимаст №13» при длительном применении у крупного рогатого скота. Отсутствие негативного влияния на качество молока имеет особую значимость, поскольку позволяет применять препарат у дойных коров без необходимости выбраковки молока в период лечения.

Сохранение биохимических и гематологических показателей в пределах физиологической нормы свидетельствует об отсутствии

токсического воздействия препарата на внутренние органы и систему кроветворения. Это особенно важно при длительных курсах лечения, когда риск кумулятивного токсического эффекта возрастает.

Положительная динамика морфометрических параметров вымени указывает на потенциальную терапевтическую эффективность препарата «Антимаст №13» при патологических состояниях молочной железы, что открывает перспективы для его применения в лечении вымени у коров.

Проведенное исследование представляет собой комплексную оценку ветеринарного препарата «Антимаст №13» для крупного рогатого скота. Результаты исследования убедительно демонстрируют отсутствие негативного влияния препарата на качество молока, функциональное состояние внутренних органов и общее состояние животных при длительном применении, как в терапевтической, так и в двукратной терапевтической дозе.

Положительная динамика морфометрических параметров вымени указывает на перспективность применения препарата в лечении патологических состояний молочной железы у крупного рогатого скота.

3.3 Совершенствование профилактики субклинического мастита при использовании препарата «Антимаст 13».

Для постановки предварительного диагноза на субклинический мастит проводили экспресс диагностику состояния здоровья вымени с Калифорнийским мастит – тестом, и на основании полученных данных было сформировано в молочном комплексе АО «Леднево» две группы животных по 10 голов. Все животные имели сомнительную реакцию на Калифорнийский экспресс метод. Вторая группа была контрольная, а коровам, входившим в первую группу на вымя, наносили препарат «Антимаст №13» для профилактики развития патологии молочной железы. Препарат опытной группе коров наносили на вымя в дозе 50 г. на животное.

Таблица 14 – Биохимические показатели крови коров до первого нанесения препарата (n=6, P<0,05)

Показатель	Билирубин общий (мкмоль/л)	АСТ (ЕД/л)	АЛТ (ЕД/л)	Мочевина (ммоль/л)	Креатинин (мкмоль/л)	Общий белок	Альбумин	ЩФ	Глюкоза (ммоль/л)
Группа животных /Единицы измерения	мкмоль/л	ЕД/л	ЕД/л	ммоль/л	мкмоль/л	г/л	г/л	Ед/л	ммоль/л
Норма	0,7-14	45-110	6,9-35	2,8-8,8	56-162	60-80	28-39	18-153	2,3-4,1
1 группа n=6	3,9±1,1	88,8±12,3	25,5±4,6	5,4±1,64	89,8±5,6	68,6±2,3	36,4±3,6	133,2±28,1	2,6±0,2
2 группа n=6	4,5±2,2	85,5±9,8	25,3±2,8	5,0±0,7	103,2±10,6*	71,7±5,9	36,8±2,4	111,7±23,7*	2,6±0,6
3 группа n=6	2,8±0,5*	88,0±18,3	28,5±5,3*	6,7±1,2*	92,1±11,7	71,5±3,9	35,1±3,4	123,5±15,4	3,0±0,5

* – P < 0,05;

Таблица 15 – Биохимические показатели крови коров на 15 день исследования (n=6, P<0,05)

8

Показатель	Билирубин общий (мкмоль/л)	АСТ (ЕД/л)	АЛТ (ЕД/л)	Мочевина (ммоль/л)	Креатинин (мкмоль/л)	Общий белок	Альбумин	ЩФ	Глюкоза (ммоль/л)
Группа животных /Единицы измерения	мкмоль/л	ЕД/л	ЕД/л	ммоль/л	мкмоль/л	г/л	г/л	Ед/л	ммоль/л
Норма	0,7-14	45-110	6,9-35	2,8-8,8	56-162	60-80	28-39	18-153	2,3-4,1
1 группа n=6	3,9±1,1	85,1±15,7	29,6±4,9	5,8±1,3	88,8±12,2	73,1±3,8	36,6±2,1	125,8±28,1	2,8±0,5
2 группа n=6	3,7±0,4	85,2±9,6	28,2±3,0	6,3±0,7	83,5±3,6	72,9±1,6	48,6±0,4*	154,5±22,0**	2,7±0,5
3 группа n=6	3,9±1,3	79,3±24,2*	27,9±4,8	4,9±1,0	106,5±10,6*	74,5±4,5	38,3±0,6	110,4±13,6**	3,3±0,4

* – P < 0,05; ** – P < 0,01

Таблица 16 – Биохимические показатели крови коров на 43 день исследования (n=6, P<0,05)

Показатель	Билирубин общий (мкмоль/л)	АСТ (ЕД/л)	АЛТ (ЕД/л)	Мочевина (ммоль/л)	Креатинин (мкмоль/л)	Общий белок	Альбумин	ЩФ	Глюкоза (ммоль/л)
Группа животных /Единицы измерения	мкмоль/л	ЕД/л	ЕД/л	ммоль/л	мкмоль/л	г/л	г/л	Ед/л	ммоль/л
Норма	0,7-14	45-110	6,9-35	2,8-8,8	56-162	60-80	28-39	18-153	2,3-4,1
1 группа n=6	3,9±1,3	79,3±24,2	27,9±4,8	4,9±1,0	106,5±10,6	74,5±4,5	36,8±2,0	110,4±13,6	3,3±0,4
2 группа n=6	4,6±1,7	66,7±15,3	25,1±6,7	5,2±0,8	88,3±15,9*	78,3±2,6*	37,9±4,2	114,0±30,5	3,2±0,2
3 группа n=6	5,2±0,9*	89,7±10,6*	21,7±3,0*	5,6±1,2*	109,6±18,4	72,9±6,7	33,3±3,4	114,7±9,4	3,4±0,3

Таблица 17 – Биохимические показатели крови коров на 52 день исследования (n=6, P<0,05)

Показатель	Билирубин общий (мкмоль/л)	АСТ (ЕД/л)	АЛТ (ЕД/л)	Мочевина (ммоль/л)	Креатинин (мкмоль/л)	Общий белок	Альбумин	ЩФ	Глюкоза (ммоль/л)
Группа животных /Единицы измерения	мкмоль/л	ЕД/л	ЕД/л	ммоль/л	мкмоль/л	г/л	г/л	Ед/л	ммоль/л
Норма	0,7-14	45-110	6,9-35	2,8-8,8	56-162	60-80	28-39	18-153	2,3-4,1
1 группа n=6	5,5±2,8	84,0±9,0	27,5±5,9	4,5±1,0	106,2±20,4	76,6±7,7	35,5±3,7	125,4±20,2	3,6±0,2
2 группа n=6	4,5±1,9	64,0±10,3**	19,9±4,6	4,2±0,7	80,5±14,3*	78,1±3,4	35,1±1,5	101,8±22,0	3,3±0,1
3 группа n=6	4,7±1,3	81,4±10,9	16,2±2,5**	4,5±1,1	92,9±9,4	74,1±5,7	32,3±1,8	87,1±20,2*	3,3±0,2

* – P <0,05; ** – P <0,01

Таблица 18 – Гематологические показатели крови коров за весь период исследования (n=6, P<0,05)

Показатель	НСТ Гематокрит	HGB Гемоглобин	RBC Эритроциты	PLT Тромбоциты	WBC Лейкоциты	Палочко- ядерные нейтрофилы	Сегментояде- рные нейтрофилы	Эозинофилы	Базофилы	Моноциты	Лимфоциты	СОЭ
Группа животных /Единицы измерения	%	г/л	10 ¹² /л	10 ¹¹ /л	10 ⁹ /л	%	%	%	%	%	%	мм/ч
Норма	24-46	8-15	5-10	1-8	4-12	0-2	15-45	2-20	0-2	0-4	45-75	0,1-0,6
До нанесения препарата												
1 группа n=6	37,2±4,4	10,0±1,6	7,4±1,2	5,3±0,8	7,8±1,0	0,5±0,8	34,0±8,7	3,3±3,7	1,2±0,2	1,8±1,9	69,8±12,5	0,4±0,1
2 группа n=6	37,1±6,0	10,0±1,2	7,8±1,4	3,9±1,8	8,3±2,3	0,7±0,8	37,5±5,5*	4,7±3,0	1,3±0,5	1,2±1,3	55,7±6,3*	0,3±0,1
3 группа n=6	38,4±6,1	13,5±1,4*	7,7±1,5	5,9±1,3	5,6±1,8*	0,5±0,8	35,2±8,4	6,0±3,8	0,7±0,2	0,5±0,5	57,5±7,5	0,3±0,1
15 день												
1 группа n=6	37,2±3,3	10,2±0,9	6,9±0,7	5,3±0,7	7,3±1,7	0,8±0,8	39,2±5,5	8,3±3,5	0,9±0,2	1,3±1,2	59,0±5,3	0,3±0,1
2 группа n=6	38,0±3,5	12,3±1,0*	7,7±0,7	4,3±0,6	5,3±1,3	0,7±0,8	31,8±7,6*	4,3±3,3*	1,1±0,3	0,7±0,1*	59,0±6,4	0,3±0,1
3 группа n=6	39,8±3,8*	12,3±2,0*	8,2±1,0	5,8±0,8	5,2±1,1	0,8±1,0	31,0±6,0*	6,3±2,7	1,4±0,2	0,8±0,1	60,2±6,8	0,3±0,1
43 день												
1 группа n=6	38,7±2,3	11,2±1,1	6,8±0,5	4,9±0,5	5,7±1,2	0,3±0,8	29,2±6,2	4,2±4,1	1,3±0,2	1,2±1,2	61,5±8,5	0,3±0,1
2 группа n=6	39,5±2,0	11,6±1,5	7,6±0,9	4,3±0,6	5,9±0,9	0,8±0,8	32,5±8,7	3,8±2,1	1,2±0,4	0,2±0,4	62,5±8,9	0,3±0,1
3 группа n=6	41,6±2,1	12,3±1,8	7,9±0,6	4,3±0,9	4,8±0,9	0,3±0,5	30,3±8,0	7,7±5,9	1,0±0,2	0,5±0,5	60,3±3,6	0,4±0,1
52 день												
1 группа n=6	37,9±2,8	12,1±1,4	6,0±0,8	4,8±0,7	5,3±0,5	0,7±0,8	27,2±5,1	6,7±3,7	1,4±0,2	1,5±1,4	62,7±3,6	0,2±0,1
2 группа n=6	35,2±3,1	11,4±1,5	6,3±1,3	4,7±0,6	5,0±0,5	0,3±0,5	30,3±8,9	5,0±4,7	1,2±0,3	0,3±0,5	62,8±6,9	0,2±0,1
3 группа n=6	37,4±0,8	12,1±1,0	6,7±1,9	4,9±0,3	4,2±0,6	0,8±0,8	30,0±7,2	4,7±4,5	1,1±0,3	1,0±1,1	62,7±6,0	0,2±0,1

* – P < 0,05;

Из таблицы 19 видно, что выход сухого вещества, молочного жира, молочного белка и лактозы у животных первой группы был выше, чем у животных второй группы. Соответственно, составил у коров на молочном комплексе $942,31 \pm 4,92$ против $771,50 \pm 8,50$ кг сухого вещества; $454,10 \pm 9,21$ против $384,51 \pm 7,73$ молочного жира; $391,20 \pm 7,46$ против $321,78 \pm 5,44$ молочного белка и $4,89 \pm 0,17$ против $4,34 \pm 1,17$ лактозы.

Наиболее ценным компонентом в составе молока является сухое вещество, основу которого составляет молочный жир, молочный белок, молочный сахар и минеральные вещества, витамины, ферменты.

Таблица 19 – Молочная продуктивность и биохимические показатели молока от коров при применении препарата «Антимаст №13» в АО «Леднево» (n=10)

Показатель	Комплекс (интенсивный способ содержания)	
	Первая группа	Вторая группа
Выход сухого вещества, кг	$942,31 \pm 4,92$	$771,50 \pm 8,50^*$
Выход молочного жира, кг	$454,10 \pm 9,21$	$384,51 \pm 7,73^*$
Выход молочного белка, кг	$391,20 \pm 7,46$	$321,78 \pm 5,44^*$
Выход лактозы, кг	$481,38 \pm 6,76$	$422,61 \pm 9,12^*$
Содержание в молоке сухого вещества, %	$12,34 \pm 0,11$	$10,82 \pm 0,22^*$
Сухое вещество в т.ч. СОМО, %	$8,34 \pm 0,33$	$7,54 \pm 0,24$
Жир, %:	$3,79 \pm 0,18$	$2,89 \pm 0,12$
Общий белок, %:	$3,18 \pm 0,09$	$3,16 \pm 0,11$
Казеин, %:	$2,74 \pm 0,23$	$2,58 \pm 0,15$
Альбумины, %	$0,53 \pm 0,17$	$0,69 \pm 0,10$
Глобулины, %	$0,58 \pm 0,10$	$0,19 \pm 0,08$
Лактоза, %	$4,89 \pm 0,17$	$4,34 \pm 1,17$
Кислотность, °Т	$16,83 \pm 0,31$	$13,63 \pm 0,28^*$
Плотность, кг/м ³ , не менее	$1028,09 \pm 4,81$	$1026,77 \pm 2,10$
Содержание соматических клеток, см ³ , не более	$3,28 \cdot 10^5 \pm 0,19 \cdot 10^5$	$8,54 \cdot 10^5 \pm 0,29 \cdot 10^5$

* – P < 0,05.

Содержание общего белка в первой группе коров составило $3,18 \pm 0,09\%$, а во второй группе отличалось незначительно и составило $3,16 \pm 0,11\%$, однако меньше содержание казеина во второй группе и составило $2,58 \pm 0,15\%$. В свою очередь выше содержание сывороточных белков во второй группе, что составило $0,69 \pm 0,10\%$ альбуминов.

В производственных условиях изменения качественного состава молока, вызванные субклиническими формами заболевания молочной железы, приводят к ухудшению качества вырабатываемых из такого молока продуктов.

При проведении исследований молока от коров контрольной группы обнаружили понижение содержания сухого вещества и изменения количественного соотношения между составными частями молока. Из таблицы видно, что содержание сухого вещества в молоке у коров первой группы превышало этот показатель в молоке коров вторых группы.

При нагревании молока, полученного от контрольных коров, часть сывороточных белков дестабилизировалась. Переход дестабилизированных сывороточных белков из растворенного состояния в нерастворимое сопровождалось их осаждением. Это связано с тем, что избыток сывороточных белков осаждается на стенках тепловой установки. Такое состояние молока не позволяет его использовать для получения качественных продуктов.

Титруемая кислотность молока коров первой исследуемой группы находилась в пределах, предусмотренных ГОСТом на заготавливаемое молоко, у коров же второй группы она снижена до $13,63 \pm 0,28^\circ\text{T}$, что свидетельствует о воспалительном процессе в молочной железе.

Содержание соматических клеток, которое было выше у животных второй группы по сравнению с первой группой, что также свидетельствует о начале воспалительного процесса в молочной железе. Плотность молока коров всех групп соответствовала норме, предусмотренной ГОСТом, но у

коров второй опытной группы была на нижней границе и составила $1026,77 \pm 2,10$.

Воспалительная реакция в молочной железе коров подтверждается содержанием соматических клеток, их количество в молоке второй группы достоверно повысилось ($8,54 \cdot 10^5 \pm 0,29 \cdot 10^5$ против $3,28 \cdot 10^5 \pm 0,19 \cdot 10^5$).

Через 7, 14 и 21 день проводили диагностику на субклинический мастит с Калифорнийским мастит – тестом у всех контрольных групп. В результате во второй группе, где не применяли для профилактики препарат «Антимаст №13» количество соматических клеток в молоке у коров, содержащихся в данном комплексе, достигло $8,54 \cdot 10^5 \pm 0,29 \cdot 10^5$ против $3,28 \cdot 10^5 \pm 0,19 \cdot 10^5$ в см^3 .

Следовательно, представляется актуальным изучение продуктивных качеств, физико – химических и технологических свойств, качественного состава, а также микробиологических и санитарно – гигиенических показателей молока коров для постановки более качественного диагноза на начальные стадии субклинического мастита.

Препарат «Антимаст №13» является высоко эффективным средством для профилактики и терапии субклинического и клинического мастита у коров в период лактации.

При производственном испытании применение препарата «Антимаст №13» способствовало сохранению молочной продуктивности у проблемных лактирующих коров на 14,1% при интенсивном способе содержания, и на 19,3% при экстенсивном способе.

3.4. Определение терапевтической эффективности препарата «Антимаст №1».

Второй этап исследований проводили в рамках договора по созданию научно – технической продукции с ООО «НВЦ Агроветзащита». Была определена переносимость препарата «Антимаст №1» на целевых видах животных – крупный рогатый скот.

Температура тела животных, гематологические и биохимические показатели на всем протяжении опыта оставались в пределах физиологических значений во всех группах коров, и не отличались от показателей контрольных групп животных (таблица 21).

Таблица 20 – Референсные значения температуры тела животных

Вид животных	Температура тела, °С
КРС	38,2–39,5

Таблица 21 – Динамика температуры тела животных (n=6)

№	№ группы	Средняя температура тела (°С) в ходе эксперимента (сутки)		
		до введения	6 сутки	14 сутки
1	1-я опытная (коровы)	38,68±0,19	38,83±0,19	39,08±0,13
2	2-я опытная (коровы)	38,86±0,13	38,85±0,13	38,65±0,13
3	3-я контрольная (коровы)	38,53±0,20	38,81±0,17	38,66±0,18

Температура тела у животных из 1, 2 и 3 групп в течение всего опыта варьировалась на средних значениях нормы. Общее состояние животных было без ухудшений.

На основании этих данных, а также результатов проведения клинического осмотра можно сделать вывод, что препарат не угнетает и не ухудшает общее состояние животных во время его применения.

Известно, что соматические клетки представляют собой клетки различных тканей и органов (клетки эпителия молочной железы, лейкоциты, эритроциты). Данные клетки всегда присутствуют в молоке, так как в вымени происходит отторжение старых клеток, в результате чего они попадают в молоко, однако повышенное содержание соматических клеток может свидетельствовать о наличии какого – либо воспалительного процесса.

При анализе количества соматических клеток в молоке коров на протяжении экспериментального периода в группах, которым применяли препарат, не установлено повышения количества этих клеток за границу

нормы (500 тыс/см³), а также показатели не сильно превышают данные контрольной группы, что свидетельствует об отсутствии негативного воздействия на ткани вымени.

Таблица 22 – Динамика количества соматических клеток в молоке у коров в течение экспериментального периода, тыс./ см³ (n=6)

Группа животных	Период исследования		
	До введения	6 день	14 день
1 группа	142,2±15,8	123,4±16,3	130,7±14,3
2 группа	121,3±16,4**	138,1±16,1**	124,9±17,1*
3 группа	125,4±14,5*	132,4±13,6*	127,2±15,1**

* – P <0,05; ** – P <0,01

Таким образом, можно сделать вывод, что применение препарата в терапевтической и двукратной терапевтической дозах не вызывает увеличения количества соматических клеток в молоке крупного рогатого скота.

Таблица 23 – Молочная продуктивность подопытных коров, л (n=6)

Группа животных	Период исследования		
	До введения	6 день	14 день
1 группа	36,1±9,4	29,2±10,6	36,7±10
2 группа	32,2±5,4*	32,8±6**	33,3±5,8*
3 группа	31,3±10,5**	30,3±10,6*	28,4±10,5**

* – P <0,05; ** – P <0,01

Из полученных результатов (таблица 23) следует вывод, что применение препарата, как в терапевтической, так и в двухкратной терапевтической дозах не приводит к понижению молочной продуктивности у коров.

Таким образом, можно сделать вывод, что препарат не оказывает негативное влияние на молочную продуктивность целевых животных.

Также, для оценки влияния препарата на молочную железу, был проведен анализ качественных показателей молока и коров (таб.24 – 27).

Таблица 24 – Динамика качественных показателей молока у коров первой группы (n=6, P<0,05)

Показатель	Период исследования		
	До введения	6 день	14 день
Жир, %	3,16±0,62	3,54±0,28	3,13±0,22
Белок, %	4,28±0,12	4,52±0,10	4,17±0,07
СОМО, %	9,94±0,81	8,41±0,41*	8,18±0,22*

* – P <0,05;

Таблица 25 – Динамика качественных показателей молока у коров второй группы (n=6, P<0,05)

Показатель	Период исследования		
	До введения	6 день	14 день
Жир, %	3,08±0,38	3,01±0,3	3,33±0,26*
Белок, %	4,64±0,18	4,52±0,4	4,61±0,09
СОМО, %	9,17±0,39	9,15±0,12	9,06±0,14

* – P <0,05;

Таблица 26 – Динамика качественных показателей молока у коров третьей группы (n=6, P≤0,05)

Показатель	Период исследования		
	До введения	6 день	14 день
Жир, %	3,39±0,40	3,64±0,42	3,68±0,25
Белок, %	4,48±0,08	4,57±0,06	4,55±0,09
СОМО, %	9,25±0,31	9,2±0,09	8,8±0,06*

* – P <0,05;

Анализируя полученные данные (табл. 24 – 27), можно сделать вывод, что препарат не оказывает негативного влияния на качественные показатели молока коров.

Результаты анализа молока свидетельствуют о том, что применения препарата в течение 5 дней не влияет на его качественные показатели, как при однократной, так и при двукратной терапевтических дозах. Данные, полученные от животных, которым применяли препарата, не рознятся с данными, полученными от контрольной группы, и не выходят за пределы референсных значений, из чего следует, что препарат при применении в течение 5 дней в терапевтической и двукратной терапевтической дозе не оказывает негативного влияния на ткани вымени и качество молока.

Для оценки функционального состояния внутренних органов проводили биохимический анализ крови животных опытных групп. Результаты исследований представлены в таблицах 28 – 30.

Таблица 27 – Динамика количества соматических клеток в молоке у коров в течение экспериментального периода, тыс./ см³ (n=6, P≤0,05)

Группа животных	Период исследования		
	До введения	6 день	14 день
1 группа	142,2±15,8	123,4±14,4**	130,7±19,3
2 группа	121±16,4	138,1±16,1*	124,9±17,1
3 группа	125,4±14,5	132,4±13,6*	127,2±15,2

* – P <0,05; ** – P <0,01

Анализ биохимических показателей крови коров первой и второй опытных групп, которым препарат применялся наружно один раз в день в течение пяти дней, не выявил статистически значимых различий между группами. Все показатели находились в пределах референсных значений, характерных для данной породы и возраста коров (таблицы 28 – 30). Это свидетельствует об отсутствии нарушений в функционировании почек и печени у животных опытных групп при использовании препарата в терапевтической и двукратной терапевтических дозах в течение пяти дней.

Влияние интрацистернального введения препарата Антимаст №1 на периферическую кровь у коров оценивали по морфологическому составу клеток и уровню гемоглобина. Результаты исследований представлены в таблице 31. Результаты биохимического исследования крови, отобранной до первого введения препарата, показали, что значения показателей у 1 и 2 опытных групп соответствуют значениям, полученным от контрольной группы. В последующие дни отбора проб, также не наблюдается выхода значений за пределы границ нормы, что свидетельствует об отсутствии нарушений в функциональном состоянии почек и печени у коров опытных групп при интрацистернальном введении препарата Антимаст №1 в

терапевтической и двукратной терапевтической дозах.

Гематологический анализ крови коров свидетельствует о том, что на протяжении всего эксперимента у животных опытных групп, также как у животных контрольной группы, показатели не выходили за границы нормальных значений, из чего следует вывод, что применение препарата Антимаст №1 в течение 5 дней один раз в сутки не вызывает изменений в составе крови.

Проведенные исследования позволяют заключить, что ежедневное двукратное введение препарата на протяжении 5 суток коровам в терапевтической и удвоенной терапевтической дозе не оказывает отрицательного влияния на общее состояние животных, состояние кожи вымени и динамику массы тела, не влияет на общую температуру тела. Также не было выявлено признаков каких – либо нежелательных реакций организма на применение препарата. Гематологические и биохимические показатели крови не выходили за пределы физиологической нормы, что свидетельствует об отсутствии негативного влияния препарата на внутренние органы (печень и почки). Результаты анализа проб молока также указывают на отсутствие воздействия препарата на молоко целевых животных.

Коровы с обнаруженным клиническим серозным маститом были разделены на группы, получавшие Антимаст №1 и препарат на основе гентамицина сульфат. В группе, получавшей Антимаст №1 (15 коров и 18 пораженных долей вымени), коровам интерцистернально вводили Антимаст №1 в дозе 3 мл; в группе, получавшей препарат на основе гентамицина сульфат (15 коровы и 16 долей вымени интерцистернально вводили препарат с в дозе 10 мл. Перед обработкой каждую поражённую четверть тщательно выдаивали вручную, а кончик соска очищали ватным тампоном, смоченным 70% – ным спиртом. Обработку проводили дважды в день (после утренней и дневной доек) до тех пор, пока не исчезли признаки воспаления и секрет молочной железы не стал визуально нормальным.

Коровы с обнаруженным клиническим серозным маститом были разделены на группы, получавшие Антимаст №1 и препарат на основе гентамицина сульфат. В группе, получавшей Антимаст №1 (15 коров и 18 пораженных долей вымени), коровам интерцистернально вводили Антимаст №1 в дозе 3 мл; в группе, получавшей препарат на основе гентамицина сульфат (15 коровы и 16 долей вымени интерцистернально вводили препарат с в дозе 10 мл. Перед обработкой каждую поражённую четверть тщательно выдаивали вручную, а кончик соска очищали ватным тампоном, смоченным 70% – ным спиртом. Обработку проводили дважды в день (после утренней и дневной доек) до тех пор, пока не исчезли признаки воспаления и секрет молочной железы не стал визуально нормальным.

Продолжительность лечения в сутках составила $3,7 \pm 0,2$ и $4,3 \pm 0,2$ в группах Антимаст №1 и гентамицина сульфат, соответственно. Во время лечения проводили наблюдения за коровами, а также выявляли возможные изменения в молоке и состоянии вымени при каждой дойке.

Чтобы оценить терапевтический эффект, результаты лечения были разделены на три категории:

1. Клиническое выздоровление: исчезли все признаки воспаления, такие как отёк, повышение температуры и боль в молочной железе, а выработка молока вернулась к нормальному уровню.

2. Бактериологическое выздоровление: в образцах молока после лечения не было обнаружено бактерий, что подтверждало наличие клинических изменений, описанных в первой категории.

3. Неудача: выработка молока не восстановилась до нормального уровня, и через три дня лечения не было отмечено никаких улучшений.

Результаты теста показали, что 79,3% *Staphylococcus aureus* были устойчивы к полусинтетическим пенициллинам. Это заставило ветеринарных врачей в данном хозяйстве использовать другие антибиотики в больших дозах. Одним из первых выбранных препаратов был гентамицина сульфат.

Таблица 28 – Биохимические показатели крови коров до первого введения препарата (n=6, P≤0,05)

Показатель	Билирубин общий (мкмоль/л)	АСТ (ЕД/л)	АЛТ (ЕД/л)	Мочевина (ммоль/л)	Креатинин (мкмоль/л)	Общий белок	Альбумин	ЩФ	Глюкоза (ммоль/л)
Группа животных /Единицы измерения	мкмоль/л	ЕД/л	ЕД/л	ммоль/л	мкмоль/л	г/л	г/л	Ед/л	ммоль/л
Норма	0,7-14	45-110	6,9-35	2,8-8,8	56-162	60-80	28-39	18-153	2,3-4,1
1 группа	2,32±0,28*	98,34±16,76**	33,32±5,83*	5,35±0,71**	100,82±7,83	78,03±4,71*	38,24±2,29*	152,22±26,61*	2,94±0,11
2 группа	1,61±0,43**	62,92±16,21*	28,41±4,54	3,31±0,34*	118,21±4,42*	72,12±5,93	29,65±4,31	138,10±19,34	2,44±0,34*
3 группа	3,36±0,71	90,41±14,02	23,13±4,41	3,92±0,44	115,42±8,67	63,02±7,07	28,85±5,32	139,96±21,62	3,51±0,14

* – P <0,05; ** – P <0,01

Таблица 29 – Биохимические показатели крови коров на 6 день исследования (n=6, P≤0,05)

Показатель	Билирубин общий (мкмоль/л)	АСТ (ЕД/л)	АЛТ (ЕД/л)	Мочевина (ммоль/л)	Креатинин (мкмоль/л)	Общий белок	Альбумин	ЩФ	Глюкоза (ммоль/л)
Группа животных /Единицы измерения	мкмоль/л	ЕД/л	ЕД/л	ммоль/л	мкмоль/л	г/л	г/л	Ед/л	ммоль/л
Норма	0,7-14	45-110	6,9-35	2,8-8,8	56-162	60-80	28-39	18-153	2,3-4,1
1 группа	2,5±0,2	85,1±8,2	29,1±1,7	5,3±0,5*	101,6±5,5*	77,2±1,2*	32,9±1,8	137,7±13,8*	2,9±0,4
2 группа	1,8±0,3*	71,5±9,0*	25,5±2,4	3,4±0,3	119,5±5,4	69,8±2,9	31,5±2,4	130,7±13,2	2,69±0,2
3 группа	3±0,4	93,5±9,7	20,6±2,9	3,2±0,2	123,3±7,9	70±3,1	32,6±1,2	117,1±16,9	3,3±0,1

* – P <0,05;

Таблица 30 – Биохимические показатели крови коров на 14 день исследования (n=6, P≤0,05)

Показатель	Билирубин общий (мкмоль/л)	АСТ (ЕД/л)	АЛТ (ЕД/л)	Мочевина (ммоль/л)	Креатинин (мкмоль/л)	Общий белок	Альбумин	ЩФ	Глюкоза (ммоль/л)
Группа животных /Единицы измерения	мкмоль/л	ЕД/л	ЕД/л	ммоль/л	мкмоль/л	г/л	г/л	Ед/л	ммоль/л
Норма	0,7-14	45-110	6,9-35	2,8-8,8	56-162	60-80	28-39	18-153	2,3-4,1
1 группа	2,9±0,4	89,6±5,5*	28,9±2,2*	5,3±0,4*	111,5±7,0*	73,5±1,5	32,6±1,1	111,9±8,9*	2,9±0,7
2 группа	2,6±0,3	75,2±7,6	27,1±1,4	3,6±0,2	108,3±4,4	71,4±1,8	32,8±2,3	115,3±11,5	3,0±0,4
3 группа	3,4±0,4	98,4±8,3	23,2±2,6	3,2±0,2	105,6±10,7	74,3±1,7	32,5±1,4	120,3±12,8	3,3±0,2

* – P <0,05;

Таблица 31– Гематологические показатели крови коров за весь период исследования (n=6)

Показатель	HCT Гематокрит	HGB Гемоглобин	RBC Эритроциты	PLT Тромбоциты	WBC Лейкоциты	Палочкоядерные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Эозинофилы	Базофилы	Моноциты	Лимфоциты	СОЭ
Группа животных /Единицы измерения	%	г/л	10 ¹² /л	10 ¹¹ /л	10 ⁹ /л	%	%	%	%	%	%	мм/ч
Норма	24-46	42217,00	45204,00	45139,00	45264,00	0-2	15-45	2-20%	0-2	0-4	45-75	0,1-0,6
До введения препарата												
1 группа	37,2±4,4	10,0±1,6	7,4±1,2	5,3±0,8	7,8±1,0	0,8±0,5	34,0±8,7	3,3±0,7	1,5±0,2	1,8±0,3	69,8±12,5	0,4±0,1
2 группа	37,1±6,0	10,0±1,2	7,8±1,4	3,9±1,8	8,3±2,3	0,7±0,4	37,5±5,5	4,7±0,8	1,3±0,5	1,2±0,3	55,7±6,3	0,3±0,1
3 группа	38,4±6,1	13,5±1,4	7,7±1,5	5,9±1,3	5,6±1,8	0,6±0,2	35,2±8,4	6,0±1,1	1,3±0,5	1,5±0,5	57,5±7,5	0,3±0,1
6 день												
1 группа	37,2±3,3	10,2±0,9	6,9±0,7	5,3±0,7	7,3±1,7	0,8±0,2	39,2±5,5	8,3±1,5	1,5±0,2	1,3±0,2	59,0±5,3	0,3±0,1
2 группа	38,0±3,5	12,3±1,0	7,7±0,7	4,3±0,6	5,3±1,3	0,7±0,1	31,8±7,6	4,3±1,3	1,2±0,3	0,7±0,2	59,0±6,4	0,3±0,1
3 группа	39,8±3,8	12,3±2,0	8,2±1,0	5,8±0,8	5,2±1,1	1,0±0,3	31,0±6,0	6,3±1,7	1,1±0,2	1,8±0,3	60,2±6,8	0,3±0,1
14 день												
1 группа	38,7±2,3	11,2±1,1	6,8±0,5	4,9±0,5	5,7±1,2	0,8±0,3	29,2±6,2	4,2±1,1	1,3±0,4	1,2±0,2	61,5±8,5	0,3±0,1
2 группа	39,5±2,0	11,6±1,5	7,6±0,9	4,3±0,6	5,9±0,9	0,8±0,4	32,5±8,7	3,8±1,1	1,2±0,2	1,6±0,4	62,5±8,9	0,3±0,1
3 группа	41,6±2,1	12,3±1,8	7,9±0,6	4,3±0,9	4,8±0,9	0,9±0,2	30,3±8,0	7,7±1,9	1,0±0,2	1,5±0,5	60,3±3,6	0,4±0,1

В этом исследовании Антимаст №1 оказывал аналогичный терапевтический эффект при лечении клинического мастита у крупного рогатого скота, как и в облегчении клинических признаков, так и в устранении мастита с аналогичными бактериологическими показателями выздоровления, группы, получавшей гентамицина сульфат.

Результаты лечения мастита, вызванного *Staphylococcus aureus*, часто оказываются неутешительными, поскольку бактерии распространяются в рубцовой ткани и микроабсцессах. Эффективность различных методов лечения этого заболевания значительно варьируется.

Более высокая эффективность лечения в группе, получавшей Антимаст №1, может быть обусловлена тем, что возбудители заболевания не устойчивы к этому препарату, в отличие от гентамицина сульфата.

Чтобы минимизировать утилизацию молока, лечение прекращали, как только исчезали клинические признаки и секреция молочной железы визуально становилась нормальной. В этом исследовании продолжительность лечения с использованием препарата Антимаст №1 и гентамицина сульфата составила $3,7 \pm 0,2$ и $4,3 \pm 0,2$ дня соответственно.

Особенностью препарата Антимаст №1, применяемого для лечения мастита у лактирующих коров, является быстрое снижение его концентрации в молоке через 12 часов. Это может быть связано с высокой ферментативной активностью в маститном молоке, которая разрушает противомикробный пептид.

При использовании гентамицина сульфата для лечения мастита в молоке из обработанных и необработанных четвертей в течение 72 часов после последней интерцистеральной инфузии наблюдалось снижение содержания лактобактерий. Это может указывать на то, что гентамицин сульфат может перемещаться из одной части воспалённой молочной железы в другую, загрязняя молоко из необработанных четвертей.

При использовании препарата Антимаст №1 для лечения мастита плохая ферментация наблюдалась только в молоке из обработанных долей в течение 36 часов после последней интерцистеральной инъекции.

В исследовании эффективности 79,3% *Staphylococcus aureus* оказались устойчивы к полусинтетическому пенициллину, а 31,6% — к гентамицину сульфату. Однако ни один из них не проявил устойчивости к препарату Антимаст №1.

Антимаст №1, использованный в этом исследовании, продемонстрировал высокую эффективность в лечении мастита у лактирующих молочных коров.

Для лечения мастита проводились интерцистеральные инфузии Антимаста №1 в дозе 3 мл. Это привело к бактериологическому и клиническому выздоровлению. В то же время интерцистеральные инфузии гентамицина в дозе 10 мл также способствовали бактериологическому и клиническому улучшению, но с более длительным периодом, чем в случае с Антимастом №1.

Таблица 32 – Определение эффективности препарата «Антимаст №1»

Группы	Подвергнуто лечению	Выздоровело	Кратность введения, раз	Продолжительность лечения, сутки
	Голов	Голов/%		
Антимаст №1	15	15/100,0	4	3,7±0,2
Препарат на основе гентамицина сульфат	15	15/100,0	4	4,3±0,2

Препарат «Антимаст №1» является высоко эффективным средством для профилактики и терапии субклинического и клинического мастита у коров в период лактации.

При производственном испытании применение препарата «Антимаст №1» продолжительность лечения составила $3,7 \pm 0,2$ суток, в то время как при введении препарата на основе гентамицина сульфат – $4,3 \pm 0,2$ суток.

Полученные результаты демонстрируют высокий профиль безопасности исследуемого ветеринарного препарата «Антимаст №1» при длительном применении у крупного рогатого скота и позволяют рекомендовать его для дальнейших клинических исследований.

3.5 Отработка новых маркеров (уровень NO) для диагностики субклинических маститов

По нашим наблюдениям при маститах у коров развивается воспалительная реакция, которая чаще всего развивается в ответ на внутриматочную бактериальную инфекцию. При мастите в первую очередь поражаются молочные макрофаги, которые сталкиваются с вторгшимися бактериями и фагоцитируют их. После фагоцитоза макрофаги выделяют хемоаттрактанты, которые быстро и массово привлекают нейтрофилы к инфицированной молочной железе.

В процессе исследований выяснили, что антибиотики способны уничтожить большинство патогенов, вызывающих мастит. Однако они не могут предотвратить воспалительную реакцию, лейкоциты защищают организм от бактерий – нарушителей. Эта реакция часто приводит к необратимым повреждениям эпителия молочных желез и постоянному снижению выработки молока. Одним из способов уменьшения неблагоприятных последствий мастита является модуляция иммунной системы молочной железы для сохранения целостности эпителия молочной железы и, следовательно, увеличения выработки молока. По нашим данным оксид азота (NO) играет важную роль во многих физиологических процессах. Однако нарушение регуляции его выработки способствует возникновению

многих патологических процессов, таких как воспаление. Оксид азота вырабатывается из L – аргинина семейством из трех ферментов, называемых синтетами оксида азота (NOS). Две изоформы являются кальцийзависимыми и конститутивно экспрессируются в эндотелиальных клетках и головном мозге. Индуцируемая изоформа L – аргинина – синтез оксида азота. Индуцируемый синтез оксида азота, первоначально клонированный из мышечных макрофагов, ответственен за избыточную выработку NO, которая наблюдается при воспалении. Его регуляция осуществляется в основном на уровне транскрипции. Этот ген реагирует на стимуляцию эндотоксином или цитокинами в самых разных типах клеток. Однако индукция синтеза оксида азота регулируется у разных видов по – разному в макрофагах крупного рогатого скота она осуществляется в гораздо более жестких условиях, чем в мышечных клетках.

По нашим данным известно, что оксид азота вызывает повреждение тканей главным образом за счет пероксинитрита, мощного окислителя, способного нитрозировать белки и ДНК, а также инициировать перекисное окисление липидов. Пероксинитрит образуется в результате реакции между NO и супероксидным анионом, еще одним активным веществом, выделяющимся при воспалении. В нашем исследовании мы использовали индуцированную эндотоксином или липополисахаридом модель мастита для оценки выработки NO при мастите крупного рогатого скота. Липополисахарид, компонент внешней клеточной стенки бактерий, ответственен за острые клинические симптомы, связанные с маститом. Модель мастита, индуцированного липополисахаридом, признана ценным инструментом для изучения последствий мастита, поскольку она имитирует реакции, наблюдаемые при естественном мастите, без риска, связанного с реальной бактериальной инфекцией. Эти реакции индуцируются медиаторами воспаления, вырабатываемыми лейкоцитами молочной железы при взаимодействии с липополисахаридом. Здесь мы сообщаем, что внутримаммарная инфузия липополисахаридом вызвала высвобождение

значительного количества NO, и что выработка NO практически совпадает с увеличением уровня соматических клеток. Мы также наблюдали, что одновременное введение липополисахарида с ингибитором индуцируемого синтеза оксида азота предотвращало высвобождение. Наши результаты показывают на то, что NO является медиатором воспаления, сопровождающего мастит крупного рогатого скота, и потенциальной мишенью для терапевтических стратегий. При эндотоксине – индуцированном мастите измеряли выработку оксида азота. Через час после утреннего доения в правые задние конечности 15 коров ввели физиологический раствор, содержащий эндотоксин *Escherichia coli*. Левым конечностям контрольной группы вводили только физиологический раствор. Через различные промежутки времени до и после инфузии регистрировали диагностические признаки мастита и оценивали выработку оксида азота путем измерения уровня нитритов и нитратнокислот в молоке. В помещениях, насыщенных эндотоксинами, наблюдалось значительное повышение концентрации нитритов и нитратной селитры наблюдалось через 3 часа после инфузии; концентрация снизилась до прединфузионного уровня в течение 48 часов. Это изменение указывает на то, что при мастите, вызванном эндотоксинами, выделяется значительное количество оксида азота. В 3 разных временных промежутка из образцов молока отбирали соматические клетки, высевали их и выдерживали в культуре в течение 24 часов. Концентрация нитритов и нитратной селитры в среде из клеток, собранных через 12 ч после инфузии, была увеличена, что свидетельствует о том, что соматические клетки молока, по крайней мере, частично, выделяют оксид азота. Во второй серии экспериментов мы оценивали содержание азота в сыворотке крови, выработка оксида азота при введении животным эндотоксина и аминоксидина, специфического ингибитора индуцируемой формы синтеза оксида азота. У коров, получавших аминоксидин, было предотвращено увеличение содержания нитритов и нитратной селитры, наблюдавшееся после инфузии эндотоксина. Таким образом, полученные

результаты позволяют предположить, что выработка оксида азота при мастите, вызванном эндотоксином, обусловлена активностью индуцируемой формы синтеза оксида азота. Они также подтверждают возможное участие оксида азота в воспалительной реакции, наблюдаемой при мастите.

Через час после утреннего доения в правую заднюю часть молочных желез 15 коров ввели 10 мл стерильного физиологического раствора, содержащего 15 мкг липополисахарида. В качестве контрольных использовались левые задние конечности и заливают 10 мл стерильного физиологического раствора. С различными интервалами до и после инфузии регистрировали воспаление и ректальную температуру. Образцы предварительного молока были также собраны для мониторинга изменений концентраций соматических клеток, нитратнокислотных соединений. В 3 временных интервала 1, 12 и 96 ч. по 50 мл образцов молока с правой и левой задних конечностей семи коров центрифугировали при $800 \times g$ в течение 15 мин для выделения соматических клеток. Гранулы клеток промывали водой. 10 мл модифицированной среды Eagle от Dulbecco–F12 (DMEM – F12; Sigma) без фенолового красного и снова центрифугировали. Для каждого образца конечный клеточный осадок ресуспендировали в 3 мл DMEM – F12 и разделили на шесть лунок для культивирования. В качестве контроля использовали L–N–(1 – иминоэтил) лизин, был добавлен специфический ингибитор iNOS в конечной концентрации 200 мкМ. После 24 – часовой инкубации, была собрана питательная среда и обработана для измерения содержания оксида азота. Через час после утреннего доения всем 18 коровам было сделано внутримаммарное вливание 10 мл физиологического раствора в правую заднюю четверть. Инъекции в левую заднюю часть тела производились следующим образом: животным из первой группы давали 10 мл стерильного физиологического раствора, содержащего 15 мкг липополисахарида. Животным из второй группы давали 10 мл стерильного физиологического раствора, содержащего 15 мкг липополисахарида и 1500 мг аминоксидина, специфического ингибитора индуцируемого оксида

азота. Животным из третьей группы мы также вводили физиологический раствор, содержащий липополисахарид и аминогуанидин, и получали дополнительные дозы аминогуанидина в дозе 1500 мг в 10 мл физиологического раствора через 6, 12, 24 и 36 ч после инфузии. С такими же интервалами в правую заднюю часть вводили 10 мл физиологического раствора интерцистернально, чтобы убедиться, что повторные вливания не оказывали влияния на воспалительный статус молочных желез.

Количество соматических клеток в образцах молока определяли электронным способом в лаборатории. В лаборатории провели инфракрасный анализ состава молока лактозы и белков.

Эти результаты свидетельствуют о том, что индуцируемая форма синтеза оксида азота вносит важный вклад в выработку NO при мастите. Они также показали, что использование специфических ингибиторов синтеза оксида азота может предотвратить высвобождение NO. Мы использовали эндотоксин – индуцированную модель мастита, чтобы исследовать возможность того, что оксид азота действует как медиатор воспаления при этом заболевании. Наши результаты показали, что при мастите, вызванном эндотоксином, выделяется значительное количество NO, а также NO², по крайней мере частично, продуцируется соматическими клетками молока и индуцируемая форма оксида азота в значительной степени способствует высвобождению NO. Эксперименты 1 и 2 показали значительное увеличение содержания NO в образцах молока в три – пять раз после инфузии липополисахарида, в то время как у всех коров, получавших липополисахарид, развился мастит, на что указывают несколько диагностических маркеров. В образцах молока, получавших липополисахарид, не наблюдалось такого увеличения содержания NO, что указывает на то, что указанный эффект вызван липополисахаридом. Более того, предварительные результаты, полученные из лаборатории, свидетельствуют о том, что концентрация NO также повышается в образцы молока, взятые у животных с естественным течением мастита. Мы также

показали, что соматические клетки, выделенные из четвертей, в которые вводили липополисахарид, могут выделять значительное количество NO в питательную среду.

На данный момент мы также не можем исключить возможность того, что NO продуцируется клетками других типов, кроме соматических, например, эпителиальными или эндотелиальными клетками. Наконец, наши результаты показали, что аминогуанидин, ингибитор iNOS, может предотвращать высвобождение NO. Одновременное введение аминогуанидина с липополисахаридом приводило к концентрации NO в молоке, аналогичной тем, которые были измерены в образцах из помещений, где содержался физиологический раствор. В обоих случаях концентрация NO оставалась на уровне до инфузии, за исключением небольшого кратковременного повышения через 3 ч после инфузии. Этот небольшой пик концентрации NO, возможно, был вызван синтезом, отличным как обсуждалось выше, поскольку это было не ингибируется аминогуанидином. Тем не менее, аминогуанидин эффективно не предотвращал образование липополисахарид, что убедительно. Чтобы уменьшить неблагоприятные последствия мастита, в центре внимания сейчас должно быть понимание его воспалительной реакции, чтобы можно было идентифицировать вовлеченные в процесс медиаторы и воздействовать на них. В нашем исследовании мы показали, что NO является признанным медиатором в нескольких моделях воспаления при мастите, вызванном липополисахаридом, у коровы вырабатывается избыточно, и аминогуанидин может предотвратить высвобождение NO. Следовательно, мы должны рассматривать NO как один из возможных медиаторов воспалительной реакции, вызываемой маститом, и как потенциальную мишень для новых терапевтических стратегий.

NO обнаруживается в крови, причем изменение концентрации статистически различно в отдельных пробах.

Концентрация NO в плазме выше в субклинической группе составила $4,03 \pm 1,48$ мкмоль/л, тогда как средняя концентрация NO в крови

контрольной группы составила $2,15 \pm 0,97$ мкмоль/л ($P < 0,01$). В случае субклинического мастита продуцируется больше NO. Это предполагает, что NO может быть не только стандартом для диагностики мастита, но и стандартом для определения степени мастита.

Хотя существуют три различные изоформы синтазы оксида азота (NOS), индуцибельная NOS (NOS2) обычно экспрессируется в местах воспаления и продуцирует большие количества NO в течение длительного времени. Чтобы увидеть, связана ли также NOS2 со степенью мастита, необходимо использовать ПЦР в реальном времени для определения уровня экспрессии NOS2 в биоптатах, полученных от нормальных коров и коров с субклиническим и клиническим маститом.

Как известно, с железом NO образует стабильные комплексы, позволяющие определять его непосредственно в образцах крови методом ЭПР. В наших исследованиях коров с субклиническим маститом, так же, как и здоровых животных контрольной группы не удалось зарегистрировать нитрозильные комплексы гемоглобина. Спектры ЭПР приведены на рисунке 000 линия 1 контроль, линия 2 – животное с маститом, линия 3 – животное с субклиническим маститом. Для сравнения на рис 001 приведены спектры образцов крови лошади, где по величине сверхтонкого расщепления (СТС 17 Гс) можно обнаруживать нитрозилированный гемоглобин, которого нет в крови коров. Последнее обстоятельство характерно для животных с субклиническим маститом и в контрольной группе. Это является показателем высокого иммунного статуса животных, и что, не смотря на заболевание, организм справляется с избытком воспалительных эквивалентов в виде оксида азота NO и что последний с помощью гемоглобина нейтрализуется, то есть преводится в неактивную форму – анион нитрата NO_3^- .

NO является важным продуктом в процессе развития воспаления. Главным методом оценки оксида азота в организме признано считать метод Грисса, сущность которого заключается в переводе нитратов пробы в нитриты с помощью катализаторов и потом определения нитритов. В этой

связи, в литературе присутствуют данные по оценке оксида азота при заболеваниях животных в диапазоне от единиц микромолей (мкМ) до 9 – 14 мкМ, эти цифры включают долю в виде 60 – 70 % нитрата, а он может быть продуктом не только окисления оксида азота, но и происходить из других источников обменных процессов. На наш взгляд, единственно правильным и прямым продуктом окисления оксида азота является нитрит.

По нашим данным медиаторы воспаления могут увеличивать индукцию NO – синтезу (NOS2), которая, в свою очередь, синтезирует NO. Являясь одним из местных ангиогенных и вазоактивных факторов, NO участвует во многих репродуктивных событиях, таких как развитие и регрессия желтого тела, формирование плаценты и материнская толерантность к плоду во время беременности.

Коровы с клиническим маститом, по – видимому, производят больше NO в плазме, чем у коров с субклиническим маститом. Таким образом, возникновение воспаления может усиливать образование и накопление NO в крови. Концентрация NO в плазме была достоверно связана с прогрессированием мастита. По мере того, как в молочной железе накапливалось все больше и больше воспалительных продуктов, воспаление становилось все более серьезным. Возможно, коровы с субклиническим маститом способны эвакуировать продукты воспаления при не столь сильном повреждении железы. Однако у коров с клиническим маститом наблюдается более тяжелое воспаление, из – за которого не удается быстро вывести продукты воспаления. Таким образом, концентрация NO в крови может быть хорошим стандартом для диагностики субклинического мастита. Для определения содержания NO (нитрита) в плазме крови использовался метод спиновых ловушек, основанный на использовании дитиокарбамата и железа (II). Метод определения NO, примененный в данной работе, основан на реакции образования нитрозотиола – нитрозоцистеина (RSNO) в кислой среде (pH=3,5) из аниона нитрита NO₂⁻ и гидрохлорида цистеина. Далее нитрозоцистеин в присутствии железа (2+) и N – метил – D,L –

глюкаминдителиокарбамата (МГД) образует водорастворимый парамагнитный моноксидный комплекс железа МНКЖ МГД – Fe – NO. Определение аниона нитрита NO₂— проводилось следующим образом: белки плазмы с молекулярной массой более 30 кД после разморозки удаляли фильтрованием через фильтр Microcon 30 kD, Millipore Corporation, USA в течение 20 минут при 14500 оборотах в минуту на центрифуге Mini Spinplus, Eppendorf. В данном исследовании восстановление нитрита и его включение в МНКЖ МГД – Fe – NO проводили при pH=3,5. В случае образования RSNO из нитрита и глутатиона или цистеина плазмы, их последующее включение в парамагнитный МНКЖ МГД – Fe – NO с участием нитрозильной группы вновь образованных RSNO осуществлялось при добавлении ловушки МГД – железо. Для изучения отбирали пробы крови из вены в пробирки с гепарином и центрифугировали в течение 10 минут на центрифуге модели CH80 – 2S «Armed» со скоростью 3000 оборотов в минуту для осаждения эритроцитов. Пробы плазмы хранились в жидком азоте (– 196°C). Для измерения концентрации нитрозогемоглобина цельную кровь с гепарином замораживали в пластиковых контейнерах цилиндрической формы длиной 35 мм и диаметром 4 мм. Сигналы ЭПР регистрировали на спектрометре фирмы «Брукер» (ФРГ) ECS – 106. Целью данного исследования было изучение уровня нитрита NO₂ в крови коров с субклиническим маститом. Главным методом оценки оксида азота в организме животных признано считать метод Грисса, сущность которого заключается в переводе нитратов биопробы в нитриты с помощью катализаторов и потом определения суммы нитритов из нитратов и имевшихся нитритов в пробе.

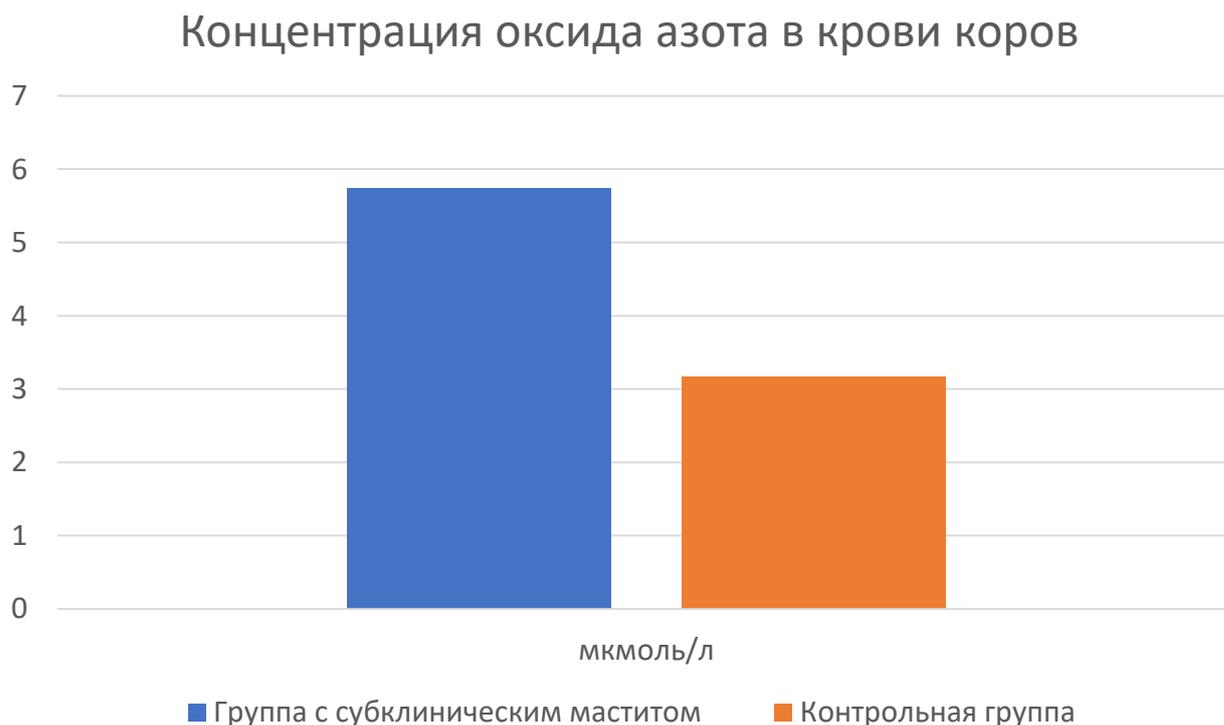
NO_x (нитрат+нитрит) оцениваемый по Гриссу: нитрат преобразуется в нитрит под действием нитратредуктазы. Подкисленный нитрит реагирует с сульфаниловой кислотой с образованием ионов диазония. Ионы диазония в сочетании с N (1 – нафтил) этилендиамином образуют хромофорный азокраситель, интенсивность которого измеряют спектрофотометрически при 550 нм.

Это интегральный показатель не является правильным, что убедительно доказано строгими физическими методами рядом исследователей, в частности Тсикас и др. В этой связи в литературе присутствуют данные по оценке оксида азота при заболеваниях животных и человека в диапазоне от единиц микромолей (мкМ) до 9 – 14 мкМ, эти цифры включают долю в виде 60 – 70 % нитрата, а он может быть продуктом не только окисления оксида азота кислородом, но и происходить из других источников обменных процессов, например, пероксинитрита. Следует считать наиболее корректным и правильным определение нитрита в качестве прямого продукта окисления оксида азота и как показателя уровня воспалительных процессов в органах и тканях.

Нам известно, что оксид азота – это молекула, регулирующая многие биологические функции в организме, и играет важную роль во время воспалительных процессов. По нашей информации эпителиальные клетки молочной железы и макрофаги продуцируют NO в значительные количества во время воспаления. Мастит вызывается вследствие недостаточной гигиены, стресса, травм, неправильной техники доения и условий содержания, приводящих к воспалению единичных долей или всей молочной железы. Положительная корреляция между интрамаммарным и системным производством TNF – α и NO было зарегистрировано в модели острого мастита, вызванного инокуляцией *E. coli* в раннем периоде лактации у коров. Аналогичным образом, увеличение уровня NO в молоке коров с экспериментальным вызванным маститом с эндотоксином, и что повышенная концентрация NO в молоке это воспалительная реакция молочной железы.

Концентрация нитрита в плазме была выше в субклинической группе составила $5,73 \pm 1,88$ мкмоль/л, тогда как средняя концентрация NO в крови контрольной группы составила $3,16 \pm 0,93$ мкмоль/л (рисунок 9) В нашем исследовании установлена статистически значимые отличия в концентрации нитрита в крови здоровых животных и с субклиническим маститом, что указывает на связь между воспалением в молочной железе и концентрацией

NO. В связи с этим изменения уровня NO в крови могут использоваться в качестве альтернативного диагностического инструмента для выявления воспаления при субклиническом мастите. Во время воспаления NO увеличивается и реагирует с супероксид анион радикалом, что приводит к образованию пероксинитрита, и этот продукт, весьма реакционноспособный, может распадаться с образованием нитрита NO₂ и нитрата NO₃, а также способствовать, окислению жирных кислоты в клеточных мембранах. Все это приводит к усилению перекисного окисления липидов и образованию свободных радикалов. Увеличение уровня гидроперекиси липидов вследствие перекисного окисления липидов вовремя экспериментально вызванного острого мастита у крупного рогатого скота ясно указывает на то, что мастит вызывает образование свободных радикалов.



* – P <0,05; ** – P <0,01

Рисунок 9 – Показатели оксида азота при субклинических маститах у коров

Задача данного исследования состояла в определении в крови здоровых коров и коров с субклиническим маститом уровня нитрита NO₂ (оксида азота

NO), что позволило бы, во-первых, говорить о интенсивности воспалительных процессов при развитии субклинического мастита и во-вторых, о возможности использовать данный параметр в качестве диагностического критерия.

3.6. Экономическая эффективность применения препарата «Антимаст №13»

Для оценки экономической эффективности мы проанализировали ключевые технико-экономические показатели, полученные в результате применения препаратов «Антимаст №13» и «Интрасан» для лечения субклинических и клинических маститов у коров. Животные были разделены на 2 группы по 15 голов в каждой. Следует отметить, что эффективность препаратов мы изучали и оценивали по схемам лечения, которые отображены в таблице 33. В результате исследований было выявлено, что в первой опытной группе выздоровело 15 животных, а во второй — 13.

Таблица 33 – Ветеринарные препараты, использованные для сравнения экономической эффективности

1 группа	«Антимаст №13» 500 г., гель для наружного применения, 50 г., наружно на кожу вымени, интервал между нанесением 12 часов, продолжительность лечения 7 – 10 дней
2 группа	«Интрасан» 200 г., линимент для наружного применения, 30 г. Интервал между нанесением 12 часов, продолжительность лечения 7 – 14 дней

В ходе исследования были изучены цены на ветеринарные препараты, которые можно приобрести в двух организациях: ООО «НВЦ – АГРОВЕТЗАЩИТА С-П» и ООО «Интернет Решения». На момент проведения исследования были доступны препараты, которые представлены в таблице 33.

Таблица 34 – Стоимость ветеринарных препаратов для сравнения экономической эффективности

1 группа	«Антимаст №13» 500 г., гель для наружного применения, стоимость 1123 руб.
2 группа	«Интрасан» 200 г., линимент для наружного применения, стоимость 520 руб.

Таблица 35 – Формула для определения трудовых и материальных затрат на ветеринарные мероприятия (на 1 голову).

Формула: $Z_v = Z_p + M_z$	
Z_p – затраты на оплату труда, руб.	M_z – затраты на ветеринарные препараты

Расчет затрат на оплату труда по группам животных:

Чтобы рассчитать, сколько стоит час работы ветеринарного врача, мы разделили его должностной оклад (20 000 рублей) на количество рабочих дней в месяце (25,6 дней) и на продолжительность рабочего дня (7 часов). Получилось 111,6 рублей в час.

Чтобы узнать, сколько стоит минута работы ветеринара, мы разделили часовую оплату на 60 минут: $111,6 \div 60 = 1,9$ рубля в минуту. На лечение одной коровы в день уходило от 15 до 30 минут, в среднем 22,5 минуты.

Таким образом, затраты на оплату труда ветеринарного врача при лечении одной коровы в день составили $1,9 \times 22,5 = 42,8$ рубля за одну голову.

Зная кратность ветеринарных обработок 1 головы, рассчитаем затраты на оплату труда ветеринарного сотрудника за курс лечения по формуле из таблицы 36.

Таблица 36 – Затраты на оплату труда ветеринарного сотрудника за курс лечения.

1 группа	$Зп1 = 42,8 \times 8,5 = 363,8$ руб. («Антимаст №13»)
2 группа	$Зп2 = 42,8 \times 10,5 = 449,4$ руб. («Интрасан»)

Таблица 37 – Расчет материальных затрат на ветеринарные препараты по группам, используя формулу.

Формула: $Мз = Д \times К \times Цв$	
Д – количество препарата	Ц – цена 1 мл препарата, руб.

$$Мз1 = (850 \times 8,5 \times 2,2) = 15895,50 \text{ руб}$$

$$Мз2 = (630 \times 10,5 \times 2,6) = 17199,00 \text{ руб}$$

Таблица 38 – Расчет общих затрат на ветеринарные мероприятия по группам.

1 группа	$Зв1 = 363,8 + 15895,50 = 16259,3$ руб. («Антимаст №13»)
2 группа	$Зв2 = 449,4 + 17199,00 = 17648,4$ руб. («Интрасан»)

Таблица 39 – Расчет экономической эффективности ветеринарных мероприятий рассчитываем по формуле.

Формула: $Эв = (Зб - Зн) \times Ап$	
Зб – затраты на проведение ветеринарных мероприятий по базовым методам с использованием «Интрасан», руб/гол	Зн – затраты на проведение ветеринарных мероприятий по новому методу с использованием «Антимаст №13», руб/гол
Ап – количество обработанных животных, гол.	

Расчет экономической эффективности ветеринарных мероприятий по группам:

$$\text{Эв}_{1,2} = (17648,4 - 16259,3) \times 15 = 20836,5 \text{ руб (Интрасан – Антимаст №13)}$$

Таблица 40 – Расчет экономического эффекта на 1 рубль затрат рассчитываем по формуле:

Формула: $\text{Эр} = \text{Эв} \div \text{Зв}$	
Эв– экономическая эффективность ветеринарных мероприятий, руб	Зв – затраты на ветеринарные мероприятия, руб/гол

Расчет экономического эффекта на 1 рубль затрат при применении Антимаст №13 в сравнении с Интрасан:

$$\text{Эр}_1 = 20836,5 \div 16259,3 = 1,28 \text{ руб} \quad \text{Эр}_2 = 20836,5 \div 17648,4 = 1,18 \text{ руб}$$

Экономический эффект на рубль затрат при использовании «Антимаста №13» составляет 1,28 рубля, что на 8,47% выше, чем при применении «Интрасана».

Таким образом, применение препарата «Антимаст №13» для лечения мастита является экономически выгодным, так как экономический эффект на рубль затрат оказывается на 8,47% выше, чем при использовании «Интрасана».

ОБСУЖДЕНИЕ СОБСТВЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нами выявлено, что ультразвуковое исследование является эффективным методом для быстрого выявления субклинического мастита. Ультразвуковое исследование продемонстрировало взаимосвязь между течением мастита и изменениями размера лимфатических узлов (длина и ширина), а также другие морфологические характеристики. Эти критерии включали ширину соска, ширину доильной камеры, толщину стенки соска, длину соскового канала. В дополнение к патогенным факторам, морфометрия вымени и сосков влияет на распространенность мастита.

Такого же мнения придерживаются Barboza – Corona J.E., González-Marrero. J, Ali S. A., Rehman M., Bin – Asif H., Zahid S.

При проведении сонографического мониторинга секреторной системы вымени КРС нами обнаружены следующие закономерности анатомического строения:

- Животные с увеличенным резервуаром цистернального типа (86 куб. см) демонстрируют магистральную сеть ветвления секреторных каналов.
- Особи, характеризующиеся промежуточными и минимальными параметрами цистернального объема (диапазон 38-52 куб. см), отличаются комбинированной протоковой системой.
- Животные с редуцированными показателями цистерны обладают дисперсной конфигурацией ветвления выводящих протоков.

Наше исследование охватило билатеральную визуализацию 10 лимфотических узлов. Интрамаммарный лимфатический узел располагается в субэпителиальной зоне вымени. Физиологическая морфология узла характеризуется овоидной конфигурацией с эхопозитивной полостью при гипоехогенной структуре паренхимы. Морфометрические параметры интрамаммарного лимфатического узла определялись посредством портативного сонографического аппарата “Chison sonotouch” с конвексным датчиком частотного диапазона 3,5–5 МГц.

Продольный размер лимфоидной структуры на преклинической стадии терапии превышал аналогичный показатель постклинического периода на $6 \pm 1,07$ см. Поперечная метрика узла до терапевтического вмешательства составила $3,37 \pm 0,78$ см, с последующей редукцией до $2,63 \pm 0,62$ см после лечебных мероприятий. Цитологический профиль соматических элементов выступает индикатором структурной деструкции тканевого комплекса вымени при воспалении и служит маркером иммунологической реакции организма на патогенную флору. Повышенная концентрация соматических клеточных элементов негативно коррелирует с качественными характеристиками молока.

Сонографическая диагностика субклинической формы мастита визуализирует повышенную эхогенность цистернального содержимого при сохранении анатомической целостности сосковой стенки и канала. Хронический патологический процесс характеризуется гиперэхогенными экскретатами и фокальными участками усиленной эхогенности в паренхиматозной ткани. Ультрасонографический метод обеспечивает выявление структурных альтераций, прогностическую оценку и мониторинговый контроль терапевтической эффективности.

Наши исследования не противоречат данным Барковой А.С. (2019); Pyorala. S, Waller. K.P, Hogan J.S, Lam T.J.G.M, Oliver S.P, Schukken Y.H, Barkema H.W, Hillerton E.J.

Определение терапевтической эффективности препарата «Антимаст №13» проводили в рамках договора по созданию научно – технической продукции с ООО «НВЦ Агроветзащита».

На протяжении опыта при осмотре опытных животных получавших препарат в терапевтической дозе в течение 42 дней изменений со стороны тканей вымени не отмечено, клинических изменений в общем состоянии и отклонений в поведении не наблюдалось, также не было замечено нарушений двигательной активности и аппетита.

Результаты анализа молока свидетельствуют о том, что применения препарата в течение 42 дней не влияет на его качественные показатели, как при однократной, так и при двукратной терапевтических дозах. Данные, полученные от животных, которым применяли препарата, не разнятся с данными, полученными от контрольной группы, и не выходят за пределы референсных значений, из чего следует, что препарата при применении в течение 42 двух дней в терапевтической и двукратной терапевтической дозе не оказывает негативного влияния на ткани вымени и качество молока.

Анализ биохимических показателей крови коров первой и второй опытных групп при наружном применении препарата в течение 42 дней по 2 раза в день не выявил статистически значимых отличий между группами.

Биохимические показатели не выходили за пределы референсных значений для данной породы и возраста коров. Эти данные свидетельствуют об отсутствии нарушений в функциональном состоянии почек и печени у животных опытных групп при применении препарата в течение 42 дней в терапевтической и двукратной терапевтической дозах.

На основании результатов проведенных исследований можно сделать вывод о безопасности лекарственного препарата «Антимаст №13» для целевых животных и рекомендовать его для дальнейших клинических исследований.

Определение терапевтической эффективности препарата «Антимаст №1» проводили в рамках договора по созданию научно – технической продукции с ООО «НВЦ Агроветзащита».

На протяжении опыта при осмотре опытных животных получавших препарат в терапевтической дозе в течение 5 дней изменений со стороны тканей вымени не отмечено, клинических изменений в общем состоянии и отклонений в поведении не наблюдалось, также не было замечено нарушений двигательной активности и аппетита. Реакция на внешние раздражители сохранена.

При анализе количества соматических клеток в молоке коров на протяжении экспериментального периода во группах, которым применяли препарат, не установлено повышения количества этих клеток за границу нормы (500 тыс/см³), а также показатели не сильно превышают данные контрольной группы, что свидетельствует об отсутствии негативного воздействия на ткани вымени.

Результаты биохимического исследования крови, отобранной до первого введения препарата, показали, что значения показателей у 1 и 2 опытных групп соответствуют значениям, полученным от контрольной группы. В последующие дни отбора проб, также не наблюдается выхода значений за пределы границ нормы, что свидетельствует об отсутствии нарушений в функциональном состоянии почек и печени у коров опытных

групп при интрацестернальном введении препарата «Антимаст №1» в терапевтической и двукратной терапевтической дозах.

Гематологический анализ крови коров свидетельствует о том, что на протяжении всего эксперимента у животных опытных групп, также как у животных контрольной группы, показатели не выходили за границы нормальных значений, из чего следует вывод, что применение препарата «Антимаст №1» в течение 5 дней один раз в сутки не вызывает изменений в составе крови.

Проведенные исследования позволяют заключить, что ежедневное двукратное введение препарата на протяжении 5 суток коровам в терапевтической и удвоенной терапевтической дозе не оказывает отрицательного влияния на клиническое состояние животных. Также не было выявлено признаков каких – либо нежелательных реакций организма на применение препарата. Гематологические и биохимические показатели крови не выходили за пределы физиологической нормы, что свидетельствует об отсутствии негативного влияния препарата на внутренние органы (печень и почки). Результаты анализа проб молока также указывают на отсутствие воздействия препарата на молоко целевых животных.

На основании результатов проведенных исследований можно сделать вывод о безопасности лекарственного препарата «Антимаст №1» для целевых животных (коровы) и рекомендовать его для дальнейших клинических исследований.

По нашим данным известно, что оксид азота вызывает повреждение тканей главным образом за счет пероксинитрита, мощного окислителя, способного нитрозировать белки и ДНК, а также инициировать перекисное окисление липидов. Пероксинитрит образуется в результате реакции между NO и супероксидным анионом, еще одним активным веществом, выделяющимся при воспалении. В нашем исследовании мы использовали индуцированную эндотоксином или липополисахаридом модель мастита для оценки выработки NO при мастите крупного рогатого скота.

Липополисахарид, компонент внешней клеточной стенки бактерий, ответственен за острые клинические симптомы, связанные с маститом. Модель мастита, индуцированного липополисахаридом, признана ценным инструментом для изучения последствий мастита, поскольку она имитирует реакции, наблюдаемые при естественном мастите, без риска, связанного с реальной бактериальной инфекцией. Эти реакции индуцируются медиаторами воспаления, вырабатываемыми лейкоцитами молочной железы при взаимодействии с липополисахаридом. Здесь мы сообщаем, что внутримаммарная инфузия липополисахаридом вызвала высвобождение значительного количества NO, и что выработка NO практически совпадает с увеличением уровня соматических клеток. Мы также наблюдали, что одновременное введение липополисахарида с ингибитором индуцируемого синтеза оксида азота предотвращало высвобождение. Наши результаты показывают на то, что NO является медиатором воспаления, сопровождающего мастит крупного рогатого скота, и потенциальной мишенью для терапевтических стратегий. При эндотоксине – индуцированном мастите измеряли выработку оксида азота. Через час после утреннего доения в правые задние конечности 15 коров ввели физиологический раствор, содержащий эндотоксин *Escherichia coli*. Левым конечностям контрольной группы вводили только физиологический раствор. Через различные промежутки времени до и после инфузии регистрировали диагностические признаки мастита и оценивали выработку оксида азота путем измерения уровня нитритов и нитратнокислот в молоке. В помещениях, насыщенных эндотоксинами, наблюдалось значительное повышение концентрации нитритов и нитратной селитры через 3 часа после инфузии; концентрация снизилась до прединфузионного уровня в течение 48 часов. Это изменение указывает на то, что при мастите, вызванном эндотоксинами, выделяется значительное количество оксида азота. В 3 разных временных промежутка из образцов молока отбирали соматические клетки, высевали их и выдерживали в культуре в течение 24 часов.

Концентрация нитритов и нитратной селитры в среде из клеток, собранных через 12 ч. после инфузии, была увеличена, что свидетельствует о том, что соматические клетки молока, по крайней мере, частично, выделяют оксид азота. Во второй серии экспериментов мы оценивали содержание азота в сыворотке крови. Выработка оксида азота при введении животным эндотоксина и аминогуанидина, специфического ингибитора индуцируемой формы синтеза оксида азота. У коров, получавших аминогуанидин, было предотвращено увеличение содержания нитритов и нитратной селитры, наблюдавшееся после инфузии эндотоксина. Таким образом, наши результаты позволяют предположить, что выработка оксида азота при мастите, вызванном эндотоксином, обусловлена активностью индуцируемой формы синтеза оксида азота. Они также подтверждают возможное участие оксида азота в воспалительной реакции, наблюдаемой при мастите.

Наши исследования не противоречат данным Lopez – Villalobos N., Sneddon N.W., Shalloo L., Franzoi M., De Marchi M., Penasa M. J, Fan C., Zhang Z., (2019)

Концентрация нитрита в плазме была выше в субклинической группе составила $5,73 \pm 1,88$ мкмоль/л, тогда как средняя концентрация NO в крови контрольной группы составила $3,16 \pm 0,93$ мкмоль/л. В нашем исследовании установлена статистически значимые отличия в концентрации нитрита в крови здоровых животных и с субклиническим маститом, что указывает связь между воспалением в молочной железе и концентрацией NO. В связи с этим изменения уровня NO в крови могут использоваться в качестве альтернативного диагностического инструмента для выявления воспаления при субклиническом мастите. Во время воспаления NO увеличивается и реагирует с супероксид анион радикалом, что приводит к образованию пероксинитрита, и этот продукт, весьма реакционноспособный, может распадаться с образованием нитрита NO₂ и нитрата NO₃, а также способствовать окислению жирных кислоты в клеточных мембранах. Все это приводит к усилению перекисного окисления липидов и образованию

свободных радикалов. Увеличение уровня гидроперекиси липидов вследствие перекисного окисления липидов во время экспериментально вызванного острого мастита у крупного рогатого скота ясно указывает на то, что мастит вызывает образование свободных радикалов.

Определение в крови здоровых коров и коров с субклиническим маститом уровня нитрита NO_2 (оксида азота NO) позволило, во – первых, говорить интенсивности воспалительных процессов при развитии субклинического мастита и во – вторых, в возможности использовать данный параметр в качестве диагностического критерия.

Нами показано, что количество оксида азота $(\text{NO})_x$ в крови при мастите меняется, а также установлена положительная связь между увеличением количества соматических клеток в молоке и оксидом азота $(\text{NO})_x$ при воспалении вымени. Подобный результат показан в работе Sandeep Gera and Anirban Guha (2011). NO_x в образцах инфицированного молока увеличился значительно – NO_x (nitrate + nitrite) 11.07 ± 0.19 и $17.97 \pm 0.42 (\mu\text{M})$ ($P < 0,01$). Аналогичное наблюдение было сделано Murata H., Shimada N., Yoshioka M. (2004), только они приписали возрастание NO_x увеличению количеству макрофагов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При полипозиционном сканировании молочной железы у высокопродуктивных коров с использованием 2D УЗ – аппаратов у лактирующих коров были получены двумерные изображения тканей в режиме реального времени. При большом объеме молочной цистерны (86 см^3) наблюдали магистральный тип ветвления выводной системы; при среднем и малом (от 38 до 52 см^3) – смешанный тип; а при слабовыраженном – рассыпной.

Установлена взаимосвязь между количеством соматических клеток, морфометрическими характеристиками сосков и лимфатическими узлами у высокопродуктивных молочных коров, что дает возможность для диагностики начальной стадии субклинического мастита.

2. Определено с помощью метода электронного парамагнитного резонанса; что концентрация нитрита в плазме крови у коров с субклиническим маститом составила $5,73 \pm 1,88$ мкмоль/л, тогда как средняя концентрация NO в крови контрольной группы составила $3,16 \pm 0,93$ мкмоль/л.

В нашем исследовании установлена статистически значимые отличия в концентрации нитрита в крови здоровых животных и с субклиническим маститом, что указывает связь между воспаления в молочной железе и концентрацией NO. В связи с этим изменения уровня NO в крови могут использоваться в качестве альтернативного диагностического инструмента для выявления воспаления при субклиническом мастите.

3. Установлено, что апробация препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1» на целевых видах животных (крупный рогатый скот) показала, что нанесение в терапевтической дозе не оказывает отрицательного влияния на общее состояние животных.

Анализ биохимических показателей крови коров первой и второй опытных групп при наружном применении препарата «Антимаст №13» в течение 42 дней по 2 раза в день не выявил статистически значимых отличий между группами. Биохимические показатели не выходили за пределы референсных значений для данной породы и возраста коров. Эти данные свидетельствуют об отсутствии нарушений в функциональном состоянии почек и печени у животных опытных групп при применении препарата в течение 42 дней в терапевтической и двукратной терапевтической дозах.

4. Результаты анализа молока свидетельствуют о том, что применения препарата «Антимаст №13» в течение 42 дней не изменяет качественные показатели молока, как при однократной, так и при двукратной терапевтических дозах. Данные, полученные от коров, которым применяли препарат, не рознятся с данными, полученными от контрольной группы, и не выходят за пределы референсных значений, из чего следует, что препарат при применении в течение 42 двух дней в терапевтической и двукратной терапевтической дозе не оказывает негативного влияния на ткани вымени и качество молока.

5. Доказано, что препараты «Антимаст №13» и «Антимаст №1» являются высокоэффективным средством для профилактики и терапии субклинического мастита у коров в период лактации.

При производственном испытании применение препарата «Антимаст №13» способствовало сохранению молочной продуктивности у проблемных лактирующих коров на 14,1% при интенсивном способе содержания, и на 19,3% при экстенсивном способе.

6. Установлено, что внедрение двумерной ультразвуковой сонографии в систему текущей диспансеризации лактирующих коров позволяет определить особенности паренхимы вымени, сосков и надвыменных лимфатических узлов.

Ультразвуковое исследование вымени при субклиническом мастите выявляет значительное количество мутного эхогенного содержимого молока

в цистерне при нормальной толщине стенки соска и соскового канала, что позволяет поставить диагноз на начальные стадии заболевания.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

Для постановки диагноза на субклинический мастит предлагаем в протокол включить использование УЗ – диагностики, а также изучение физико – химических, микробиологических и санитарно – гигиенических показателей молока.

Рекомендуем:

- наносить препарат «Антимаст №13» коровам при субклиническом мастите ежедневно в течение 7 дней в терапевтической дозе 50 г.;
- вводить через сосок препарат «Антимаст №1» коровам при субклиническом мастите ежедневно в течение 7 дней в терапевтической дозе 3 мл;
- использовать показатель оксида азота как маркер воспаления в молочной железе у лактирующих коров.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В перспективе планируется изучение эффективности комбинированных противовоспалительных препаратов при различных формах маститов у высокопродуктивных коров в условиях интенсивного производства молока.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдессемед, Д. Диагностика и терапия субклинического мастита у лактирующих коров/ Д. Абдессемед, В.С. Авдеенко, А.В. Авдеенко, С.В. Новикова, А.А. Сазонов// Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2014. – №3. – С. 3–6.
2. Авдеенко, В.С. Диагностика мастита и оценка качества молока у коров при мастите/ В.С. Авдеенко, А.В. Авдеенко, Ю.Г. Шабашева, А.С. Рыхлов, Е.В. Давидюк// Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий. Саратов – 2016. – С. 3 – 5.
3. Авдеенко, В.С. Прогнозирование репродуктивных качеств и предрасположенности к маститам коров голштинской и сементальской пород/ В.С. Авдеенко, С.В. Федотов, Н.С. Белозерцева, А.В. Филатова, И.М. Яхаев// Известия ТСХА. – 2020. – №3. – С.107 – 121.
4. Алиев, А.Ю. Влияние субклинической формы мастита на качественный состав молока/ А.Ю. Алиев, С.В. Федотов, Н.С. Белозерцева, И.М. Яхаев//Кормление и ветеринария. – 2021. – №6. – С.4 – 7.
5. Алиев, А.Ю. Изменение белкового состава молока коров при субклиническом мастите/ А.Ю. Алиев, С.В. Федотов, Н.С. Белозерцева// Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2022. – №4. – С. 471– 477
6. Алиев, А.Ю. Терапевтическая эффективность комплексного лечения коров, больных катаральным маститом/ А.Ю. Алиев, Б.Б. Булатханов, С.А. Айгубова// Ветеринария и кормление – 2022. – №6 – С. 4 – 6.
7. Артюшина, З.С. Измерение уровня оксида азота при ранней диагностике внутриматочных инфекций/ З.С. Артюшина, Н.Ю. Сиднев// Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения, Сборник трудов 3 – й Научно – практической конференции. – 2024. – С. 116 – 117.

8. Баймишев, М.Х. Иммуномодулятор в профилактике мастита у коров/ М.Х. Баймишев, Х.Б. Баймишев., Д. Шарипова, В. Теняков, О. Муллакаев// Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2023. – №11. – С. 35 – 36.
9. Баймишев, М.Х. Гематологические показатели коров в зависимости от физиологического состояния/ М.Х. Баймишев., К.С. Соколова, А.Р. Хузрахимова// Вклад молодых ученых в аграрную науку. Материалы Международной научно – практической конференции. – 2018. – С. 206 – 208.
10. Баймишев, М.Х. Маститы у домашних животных/ М.Х. Баймишев// Кинель. – 2016. – 174 с.
11. Баймишев, Х.Б. Повышение воспроизводительных качеств высокопродуктивных коров // Х.Б. Баймишев, М.Х. Баймишев, С.П. Еремин/ Кинель. – 2020. – 167 с.
12. Белозерцева, Н.С. Зависимость репродуктивной способности черно – пестрых коров от физиологического статуса/ Н.С. Белозерцева, С.В. Федотов, И.М. Яхаев// Ветеринария. – 2019. – № 6 – С. 41 – 44.
13. Бибаева, Ю. Метод профилактики мастита и повышения качества молока/ Ю. Бибаева, А.В. Филатова, В.С. Авдеенко// Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2023. – №4. – С. 47 – 53
14. Бибаева, Ю.В. Влияние обработки сосков вымени на заболеваемость субклиническим маститом у коров и санитарное качество молока/ Ю.В. Бибаева., Б.М. Тшивале., А.В. Филатова, В.С. Авдеенко, А.В. Егунова// Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2022. – №4. – С. 73 – 78.
15. Воробьев, Н.И. Нейросетевая диагностика состояния здоровья коров по показателям их крови/ Н.И. Воробьев, И.Н. Никонов, М.В. Селина, А.А. Гусельникова, Н.Ю. Сиднев, А.В. Платонов, Н.В. Боголюбова// Вакцины нового поколения для профилактики особо опасных болезней сельскохозяйственных животных. Сборник трудов Международной научно –

практической конференции. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина». – 2023. – С. 83 – 89.

16. Гнездилова, Л.А. Влияние геопроевнциальных и технологических факторов на обмен минеральных веществ у лактирующих коров в условиях интенсификации производства/ Л.А. Гнездилова, С.В. Федотов, И.М. Яхаев// Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2021. – №8. – С. 14 – 24.

17. Гнездилова, Л.А. Влияние препарата «Полисоли микроэлементов» на обмен минеральных веществ у лактирующих коров в условиях интенсификации производства/ Л.А. Гнездилова, С.В. Федотов, Н.С. Белозерцева, И.М. Яхаев// Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2021. – №9. – С. 6 – 15.

18. Егунова, А.В. Состав маститогенной микрофлоры коров/ А.В. Егунова, И.В. Зирук, Ю.В. Якимов, М.В. Романченко, И.А. Родин// Актуальные проблемы современной ветеринарной науки и практики. Материалы международной научно – практической конференции, посвященной 70 – летию Краснодарского научно – исследовательского ветеринарного института. – 2016. – С. 371 – 373.

19. Желанова, А.С. Опыт диагностики и лечения маститов в условиях АО ПЗ «Мелиоратор» Марксовского района Саратовской области/ А.С. Желанова, М.Е. Копчекчи, И.В. Зирук, А.В. Егунова// Современные научные тенденции в ветеринарии. Сборник статей Международной научно – практической конференции. – 2023. – С.34 – 37.

20. Зирук, И.В. Видовой состав маститогенной флоры/ И.В. Зирук, А.В. Егунова, М.В. Романченко// Научное обеспечение агропромышленного комплекса молодыми учеными. Всероссийская научно – практическая конференция, посвященная 85 – летнему юбилею Ставропольского государственного аграрного университета. – 2015. – С.404 – 406.

21. Ионова, И.С. Лактоферрин для фармакопрофилактики и лечения маститов коров/ И.С. Ионова., А.В. Егунова// Аграрная наука в XXI веке: проблемы и перспективы. – 2014. – С. 214 – 217.
22. Копчекчи, М.Е. Опыт использования фитосредств при маститах и эндометритах у коров/ М.Е. Копчекчи, А.В. Егунова// приоритетные и инновационные технологии в животноводстве – основа модернизации агропромышленного комплекса россии – 2018 – С. 41 – 44
23. Лободин, К.А. Молочная продуктивность и воспроизводительная способность красно – пестрых коров воронежского типа/ К.А. Лободин, А.Г. Нежданов// Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2011. – № 4 (31). – С. 84 – 86.
24. Матренов, И.С. Изучение антибиотикорезистентности возбудителей мастита у коров при микст – инфекции/ И.С. Матренов, Е.С. Красникова, В.В. Павленко// Агрофорсайт. – 2018. – №4. – С. 8 – 11
25. Рогожин, В.В. Биохимия молока и молочных продуктов / СПб.: ГИОРД, 2006. – 320 с.
26. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023662779 Российская Федерация. Программа нейросетевого анализа биохимических показателей крови животных: заявл. 10.05.2023: опубл. 14.06.2023, Бюл.№ 6 / Н. И. Воробьев, М. В. Селина, А. А. Гусельникова, И.Н. Никонов, Н.Ю. Сиднев; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина».
27. Семиволос, А. М. Сравнительная оценка эффективности лечения коров при субклинической форме мастита различными лекарственными препаратами/ А.М. Семиволос, Е.А. Студникова// Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2013. – №2. – С. 40 – 41.
28. Семиволос, А.М. Акушерство, гинекология и биотехника репродукции животных – важное звено в подготовке ветеринарного врача

новой формации // Саратовский форум ветеринарной медицины и продовольственной безопасности российской федерации. – 2018. – С. 66 – 70

29. Семиволос, А.М. Безмедикаментозный метод лечения коров с субклинической формой мастита / А.М. Семиволос, Д.Н. Токарев// Современные научные тенденции в ветеринарии. – 2023. – С. 94 – 97.

30. Семиволос, А.М. Возможности свч – излучения дециметрового диапазона как безмедикаментозного метода лечения коров при субклиническом мастите/ А.М. Семиволос, И.В. Алексеева// Аграрный научный журнал. – 2016. – №4. – С. 40 – 44.

31. Семиволос, А.М. Лечение коров при субклиническом мастите/ А.М. Семиволос, С.А. Семиволос, С.О. Лощинин, Д.А. Горюнова// Современные способы повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных. – 2023. – С. 159 – 162.

32. Семиволос, А.М. Лечение коров при субклиническом мастите// А.М. Семиволос, С.А. Семиволос, С.О. Лощинин/ Аграрные конференции – 2022. – №1. – С. 6 – 10.

33. Семиволос, А.М. Оценка эффективности лечения коров при субклиническом мастите// Аграрный научный журнал. – 2023. – №7. – С. 78

34. Семиволос, А.М. Оценка эффективности лечения коров при субклиническом мастите/ А.М. Семиволос, С.А. Семиволос, И.И. Калюжный// Аграрный научный журнал. – 2022. – №7. – С. 78 – 80.

35. Семиволос, А.М. Оценка эффективности мастит – тестов для диагностики субклинического мастита у коров/ А.М. Семиволос, С.О. Лощинин, В.А. Агольцова, С.А. Семиволос, Л.П. Падило// Аграрный научный журнал. – 2024. – №2. – С. 79 – 82.

36. Семиволос, А.М. Распространение акушерско – гинекологической патологии у коров в хозяйствах Саратовской области/ А.М. Семиволос, И.Ю. Панков// Аграрные конференции. – 2017. – №5. – С. 14 – 18.

37. Семиволос, А.М. Тканевая терапия при гнойно – катаральном мастите коров/ А.М. Семиволос, Т.Ж. Абдрахманов, Г.Б. Турысбаева, А.А. Бакбергенова// Аграрный научный журнал. – 2016. – №6. – С. 36 – 40.
38. Семиволос, А.М. Эффективность лечения коров при субклиническом мастите/ А.М. Семиволос, С.А. Семиволос, Д.Н. Токарев// Научная жизнь. – 2023. – №1. – С. 126 –132.
39. Семиволос, А.М. Эффективность препарата мастомицин при субклиническом мастите у коров/ А.М. Семиволос, С.А. Семиволос, С.О. Лощинин, Д.А. Горюнова// Современные способы повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных. – 2023. – С. 162 – 165.
40. Семиволос, А.М. Эхография в диагностике беременности и бесплодия у коров/ А.М. Семиволос, А.В. Молчанов, А.С. Рыхлов, Д.В. Кривенко, А.В. Егунова, И.Ю. Панков// Труды кубанского государственного аграрного университета. – 2017. – №69 – С. 243 – 248.
41. Семиволос, А.М. Влияние резонансно – волнового излучения дмв – диапазона на показатели гомеостаза коров при субклиническом мастите/ А.М. Семиволос, Е.А. Студникова., С.В. Козлов// Аграрный научный журнал. – 2015. – №7. – С. 37 – 40.
42. Сиднев, Н.Ю. Применение гинеколога – маммологической диспансеризации на животноводческих комплексах промышленного типа // Сборник тезисов 9 научно – практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии». Москва – 2021. – С. 44 – 45.
43. Сиднев, Н.Ю. Применение метода ЭПР – спектроскопии для определения уровня оксида азота у животных с внутриматочными инфекциями/ Н.Ю. Сиднев, З.С. Артюшина // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения, Сборник трудов 3-й Научно – практической конференции, Москва, 28 июня 2024 года. – Москва: ООО «Издательство Сельскохозяйственные Технологии» – 2024. – С.117.

44. Сиднев, Н. Ю. Изменение качества молока при субклинических формах маститов у коров / Н. Ю. Сиднев, С. В. Федотов // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, товароведения и экспертизы сырья и продуктов животного и растительного происхождения, зоотехнии и биотехнологии: материалы X научно-практической конференции в рамках XII Всероссийского фестиваля науки : сборник научных трудов студентов и молодых ученых, Москва, 30 ноября 2022 года / Министерство сельского хозяйства Российской Федерации; ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина». – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», 2022. – С. 89-93.

45. Студникова, Е.А. Особенности поражения вымени коров субклиническим маститом/ Е.А. Студникова, А.М. Семиволос// Аграрная наука в XXI веке: проблемы и перспективы. – 2014. – С. 281 – 283.

46. Технический регламент на молоко и молочную продукцию. Федеральный закон от 22 июля 2010 года №163 – ФЗ.

47. Федотов, С.В. Мониторинг гинекологических болезней у коров в условиях крупного аграрного предприятия / С.В. Федотов, П.Г. Симонов// Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2011. – Т. 83. – № 9. – С.72 – 75.

48. Федотов, С.В. Совершенствование диагностики и терапии акушерско – гинекологических заболеваний коров в условиях крупного животноводческого предприятия/ С.В. Федотов, Н. С. Белозерцева, И.Р. Мясникова, В.В. Гоминюк/ Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2016. – № 3. – С. 106 – 113.

49. Федотов, С.В. Зависимость репродуктивной активности коров от воспаления молочной железы/ С.В. Федотов, А.В. Панкратова, Ф.Н. Насибов, Н.И. Анищенко// Молодые ученые в решении актуальных проблем науки. 4

международная научно – практическая конференция. – Владикавказ – 2013.
– С.124 – 126.

50. Федотов, С.В. Инфекционный фактор в этиологии маститов у высокопродуктивных лактирующих коров/ С.В. Федотов, А.В. Филатова, Б.М. Тшивале, В.С. Авдеенко// Ученые записки учреждения образования Витебской ордена Знак почета государственной ветеринарной академии. – 2022 – Т.58. – С. 86 – 89.

51. Федотов, С.В. Особенности белкового состава молока коров черно – пестрой породы при субклиническом мастите/ С.В. Федотов, Н.С. Белозерцева, Г.М. Удалов// Ветеринария. – 2018. – №2. – С.34 – 37.

52. Федотов, С.В. Особенности ранней диагностики субклинических маститов у коров/ С.В. Федотов, Н.С. Белозерцева, А.В. Деринов, В.А. Болтенков// Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 5. – С.104 – 108.

53. Федотов, С.В. Показатели репродуктивной способности и молочной продуктивности черно – пестрых коров различного типа телосложения / С.В. Федотов, Н.С. Белозерцева, И.М. Яхаев// Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2018. – №2 – С.102 – 107.

54. Федотов, С.В. Применение иммуномодулирующих препаратов при субклинических маститах/ С.В. Федотов, Н.С. Белозерцева, А.В. Деринов// Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 9. – С.81 – 85.

55. Федотов, С.В. Совершенствование акушерско – гинекологической диспансеризации коров в условиях интенсивного молочного скотоводства/ С.В. Федотов, А.Ю. Алиев, Н.С. Белозерцева// Ветеринария Кубани. – 2022. – №6. – С. 3 – 6.

56. Федотов, С.В. Совершенствование акушерско – маммологической диспансеризация коров в сухостойный период/ С.В.

Федотов, А.Ю. Алиев, И.С. Жеребцов, Н.С. Белозерцева// Ветеринария Кубани. – 2022. – №4. – С. 10–12.

57. Федотов, С.В. Совершенствование диагностики маститов у коров, содержащихся в условиях интенсивного производства/ С.В. Федотов, Н. Ю. Сиднев, Гаде Реган Редди, Сакр Фуад, И.М. Яхаев// Ветеринария. – 2022. – №4. – С. 59 – 65.

58. Федотов, С.В. Совершенствование ранней диагностики субклинического мастита у коров/ С.В. Федотов, Н.С. Белозерцева, Г.М. Удалов// Ветеринария. – 2013. – № 5. – С.37 – 40.

59. Филатова, А.В. Роль условно – патогенной микрофлоры в этиологии мастита у коров/ А.В. Филатова, Б.М. Тшивале, В.С. Авдеенко, В.А. Агольцов// Научная жизнь. – 2023. – №5. – С. 782 – 794.

60. Чичкин, А.Н. Способы профилактики и лечения маститов/ А.Н. Чичкин, А.В. Гритчин, А.М. Семиволос// Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии. – 2016. – С. 35 – 36.

61. Чичкин, А.Н. К вопросу диагностики маститов у коров/ А.Н. Чичкин, А.В. Гритчин, А.М. Семиволос// Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии. – 2016. – С. 34 – 35.

62. Чучин, В.Н. Акупунктура как метод лечения лактирующих коров при субклиническом мастите/ В.Н. Чучин, В.С. Авдеенко, А.В. Авдеенко// Аграрная наука в XXI веке: проблемы и перспективы. – 2014. – С. 292 – 294

63. Яхаев, И.М. Гинеколога – маммологическая диспансеризация лактирующих коров/ И.М. Яхаев, С.В. Федотов, Н.С. Белозерцева// Ветеринария. – 2020. – №6. – С.33 – 38.

64. Abat, C. Enterococcus faecalis urinary – tract infections: do they have a zoonotic origin// C. Abat, M. Huart, V. Garcia, G. Dubourg, D. Raoult. – Journal of Infection. – 2016. – V.73. – P. – 305–313.

65. Abdel Khalek, A. Prevalence of Subclinical Mastitis in some Dairy Cattle Farms in Kuwait // A. Abdel Khalek, Alanzi J. Mansoura. – Vet. Med. J. – 2019. – P. – 10–18.

66. Aghamohammadi, M. Herd – level mastitis – associated costs on Canadian dairy farms// Aghamohammadi M., Haine D., Kelton D.F., Barkema H.W., Hogeveen H., Keefe G.P., Dufour S. – *Front Vet. Sci.* – 2018. – V. 5. – P.100.
67. Aishwarya Sunder, H., Ultrasonographic Changes in Teat and Supramammary Lymph Nodes in Dairy Cows Affected with Clinical Mastitis // Aishwarya Sunder H., Gupta D., Singh R., Singh S., Randhawa C. Haryana. – *Vet.* – 2022. – V.61. – P. 68 – 71.
68. Alamdari, E.K. Antimicrobial peptides derived from milk: a review// Ehsani, M. R.– *J. Food Biosci. Technol.* – 2017. – V. 7. – P. 49–56.
69. Albino, R.L., Technical Note: Mammary Gland Ultrasonography to Evaluate Mammary Parenchymal Composition in Prepubertal Heifers // Guimarães S.E.F., Daniels K.M., Fontes M.M.S., Machado A.F., dos Santos G.B., Marcondes M.I. J. – *Dairy Sci.* – 2017. – V 100. – P. 1588 –1591.
70. Ashraf, A. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis // Ashraf A., Imran M. – *Anim. Health Res. Rev.* – 2020. – V 21. – P. 36 – 49.
71. Avdeenko, V.S. Effect of millimeter – range electromagnetic radiation on cow’s livestock yields and functional state of the udder // A.V. Avdeenko, A.V. Molchanov, S.V. Fedotov et. al. – *Biology and Medicina.* – 2015. – Volume 7. – Issue 3. – P. 124 – 139.
72. Bar, D. The cost of generic clinical mastitis in dairy cows as estimated by using dynamic programming // Bar D. – *J. Dairy Sci.* – 2008. – V.91. – P. 2205–2214.
73. Berglund, I. Quarter milking for improved detection of increased SCC // I. Berglund, G. Pettersson, K. Östensson, K. Svennersten – Sjaunja. – *Reprod. Domest. Anim.* – 2007. – V 42. – P. 427 – 432.
74. Blowey, R.W. Mastitis Control in Dairy Herds // Blowey R.W., Edmondson P. – CABI; Cambridge, MA, USA: – 2010. – 124 p.

75. Blum, S. E, Identification of a bovine mastitis *Escherichia coli* subset. // Heller, E. D., Krifucks, O., Sela, S., Hammer – Muntz, O., and Leitner, G. –*Vet. Microbiol.* – 2008. – P.135 – 148.
76. Boireau, C. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from mastitis in dairy cattle in France. // Cazeau. G., Jarrige. N., Calavas. D., Madec. J. Y., Leblond. A., et al. – *J. Dairy Sci.* – 2018. – V .101. – P. 9451–9462.
77. Boss, R., Bovine *Staphylococcus Aureus*: Subtyping, Evolution, and Zoonotic Transfer // Cosandey A., Luini M., Artursson K., Bardiau M., Breitenwieser F., Hehenberger E., Lam T., Mansfeld M., Michel A., et al. – *J. Dairy Sci.* – 2016. – V 99. – P. 515 – 528.
78. Carrillo – Casas, E.M. Milk Production – An up – to – Date Overview of Animal Nutrition, Management and Health // Carrillo – Casas E.M., Miranda – Morales R.E. – Intech Open; London, UK: 2012. Bovine mastitis pathogens: Prevalence and effects on somatic cell count. – 2012. – 98 p.
79. Castelani, L. Activity of nisin, lipid bilayer fragments and cationic nisin – lipid nanoparticles against multidrug – resistant *Staphylococcus* spp. isolated from bovine mastitis // Castelani L., Arcaro J.R.P, Braga J.E.P. et al. – *J. Dairy Sci.* – 2019. – V. 102. – P. 678 – 683.
80. Chajęcka – Wierzchowska, W. Virulence factors of *Enterococcus* spp. presented in food // Chajęcka – Wierzchowska W., Zadernowska A., Łaniewska – Trokenheim L. – *LWT – Food Science and Technology.* – 2017. – V.75. – P. 670 – 676.
81. Chedly, H.B. Cell junction disruption after 36h milk accumulation was associated with changes in mammary secretory tissue activity and dynamics in lactating dairy goats // Chedly H.B., Lacasse P., Marnet P.G., Wiart – Letort S., Finot L., Boutinaud M. – *J. Physiol. Pharmacol.* – 2009. – V. 60. – P.105–111.
82. Cheng, W.N. Moringa extract attenuates inflammatory responses and increases gene expression of casein in bovine mammary epithelial cells // Cheng W.N., Jeong C.H, Seo H.G, Han S.G. – *Animals.* – 2019. – V 9. – P. 391–398.

83. Choudhary, R.K. Comparison of the transcriptomes of long – term label retaining – cells and control cells microdissected from mammary epithelium: an initial study to characterize potential stem/progenitor cells. // Choudhary R.K., Li R.W, Evock – Clover C.M. et al. – *Front Oncol.* – 2013. – V.3. – P. 21 – 32.
84. Cobirka, M. Epidemiology and Classification of Mastitis // Cobirka M., Tancin V., Slama P. – *Animals.* – 2020. – V.10. – P. 2201– 2212.
85. Costa, A. Invited review: Milk lactose – Current status and future challenges in dairy cattle. // Costa A., Lopez – Villalobos N., Sneddon N.W., Shalloo L., Franzoi M., De Marchi M., Penasa M. – *J. Dairy Sci.* – 2019. – V. 102. – P.5883 –5898.
86. Dąbrowska, K. Pharmacologically aware phage therapy: pharmacodynamic and pharmacokinetic obstacles to phage antibacterial action in animal and human bodies // Dąbrowsk K., Abedon ST. – *Microbiol Mol Biol Rev.* – 2019. – V.83. – P. 0012 – 0019.
87. Das, D. Economic impact of subclinical and clinical mastitis in Odisha, India // Das D., Panda S.K., Jena B., Sahoo A.K. – *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* – 2018. – V.7(03). –P. 3651–3654.
88. Denamur, E. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. // Clermont, O., Bonacorsi, S., and Gordon, D. – *Nat. Rev. Microbiol.* – 2021. – V 19. – P. 37–54.
89. Devriese, L. A. Identification of *Enterococcus* species isolated from foods of animal origin. // Devriese L. A., Pot B., Van Damme L., Kersters K., Haesebrouck F. *International Journal of Food Microbiology.* – 1995. – V. 26. – P. 187–197.
90. Ebrahimie, E. A Large – Scale Study of Indicators of Sub – Clinical Mastitis in Dairy Cattle by Attribute Weighting Analysis of Milk Composition Features: Highlighting the Predictive Power of Lactose and Electrical Conductivity // Ebrahimie E., Ebrahimi M., Tomlinson S., Petrovski K.R. J. – *Dairy Res.* – 2018. – V.85. – P.193–200.

91. Fedotov, S.V. The qualitative composition of milk from cow with sub – clinical mastitis. // Fedotov S.V., Avdeenko V.S., Belozhercheva N.S., Yahaev I.M. – *Reproduction in domestic animals*. – 2019. – vol.54. – s.3. – P.138 – 139.
92. Fedotov, S.V. Enhancements in the diagnosis of mastitis in cows, held in an intensive farming system// Regan Reddy Gade, Sidnev N.I., Fouad Sakr, Zherebtsov I.S. – *The Indian veterinary journal*. – July 2022. – P. 99 –106.
93. Felipe, V. Chitosan disrupts biofilm formation and promotes biofilm eradication in *Staphylococcus* species isolated from bovine mastitis // Felipe V., Breser M.L., Bohl L.P., et al. – *Int. J. Biol. Macromol.* – 2019. – V.126. – P. 51–60.
94. Feng, J., Multiple – Vessel – Based Blood Gas Profiles Analysis Revealed the Potential of Blood Oxygen in Mammary Vein as Indicator of Mammary Gland Health Risk of High – Yielding Dairy Cows // Peng J., Hu Z., Cai J., Liu J., Wang D. – *Animals*. – 2022. –V.12. – P. 1471–1484.
95. Ferrari, F. The surface roughness of lactose particles can be modulated by wet – smoothing using a high – shear mixer. // Ferrari F., Cocconi D., Bettini R., Giordano F., Santi P., Tobyn M., Price R., Young P., Caramella C., Colombo P. – *AAPS Pharm.Sci.Tech.* – 2004. – V. 5. – P. 69–74.
96. Ferreira, M. Liposomes as antibiotic delivery dystems: a promising nanotechnological strategy against antimicrobial resistance // Ferreira M., Ogren M., Dias J.N.R., Silva M., Gil S., Tavares L., et al. – *Molecules*. – April 2021. – P. 26–33.
97. Francesca, N. Microbial characterisation of fermented meat products from the Sicilian swine breed “Suino Nero Dei Nebrodi”// Francesca N., Sannino C., Moschetti G., Settanni L. – *Annals of Microbiology*. – 2013. – V63. – P. 53–62
98. Franz, C. M. Enterococci at the crossroads of food safety // Franz C. M., Holzapfel W. H., Stiles M. E. – *International Journal of Food Microbiology*. – 1999. – V. 47. – P. 1–24.
99. Gao, J. Impact of yeast and lactic acid bacteria on mastitis and milk microbiota composition of dairy cows // Gao J., Liu Y.C., Wang Y., Li H., Wang

X.M., Wu Y., Zhang D.R., Gao S., Qi Z.L. – *AMB Express*. – January 2020. – P. 10–19.

100. Gao, X. Enterococcal isolates from bovine subclinical and clinical mastitis: antimicrobial resistance and integron – gene cassette distribution // Gao X., Fan C., Zhang Z., et al. – *Microbial Pathogenesis*. – 2019. – V.129. – P. 82–87.

101. Gao, J. Incidence of clinical mastitis and distribution of pathogens on large Chinese dairy farms. // Gao J. Barkema, H. W., Zhang, L., Liu, G., Deng, Z., Cai, L., et al. – *J. Dairy Sci.* – 2017. – V. 100. – P.4797–4806.

102. García – Solache, M. The enterococcus: a model of adaptability to its environment. // García – Solache M., Rice L. B. – *Clinical Microbiology Reviews*. – 2019. – V. 32. – P. 18–26.

103. Gelsomino, R. Source of enterococci in a farmhouse raw – milk cheese. // Vancanneyt M., Cogan T. M., Condon S., Swings J. – *Applied and Environmental Microbiology*. – 2002. – V. 68(7). – P. 3560–3565.

104. Gomes, F. Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches. // Gomes F., Henriques M. – *Current Microbiology* – 2016 – V.72. – P. 377–382.

105. Gomes, F. Anti – biofilm activity of hydromethanolic plant extracts against *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis // Gomes F., Martins N, Ferreira ICFR, Henriques M. – *Heliyon*. – 2019. – V5. – P.1728–1739.

106. Gundling, N. Quantitative Measurement of Udder Oedema in Dairy Cows Using Ultrasound to Monitor the Effectiveness of Diuretic Treatment with Furosemide // Gundling N., Drummer C., Lüpke M., Hoedemaker M. *Schweiz. – Arch. Tierheilkd.* – 2021. – V.164. – P.767–777.

107. Gutiérrez, D. Phage lytic protein Lys RODI prevents staphylococcal mastitis in mice // Gutiérrez D., Garrido V, Fernández L, Portilla S, Rodríguez A, Grilló MJ, et al. – *Front Microbiol.* – January 2020. – P.129–138.

108. Hadrich, J.C. Estimating milk yield and value losses from increased somatic cell count on US dairy farms. // Hadrich J.C., Wolf C.A, Lombard. J, Dolak. T.M. – *J. Dairy Sci.* – 2018. – V.101(4) – P. 3588–3596

109. Halasa, T. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. // Halasa T., Huijps K., Østerås O., Hogeveen H. – *Vet. Q.* – 2007. – V.29. – P. 18–31.
110. Hamann, J. Mastitis notes from members countries // *Journal of Dairy Research* – 2001. – V.9. – P. 27–41.
111. Hameed, K.G.A. Public health hazard due to mastitis in dairy cows. // Hameed K.G.A., Sender G., Korwin – Kossakowska A. – *Anim. Sci. Pap. Rep.* – 2007. – V. 25. – P. 73 –85.
112. Harrell, F.E. *Regression Modeling Strategies*. Springer International Publishing; Cham, Switzerland: 2015. (Springer Series in Statistics). – 39 p.
113. Hasan, K. A. The unravelled *Enterococcus faecalis* zoonotic superbugs: emerging multiple resistant and virulent lineages isolated from poultry environment. // Hasan K. A., Ali S. A., Rehman M., Bin – Asif H., Zahid S. – *Zoonoses and Public Health*. – 2018. – V.65. – P.921–935.
114. Hashem, Y. A. Phenotype–genotype correlations and distribution of key virulence factors in *Enterococcus faecalis* isolated from patients with urinary tract infections // Hashem Y. A., Abdelrahman K. A., Aziz R. K. – *Infection and Drug Resistance*. – 2021. – V.14 – P. 1713–1723.
115. Heikkilä, A.M. Pathogen – specific production losses in bovine mastitis // Heikkilä A.M., Liski E, Pyörälä S, Taponen S. – *J Dairy Sci.* – 2018. – V.101. – P. 9493–504.
116. Hogan, J.S. *Current Concepts of Bovine Mastitis*. // Hogan J.S., *Martin M.* – The National Mastitis Council; New Prague, MN, USA: 2016. – 47 p.
117. Hogeveen, H. Current status and future challenges in mastitis research. In *Proceedings of the 50th Annual Meeting of the National Mastitis Council*// Pyorala. S, Waller. K.P, Hogan. J.S, Lam T.J.G.M, Oliver. S.P, Schukken. Y.H, Barkema. H.W, Hillerton. E.J. – 2011. (23 – 26 January). – Arlington, USA – P. 36 – 48.

118. Holko, I. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Udder Pathogens Isolated from Dairy Cows in Slovakia // Holko I., Tančin V., Vršková M., Tvarožková K. – *J. Dairy Res.* – 2019. – V.86. – P.436–439.
119. Hommels, N.M.C. Antibiotic Use and Potential Economic Impact of Implementing Selective Dry Cow Therapy in Large US Dairies // Hommels N.M.C., Ferreira F.C., van den Borne B.H.P., Hogeveen H. – *J. Dairy Sci.* – 2021. – V.104. – P. 8931–8946.
120. Hong, H. Phytochemicals and antioxidant capacity of some tropical edible plants // Hong H., Lee J.H., Kim S.K., *Asian – Australas J Anim Sci.* – 2018. – V. 31. – P. 1668–1677.
121. Hussein H.A. Comparative Evaluation of Ultrasonography with Clinical Respiratory Score in Diagnosis and Prognosis of Respiratory Diseases in Weaned Dairy Buffalo and Cattle Calves // Hussein H.A., Binici C., Staufenbiel R. – *J. Anim. Sci. Technol.* – 2018. – V.60. – P. 18 –29.
122. Jansen, J. Understanding the mastitis mindset: Applying social psychology in practice // Jansen J., Wessels R.J., Lam T.J. – *Proceedings of the National Mastitis Council 55th Annual Meeting; Glendale, AZ, USA.* – 31 January–2 February 2016. – p. 5–15.
123. Kader, M. A. Influence of host level factors on prevalence and economics of subclinical mastitis in dairy milch cows in Bangladesh. // Kader M. A. Samad M. A., Saha S. – *Indian Journal of Dairy Science.* – 2003. – V. 56. – P. 235–240.
124. Karav, S. Studying lactoferrin N – glycosylation // Karav S. German J. B., Rouquié C., Le Parc A., Barile D. – *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. –V.18. – P.1–14.
125. Kher, M.N. In vitro antibacterial evaluation of Terminalia chebula as an alternative of antibiotics against bovine subclinical mastitis // Kher M.N., Sheth N.R, Bhatt V.D. – *Anim Biotechnol.* – 2019 Apr. – V.30(2). – P. 151 – 158.
126. Khosravi, M. Detection of bacteria causing mastitis in cows with immunoelectric tool // Makki Meysam, Ghoudarzi Mohammad. Nasir, Gharibi Darioush. – *Journal of clinical laboratory analysis.* – 2023. –V. 37. – P. 9 – 10.

127. Klaas, I. C. An update on environmental mastitis: challenging perceptions// Klaas I. C., Zadoks R. N. – *Transboundary and Emerging Diseases*. – 2018. – V. 65. – P.166–185.
128. Krömker, V. Mastitis treatment – Reduction in antibiotic usage in dairy cows // Krömker V., Leimbach S. – *Reprod Domest Anim*. – 2017 Aug. 52. – S. 3. – P. 21–29.
129. Kuhi, M. Antibacterial action of dextran conjugated lysozyme against bacteria involved in bovine mastitis. // Kuhi M., Aminlari, M., and Tavana, M. – *Adv. Dairy. Res*. – 2021. – V. 9. – P. 1– 6.
130. Lanctôt, S. Effect of intramammary infusion of chitosan hydrogels at drying – off on bovine mammary gland involution // Fustier P, Taherian AR, Bisakowski B, Zhao X, Lacasse P. – *J Dairy Sci*. – 2017. – V.100. – P. 2269–81.
131. Lemosquet, S. Effects of glucose, propionic acid, and nonessential amino acids on glucose metabolism and milk yield in Holstein dairy cows. // Delamaire E., Lapierre H., Blum J.W., Peyraud J.L. – *J. Dairy Sci*. – 2009. – V. 92. – P. 3244 –3257.
132. Lundberg, Å. *Mastitis in Dairy Cows*. Uppsala University; Uppsala, Sweden: 2015. – 84 p.
133. Méric, G. From Escherichia coli to the Escherichia coli genome. // Hitchings, M. D., Pascoe, B., and Sheppard, S. K. – *Lancet Infect. Dis*. – 2016. – V.16. –P. 634–636.
134. Miglior, F. Genetic analysis of milk urea nitrogen and lactose and their relationships with other production traits in Canadian Holstein cattle. // Sewalem A., Jamrozik J., Bohmanova J., Lefebvre D.M., Moore R.K. – *J. Dairy Sci*. – 2007. – V.90. – P. 2468–2479.
135. Montironi, I.D. *Minthostachys verticillata* essential oil activates macrophage phagocytosis and modulates the innate immune response in a murine model of *Enterococcus faecium* mastitis // Reinoso E.B, Paullier V.C. et al. – *Res Vet Sci*. – 2019. – V. 125. – P. 333 – 344.

136. Moreira, L.H. Use of photodynamic therapy in the treatment of bovine subclinical mastitis // Moreira L.H., de Souza J.C.P., de Lima C.J., Salgado M.A.C., Fernandes A.B., Andreani D.I.K. et al. – Photodiagn Photodyn Ther. – 2018 Mar. – V. 21. – P.246–251.
137. Mourya, A. Ultrasonographic Alteration in Subclinical Mastitis in Cows // Mourya A., Shukla P.C., Gupta D.K., Sharma R.K., Nayak A., Tiwari A., Singh B., Singh A.P., Sahi A., Jain A. – J. Entomol. Zool. Stud. – 2020. – V.8. – P. 2058–2063.
138. Moussaoui, F. Proteolysis in milk during experimental *Escherichia colimastitis*. // Vangroenweghe F., Haddadi K., Le Roux Y., Laurent F., Duchateau L., Burvenich C. – J. Dairy Sci. – 2004. – V. 87. – P. 2923 – 2931.
139. Murata, H. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview // Murata H., Shimada N., Yoshioka M. – The Veterinary Journal. – 2004. – V.168. – P. 28–40
140. Ntemka, A. The Role of Ewes' Udder Health on Echotexture and Blood Flow Changes during the Dry and Lactation Periods // Ntemka A., Tsakmakidis I., Boscoc C., Theodoridis A., Kiossis E. – Animals. – 2022. – V. 12. – P. 2218 – 2230.
141. O'Driscoll, T. Vancomycin – resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. // O'Driscoll T. Crank C. W. – Infection and Drug Resistance. – 2015. – V.8. – P. 217–230.
142. Ökmen, G, Antibacterial and antioxidant activities of *Liquidambar orientalis* mill. various extracts against bacterial pathogens causing mastitis // Cantekin Z., Alam M., Türkcan O., Ergün Y. Turkish J Agric – Food Sci Technol. – 2017. – V.5. – P. 883– 891.
143. Olsen, R. H. Enterococcus faecalis of human and poultry origin share virulence genes supporting the zoonotic potential of E. faecalis. // Schönheyder H. C., Christensen H., Bisgaard M. – Zoonoses and Public Health. – 2012. – V. 59. – P.256–263.

144. Olson, M. E. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. // Olson M. E., Ceri, H., Morck, D. W., Buret, A. G., and Read, R. R.– *Can. J. Vet. Res.* – 2002. – V.66. – P. 86–92.
145. Onzález Pereyra, V. Pol Quantification of antimicrobial usage in dairy cows and preweaned calves in Argentina. // Onzález Pereyra V., M. Pastorino F. Herrero A. – *Prev. Vet. Med.* – 2015. – V.122. – P. 273 – 279.
146. Orellano, M.S, Chitosan nanoparticles enhance the antibacterial activity of the native polymer against bovine mastitis pathogens // Isaac P., Breser M.L. et al. – *Carbohydr Polym.* – 2019. – V. 213. – P.1001–1009.
147. Pellegrino, M.S. In vitro characterization of lactic acid bacteria isolated from bovine milk as potential probiotic strains to prevent bovine mastitis // Frola I.D., Natanael B., Gobelli D., Nader – Macias M.E.F, Bogni C.I. – *Probiotics Antimicro Prot.* – 2019. – V.11. – P. 74 – 84.
148. Penry, J.F., Association of Quarter Milking Measurements and Cow – Level Factors in an Automatic Milking System // Crump P.M., Hernandez L.L., Reinemann D.J. – *J. Dairy Sci.* – 2018. – V. 101. – P. 7551–7562.
149. Pessorá, R.B. Avaliação da apoptose de leucócitos polimorfonucleares CH138+ em leite bovino de alta e baixa contagem de células somáticas dados preliminares. // Della Libera A.M.M.P., Blagitz M.G., Batista C.F., Santos B.P., Parra A.C., Souza F.N. – *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* – 2012. – V. 64. – P. 533 –539.
150. Piotr, S. Essential oils as potential anti – staphylococcal agents // Magdalena Z., Joanna P., Barbara K., Sławomir M. – *Acta Vet.* – Beograd. – 2018. – V.68. – P. 95 – 107.
151. Pirnay, J.P. The Magistral phage // Pirnay J.P, Verbeken G., Ceysens P.J., Huys I, De Vos D., Ameloot, C. et al. – *Viruses.* – 2018 Feb. – V.6. – P. 64 – 69.
152. Pollott, G.E. Deconstructing milk yield and composition during lactation using biologically based lactation models. – *J. Dairy Sci.* – 2004. – V. 87.– P. 2375–2387.

153. Potapow, A. Investigation of Mammary Blood Flow Changes by Transrectal Colour Doppler Sonography in an *Escherichia coli* // Potapow A., Sauter – Louis C., Schmauder S., Friker J., Nautrup C.P., Mehne D., Petzl W., Zerbe H. – *J. Dairy Res.* – 2010. – V.77. – P. 205–212.
154. Puerto, M.A. The Hidden Cost of Disease: I. Impact of the First Incidence of Mastitis on Production and Economic Indicators of Primiparous Dairy Cows // Shepley E., Cue R.I., Warner D., Dubuc J., Vasseur E. – *J. Dairy Sci.* – 2021. – V.104. – P. 7932–7943.
155. Radostitis, O. *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses* // Gay. C., Hinchcliff K., Constable. P. – Philadelphia: Saunders. – 2007. – P.2180 – 2192.
156. Rainard, P. Invited review: a critical appraisal of mastitis vaccines for dairy cows // Gilbert F.B, Germon P, Foucras G. – *J. Dairy Sci.* – 2021. –V.104. – P. 10427–10448
157. Ranjani S., Novel polyherbal nanocolloids to control bovine mastitis // Priya P.S, Veerasami M, Hemalatha S. – *Appl Biochem Biotechnol.* – 2022 Jan. – V. 194(1). – P. 246–265.
158. Rathaur, A. Effect of Subclinical Mastitis in Compositional Change in Milk and Blood Parameter of Crossbred Dairy Cow // Rathaur A., Bhatishwar V. – *Int. J. Chem. Stud.* – 2020. – V.8. – P. 10 –12.
159. Richards, V. P. Genome based phylogeny and comparative genomic analysis of intra – mammary pathogenic *Escherichia coli* // Richards V. P., Lefébure, T., Bitar, P. D. P., Dogan, B., Simpson, K. W., Schukken, Y. H., et al. – 2015 Mar. – V. 25. – P. 100 –103.
160. Rollin, E. The cost of clinical mastitis in the first 30 days of lactation: An economic modeling tool // Rollin E., Dhuyvetter. K. & Overton. M. – *Prev. Vet. Med.* – 2015. – V. 122. – P. 257–264.
161. Rossi, R.S. Diagnostic Accuracy of Somaticell, California Mastitis Test, and Microbiological Examination of Composite Milk to Detect *Streptococcus Agalactiae* Intramammary Infections // Amarante A.F., Correia L.B.N., Guerra

S.T., Nobrega D.B., Latosinski G.S., Rossi B.F., Rall V.L.M., Pantoja J.C.F. – J. Dairy Sci. – 2018. – V. 101. – P. 10220–10229.

162. Róžańska, H. Occurrence of enterococci in mastitic cow's milk and their antimicrobial resistance. // Lewtak – Piłat A., Kubajka M., Weiner M. – Journal of Veterinary Research. – 2019. – V. 63. – P. 93–97.

163. Salamon, H. The role of O – polysaccharide chain and complement resistance of *Escherichia coli* in mammary virulence. // Nissim – Eliraz, E., Ardronai, O., Nissan, I., and Shpigel, N. Y. – Vet. Res. V. – 2020. – V.51. – P. 68–77.

164. Sandeep, Gera. Assessment of acute phase proteins and nitric oxide as indicator of subclinical mastitis in Holstein × Haryana cattle // Sandeep Gera and Anirban Guha. – Indian Journal of Animal Sciences. – 2011. – V.81 (10) – P. 1029–1031

165. Sarvesha, K. Biochemical Profile and Milk Leukocyte Count in Subclinical and Clinical Mastitis Affected Crossbred Cattle // Styandarayana M.L., Narayanaswamy H.D., Rao S., Yathiraj S., Isloor S., Mukartal S.Y., Singh S.V., Anuradha M.E. Haemato – J. Exp. Biol. Agric. Sci. – 2017. – V. 5. – P. 11–16.

166. Schwarz, T., Associations between Mammary Gland Echotexture and Milk Composition in Cows // Scheeres N., Małopolska M.M., Murawski M., Agustin T.D., Ahmadi B., Strzałkowska N., Rajtar P., Micek P., Bartlewski P.M. – Animals. – 2020. – V.10. – 1996 – 2005.

167. Shi, Y. Bacteriophages isolated from dairy farm mitigated *Klebsiella pneumoniae* – induced inflammation in bovine mammary epithelial cells cultured in vitro // Zhao W, Liu G, Ali T, Chen P, Liu Y, et al. – BMC Vet Res. – 2021 Jan. – V. 19. – P. 37 – 42.

168. Shpigel, N. Y. Mammary pathogenic *Escherichia coli* // Elazar S. and Rosenshine I. – Curr. Opin. Microbiol. – 2008. – V. 11. – P. 60–65.

169. Singh, K. Prevalence and antibiotic resistance pattern among the mastitis causing microorganisms // Chandra. M., Kaur. G., Narang. D., and Gupta. D. K. – Open J. Vet. Med. – 2018. – V.8. – P. 54 – 64.

170. Suzuki, N. Outcome Prediction from the First Examination in Clinical Mastitis Using Ultrasonography in Dairy Cows // Kurose T., Kaneko S., Haraguchi A., Isobe N. – Anim. Sci. J. – 2020. – V 91. – P. 452 – 459.

171. Tanni, N.S. Evaluation of Sodium Lauryl Sulfate for the Development of Cow – Side Mastitis Screening Test // Islam M.S., Kabir M., Parvin S., Ehsan M.A., Islam M.T. – Vet. World. – 2021. – V. 14. – P. 2281 – 2290.

172. Televičius, M. Inline Milk Lactose Concentration as Biomarker of the Health Status and Reproductive Success in Dairy Cows // Juozaitiene V., Malašauskienė D., Antanaitis R., Rutkauskas A., Urbutis M., Baumgartner W. – Agriculture. – 2021. – V. 11. – P. 31– 38.

173. Themistokleous, K.S. A Deep Learning Algorithm Predicts Milk Yield and Production Stage of Dairy Cows Utilizing Ultrasound Echotexture Analysis of the Mammary Gland // Themistokleous K.S., Sakellariou N., Kioassis E. Comput. Electron. Agric. – 2022. – V.198. – P. 6984 – 6992.

174. Tommasoni, C. Mastitis in Dairy Cattle: On – Farm Diagnostics and Future Perspectives // Fiore. E, Lisuzzo. A, Gianesella. M. – 2023 Aug. – V.6. – P.13 – 15.

175. Valde, J.P. Comparison of ketosis, clinical mastitis, somatic cell count, and reproductive performance between free stall and tie stall barns in Norwegian dairy herds with automatic feeding. // Hird D.W., Thurmond M.C., Østerås O. – Acta Vet. Scand. – 1997 – V. 38. – P. 181–192.

176. Van Hoeij, R.J. Udder health of dairy cows fed different dietary energy levels after a short or no dry period without use of dry cow antibiotics // Lam T.J.G.M., Bruckmaier R.M., Dijkstra J., Remmelink G.J., Kemp B., Van Knegsel A.T.M. – J. Dairy Sci. – 2018 May. – V. 101(5). – P. 4570–4585.

177. Vander Elst, N. Characterization of the bacteriophage – derived endolysins PlySs2 and PlySs9 with in vitro lytic activity against bovine mastitis *Streptococcus uberis* // Linden SB, Lavigne R, Meyer E, Briers Y, Nelson DC. *Antibiotics (Basel)*. – 2020 Sep. – V. 19. – P. 621 – 630.

178. Varela – Ortiz, D.F. Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis cases and in vitro efficacy of bacteriophage // Barboza – Corona JE, González – Marrero J, et al. – *Vet Res Commun.* – 2018. – V. 42. – P.243–50.

179. Vidlund Jessica, J. Staphylococcal surface proteins as vaccine candidates for the control of *Staphylococcal mastitis* in dairy cows. – Master's thesis, university of tennessee – 2022. – 72 p.

180. Vorobyov, N.I. Effect of feed supplements on blood biochemical parameters and intensity of metabolic processes in cows: the neural network modeling method / Vorobyov N.I., Bogolyubova N.V., Platonov A.V., Nikonov I.N., Selina M.V., Guselnikova A.A., Sidnev N.Y.// *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences.* – 2023. – V. 24. – № 4. – P. 165 – 170.

181. Vorobyov, N.I. Neural network analysis of hematological parameters in cows and assessment of their potential milk productivity/ Vorobyov N.I., Bogolyubova N.V., Platonov A.V., Nikonov I.N., Selina M.V., Guselnikova A.A., Sidnev N.Y.// *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences* – 2023. – V. 24. – № 6. – P. 320 – 325.

182. Washburn, S.P. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. // White S.L., Green J.T., Jr., Benson G.A. – *J. Dairy Sci.* – 2002. – V. 85. – P. 105 – 111.

183. Winder, C.B. Comparative Efficacy of Blanket versus Selective Dry – Cow Therapy: A Systematic Review and Pairwise Meta – Analysis // Sargeant J.M., Kelton D.F., Leblanc S.J., Duffield T.F., Glanville J., Wood H., Churchill K.J., Dunn J., Bergevin M.D., et al. – *Anim. Health Res. Rev.* – 2019. – V.20. – P. 217–228.

184. Witkowska, D. The Effect of Housing System on Disease Prevalence and Productive Lifespan of Dairy Herds – A Case Study // Witkowska D., Ponieważ A. – *Animals.* – 2022 Jun. – V.22. – P. 1610 – 1623.

185. Yang, W.T. Effective treatment of bovine mastitis with intramammary infusion of *Angelica dahurica* and *Rheum officinale* extracts // Ke C.Y., Wu W.T., Lee R.P., Tseng Y.H. *Evid Based Complement Alternat Med.* – 2019 – V.3. – P. 113 – 123.
186. Zadoks, R.N. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. // Middleton J.R., McDougall S., Katholm J., Schukken Y.H. – *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* – 2011. – V. 16. – P. 357–372.
187. Zhang, X. Relationship Between Somatic Cell Counts and Mammary Gland Parenchyma Ultrasonography in Buffaloes // Ahmad M.J., An Z., Niu K., Wang W., Nie P., Gao S., Yang L. – *Front. Vet. Sci.* – 2022. – V.9. – P. 105–114.
188. Zhang, J. Forsythoside A inhibited *S. aureus* stimulated inflammatory response in primary bovine mammary epithelial cells // Zhang Y., Huang H. et al. – *Microb Pathog.* – 2018. – V. 116. – P.158–163.
189. Zhao, Q. Baicalin inhibits *Escherichia coli* isolates in bovine mastitic milk and reduces antimicrobial resistance // Yuan F, Liang T, et al. – *J Dairy Sci.* – 2018. – V. 101. – P. 2409 – 2415.
190. Zhao, X. Invited Review: Accelerating Mammary Gland Involution after Drying – off in Dairy Cattle // Ponchon B., Lanctôt S., Lacasse P. *J. Dairy Sci.* – 2019. – V.102. – P. 6701– 6717.
191. Zhou, M. Role of long polar fimbriae type 1 and 2 in pathogenesis of mammary pathogenic *Escherichia coli*. // Yang Y., Wu M., Ma F., Xu Y., Deng B., et al.– *J. Dairy Sci.* V. – 2021 – V.104. – P. 8243 – 8255.

ПРИЛОЖЕНИЯ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2023662779

**Программа нейросетевого анализа биохимических
показателей крови животных**

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» (ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА имени К.И. Скрябина) (RU)*

Авторы: *Воробьев Николай Иванович (RU), Селина Марина Викторовна (RU), Гусельникова Анна Алексеевна (RU), Никонов Илья Николаевич (RU), Сиднев Никита Юрьевич (RU)*

Заявка № 2023619072

Дата поступления 10 мая 2023 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ 14 июня 2023 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

«Утверждаю»

Заместитель председателя
Национальной ассоциации ветеринарных
репродуктологов «НАВР»



В.Ю. Петров Петров В.Ю.

12.11.2024

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Результаты научных исследований Сиднев Никита Юрьевич на тему: «Совершенствование диагностики и терапия маститов у лактирующих коров в условиях интенсивного производства» приняты к внедрению в производство. Предлагаемый способ диагностики субклинических маститов у коров показал высокую эффективность в базовых хозяйствах. Полученные результаты по определению терапевтической эффективности препарата «Антимаст 1» вошли в досье для регистрации. В настоящее время он выпускается под коммерческим названием «Мастиблок».

Секретарь Национальной ассоциации
ветеринарных репродуктологов «НАВР»,
кандидат биологических наук, доцент

Н.С. Белозерцева

Белозерцева Н.С.

Приложение 3

УТВЕРЖДАЮ
директор ФГУП ЭХ
«Кленово-Чегодаево»

Виноградов Валерий Николаевич
«12» 07 2024



Акт внедрения

В рамках проведения исследовательской работы Сиднев Никита Юрьевич определил переносимость препарата АНТИМАСТ №1 на крупном рогатом скоте при многократном применении в повышенных дозах.

Изучение переносимости препарата на целевых видах животных при многократном введении в повышенных дозах необходимо для выявления совокупности функциональных и/или морфологических нарушений, появляющихся у животных после длительного применения испытуемого лекарственного препарата и при его передозировке.

Проведенные исследования позволяют заключить, что ежедневное применение препарата АНТИМАСТ №1 в повышенной дозе в течение 5 дней не оказывает отрицательного влияния на состояние вымени, общее состояние и поведение животных, динамику массы тела, не изменяет клинические показатели (температуру тела) и показатели качества молока, морфологический состав и биохимические показатели крови целевых животных.

Результатами проведенных исследований доказано, что лекарственный препарат для ветеринарного применения АНТИМАСТ №1 является безопасными для животных, которым он предназначен.

ФГУП ЭХ «Кленово-Чегодаево»



Лиэпа В.Л.

УТВЕРЖДАЮ
врио директора ФГБНУ
"Московский НИИСХ «Немчиновка»

Штырхунов Виктор Дмитриевич



Акт внедрения

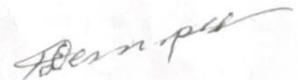
Одним из методов ранней диагностики патологии молочной железы у коров является ультразвуковое исследование. С помощью ультразвукового исследования можно выявить гематомы, абсцессы, воспаление, рост тканей, врожденные патологии, повреждения слизистой оболочки и инородные тела в вымени.

За время проведения исследований Сиднев Никита Юрьевич установил, что ультразвуковое исследование является эффективным методом для быстрого выявления субклинического мастита. Была проведена ультразвукографическая морфометрия 40 молочных желез у 10 молочных коров.

Ультразвуковое исследование продемонстрировало взаимосвязь между течением мастита и изменениями размера лимфатических узлов, а также другие морфологические характеристики. В дополнение к патогенным факторам, морфометрия вымени и сосков влияет на распространенность мастита.

Исследования паренхимы вымени, сосков и надвыменных лимфатических узлов у коров показали, что УЗИ является оптимальным выбором для исследования, поскольку оно неинвазивно и требует минимальных усилий со стороны животных.

Академик РАН, заслуженный деятель науки РФ,
Доктор биологических наук, профессор (03.03.01)
Дегтярев Владимир Павлович



Приложение 5

СПК «Аббакумовский»
Гусь – хрустальный район
Владимирская Область
27.09.2022

Акт внедрения

Изучена переносимость препарата АНТИМАСТ рецептура №13 на целевых видах животных – коровах.

Проведенные исследования позволяют заключить, что ежедневное многократное местное нанесение препарата на протяжении 52 суток коровам, в терапевтической дозе не оказывает отрицательного влияния на общее состояние животных и состояние кожи, динамику массы тела, не изменяет температуру тела, морфологический состав и биохимические показатели крови целевых животных.

На основании результатов проведенных исследований можно сделать вывод о безопасности лекарственного препарата АНТИМАСТ рецептура №13 при нанесении в терапевтических дозах и в дальнейшем рекомендовать его.

На основании проведенной научной работы Сиднева Никиты Юрьевича предложен метод диагностики субклинического мастита у крупного рогатого скота, который продемонстрировал высокую эффективность в хозяйстве.

Подпись  Бавлина Л. А.
 Овелкина В. С.
 Морозова Т. А.

