

На правах рукописи

РЕШЕТКА МИХАИЛ БОРИСОВИЧ

**ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ МАСТИТА БЕЗ
ПРИМЕНЕНИЯ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ
СРЕДСТВ**

**06.02.03 – ветеринарная фармакология с
токсикологией**

**06.02.06 – ветеринарное акушерство и биотехника
репродукции животных**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Краснодар 2013

Работа выполнена на кафедре терапии и фармакологии факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет»

- Научные руководители: Заслуженный деятель науки РФ,
доктор ветеринарных наук,
профессор, член-корр. РАСХН
Антипов Валерий Александрович
- доктор ветеринарных наук
Коба Игорь Сергеевич
- Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук
Семененко Марина Петровна
- доктор ветеринарных наук, профессор
Авдеенко Владимир Семенович
- Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «04» июля 2013 года в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.038.07 при ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет» (350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет» по адресу: 350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13.

Автореферат размещен на официальном сайте ФГБОУ ВПО «Кубанский ГАУ» <http://www.kubsau.ru> «30» мая 2013 г. и официальном сайте ВАК РФ – <http://vak.ed.gov.ru>.

Автореферат разослан «__» июня 2013 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Родин И.А.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Заболевания молочной железы у крупного рогатого скота представляют собой хозяйственно-экономическую проблему во всех странах с интенсивным молочным скотоводством. Поражения вымени очень распространены и причиняют животноводству большой ущерб. Они обуславливают огромные потери молока за счет снижения молочной продуктивности, ограничивают сроки хозяйственного использования коров, снижают качество молока и молочной продукции (Л.Д. Демидова, 1997; Л.К. Попов с соавт., 1999; А. Данкверт, Л. Зернаева, 2003). По мнению отечественных и зарубежных авторов наибольшее распространение мастит получил: во время запуска, в сухостойный период, а также после родов (В.М. Морев, А.П. Береснова, А.Р. Корягина, 1984; Г.В. Зверева, В.Н. Олескив, Д.Е. Капур, 1983; Ю.П. Полянцев, 1985; А.Н. Савостин, 1988; В. Шевкопляс, Н. Филиппов, А. Смянов, 2000; В.А. Париков с соавт., 2000; В.К. Понамарёв, 2002).

Другая проблема, связанная с маститом – наличие ингибирующих веществ в молоке во время и после лечения больных животных. Основная доля этих веществ приходится на антибиотики, сульфаниламиды, нитрофураны и гормоны, которые содержатся в комплексных противомаститных препаратах и широко применяются в ветеринарной практике. (А.И. Тузов, 2002).

В системе лечебно-профилактических мероприятий при мастите у коров важная роль отводится сухостойному периоду. Одним из эффективных приемов профилактики мастита является обработка вымени коров в начале сухостоя пролонгированными антимикробными препаратами. (С.И. Ширяев, 2010).

В нашей стране разработан арсенал новых, высокоэффективных противомаститных препаратов антимикробного и противовоспалительного действия (Л.Д. Демидова, 1997; А.А.Архипов, 2008; Е.А. Сидоркин, 2009 и др.), доступных к применению в условиях любых животноводческих ферм. Однако их эффективность все еще уступает зарубежным средствам. Особенно это относится к препаратам, предназначенным для профилактики и терапии мастита в периодах запуска и сухостоя. Поэтому, разработка и введение в ветеринарную практику новых более эффективных и недорогих противомаститных препаратов является актуальной задачей ветеринарной науки.

Цель и задачи исследований. Цель настоящих исследований состояла в разработке нового эффективного средства для профилактики мастита у коров в период сухостоя и создание препарата для лечения

коров больных маститом, не содержащего в своем составе химиотерапевтических средств.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить степень распространения мастита у коров в некоторых хозяйствах Краснодарского края.
2. Изучить микробный фон коров, больных маститом.
3. Разработать новые препараты для профилактики и лечения мастита в сухостое и изучить его фармако-токсикологические свойства.
4. Изучить их профилактическое и лечебное действие при маститах у коров.

Научная новизна. Определена степень распространения мастита у коров в хозяйствах Краснодарского края, установлен видовой состав микрофлоры, выделенный от больных маститом коров. Разработан новый препарат для профилактики мастита у коров в период сухостоя, дано его фармако-токсикологическое обоснование и оценка профилактической эффективности в сравнительном аспекте с другим аналогичным по действию препаратом. Разработан новый препарат для лечения мастита у коров без химиотерапевтических средств, дана его фармако-токсикологическая характеристика и оценка терапевтической эффективности при лечении маститов в сравнении с другими препаратами.

Практическая значимость. Установлена степень заболеваемости коров маститом в некоторых хозяйствах Краснодарского края. Проведены научные исследования по выяснению некоторых причин заболеваемости коров маститом, в частности в период сухостоя. Предложено новое средство для профилактики мастита у коров в период сухостоя и получена заявка на патент № 2012153019. Предложен новый препарат для лечения мастита у коров не содержащий в своем составе антибиотиков, сульфаниламиды и нитрофураны. Получено решение о выдачи патента на изобретение по заявке №2012121970/15.

Апробация результатов собственных исследований. Результаты исследований и основные положения диссертации доложены, обсуждены и одобрены на заседаниях кафедры терапии и фармакологии ветеринарного факультета Кубанского государственного аграрного университета (2010-2013); международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной ветеринарии» посвященной 90-летию со дня образования Кубанского государственного аграрного университета и 65-летию ветеринарной науки Кубани (2011); межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные

вопросы ветеринарной фармакологии и фармации» посвященной 90-летию Кубанского государственного аграрного университета (2012); международной научно-практической конференции «современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных» (2012); научной конференции профессорско-преподавательского состава факультета ветеринарной медицины Кубанского аграрного университета (2013).

Публикации материалов диссертации. По материалам диссертационной работы опубликовано 6 научных работ, в том числе 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 155 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований и их обсуждения, выводов и практических предложений, списка литературы и приложений. Список использованной литературы включает 211 источников, в том числе 26 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 28 таблицами и 9 рисунками.

Основные положения выносимые на защиту:

1. Распространение мастита в стадах коров и формы его проявления.
2. Материалы разработки препарата профмастит, определение его фармако-токсикологических свойств и оценка профилактической эффективности маститов у коров в период сухостоя.
3. Материалы разработки препарата сангвимастр, определение его фармако-токсикологических свойств и оценка терапевтической эффективности при лечении мастита у коров.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в период с 2010 по 2013 год на кафедре терапии и фармакологии ветеринарного факультета Кубанского государственного аграрного университета совместно с лабораторией акушерства и гинекологии с/х животных Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института, а также в хозяйствах Краснодарского края: Учхоз «Кубань», филиал Смоленский ООО «Предгорье Кавказа» Северского района и ЗАО АФ «Искра» Тимашевского района.

Исследованию было подвергнуто: 3868 коров с продуктивностью 4,0-7,5 тысяч кг и более молока в год, исследовано 15427 проб молока на скрытую форму мастита, бактериологическому исследованию было подвергнуто 54 пробы от больных маститом коров, иссле-

довано 39 проб крови и 338 лабораторных животных.

Исследования проведены в соответствии с рекомендацией «Диагностика, профилактика и лечение мастита у коров» (Краснодар, 1986), «Наставлением по диагностике терапии и профилактике мастита у коров» (М., 2000), «Методическими рекомендациями по диагностике, терапии и профилактики субклинического мастита у коров в сухостойный период» (Воронеж, 2005).

При клиническом исследовании коров определяли состояние вымени методом осмотра и пальпации, а также проводили пробное сдаивание секрета вымени.

При наружном осмотре обращали внимание на форму вымени, состояние волосяного покрова, симметричность четвертей, цвет кожи, величину сосков, состояние сфинктера соскового канала.

Пальпацией определяли местную температуру молочной железы, консистенцию, наличие болевой реакции, состояние надвыменных лимфатических узлов их величину, консистенцию и болезненность.

Пробным сдаиванием определяли тонус сфинктера соскового канала и его проходимость. Так же обращали внимание на внешний вид секрета, цвет, количество, однородность и наличие в нем сгустков и хлопьев.

Для выявления субклинического мастита учитывалась реакция секрета молочной железы с кенотестом на молочно-контрольной пластинке ПМК-2, а также постановкой пробы отстаивания по В.И. Мутовину (1974). Диагноз на субклинический мастит ставили при наличии положительной реакции секрета молочной железы с диагностическим реактивом при повторном исследовании через 48 ч, а также при замерах слоя сливок в пробе отстаивания. Также проводили подсчет соматических клеток в счетной камере с сеткой Горяева (по Н.М. Хилькевичу, 1973) и при помощи прибора «Соматос-мини».

Для определения видового состава микрофлоры, выделенной из вымени коров, нами было исследовано 54 пробы секрета вымени взятого от больных маститом коров. Взятие проб проводили по методике В.И. Слободяник, В.А. Париков, Н.Т. Климов и В.В. Подберезный (2009). Из взятых проб делали посевы на МПА, МПБ, МПА с 7,5% натрия хлорида, МПА с 5% дефибринированной крови барана, МПА с 1% глюкозой, среду Сабуро, среду Эндо, цветные среды Гисса. Для культивирования микроорганизмов чашки Петри с посевами помещали в термостат при +38°C.

Культуральные свойства определяли по характеру роста на питательных средах и по внешнему виду колоний микроорганизмов.

Учитывали форму колоний, цвет, размер, характер поверхности и прозрачность. При посевах на кровяной агар учитывали отсутствие или наличие зоны гемолиза.

Для определения вида бактерий использовали пластины биохимические дифференцирующие стафилококки и энтеробактерий научно-производственного объединения «Диагностические системы», г. Н. Новгород, углеводные среды Гиса. Видовую принадлежность микроорганизмов устанавливали, руководясь «Определителем бактерий Берги» (1980) и рекомендациями Н.Н. Михайлова (1983), В.М. Карташовой с соавт. (1988), а грибов - «Определителем патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов» (1979) и также «Атласом грибов патогенных для сельскохозяйственных животных и птиц» (1953). Идентификацию проводили с учетом культуральных, морфологических и биохимических свойств бактерий по общепринятым методикам (Сидоров М.А. 1982).

Патогенность микроорганизмов устанавливали при внутрибрюшинном заражении белых мышей массой 18-20 г 1 млрд взвесью микробных тел в мл смывой с агаровой культуры в дозе 0,2-0,5мл (200-500млн микробных тел).

Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определяли на среде АГВ луночным методом, а также методом наложения стандартных дисков с антибиотиками и методом кратных серийных разведений в МПБ.

Для лабораторных исследований брали кровь из подхвостовой вены до кормления животных. При гематологических исследованиях определяли количество лейкоцитов и эритроцитов в камере с сеткой Горяева, содержание гемоглобина – гемоглобинцианидным методом, подсчитывали СОЭ в аппарате Панченкова, вычисляли цветовой показатель, выводили лейкоформулу по В.Г. Мухину, характер лейкограммы (микроскопией мазков крови окрашенных по Романовскому-Гимзе). Биохимические исследования заключались в определении в сыворотке крови белковых фракций (нефелометрически), общего белка (колориметрически), мочевины (цветной реакцией с тиосемикарбазидом и диацетилмонооксимом), неорганического фосфора (с ванадат-молибдатным реактивом), общего кальция (с орто-кризолфталейном), глюкозы (ферментативно). Активность трансаминаз, щелочной фосфатазы, билирубин – с помощью наборов фирмы «ДДС».

Исследование специфического действия антимикробных препаратов включало: установление антимикозных и антибактериальных свойств методами последовательных серийных разведений в МПБ и

диффузии в агар с образованием лунок с применением в качестве тест-культур, микроорганизмов выделенных из молочной железы коров больных маститом.

Изучение острой токсичности и хронической токсичности препаратов проводили на беспородных белых мышах, массой 20-25 г и белых крысах, массой 150-200 г в соответствии с «Оценкой биологического действия медицинских изделий. Часть 11. Исследование общетоксического действия» (Утвержденной и введенной в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 6 августа 2009 г. ГОСТ Р ИСО 10993-11-2009).

Изучение раздражающего и сенсибилизирующего действия препаратов проводили на 8 молодых кроликах-альбиносах массой 2300-2700 г, 50 морских свинок-альбиносах массой 250-330 г и 30 беспородных белых мышах массой 20-25 г в соответствии с «Оценкой биологического действия медицинских изделий. Часть 10. Исследование раздражающего и сенсибилизирующего действия» (Утвержденной и введенной в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 6 августа 2009 г. ГОСТ Р ИСО 10993-10-2009).

Всего для оценки безвредности препаратов было задействовано 188 белых мышей-альбиносов, 92 белые крысы, 50 морских свинок-альбиносов и 8 кроликов-альбиносов.

Изучение пленкообразующей способности профмастита провели на 15 коровах голштинской породы, находящихся в сухостое. Для этого профилактическое средство наносили на соски вымени в период запуска животных, непосредственно после последней дойки. В дальнейшем каждые 5 дней проводилось наблюдение за сосками вымени животных и проверка наличия пленки на сосках коров.

Изучение общей микробной обсеменённости секрета молочной железы и кожи сосков коров после применения профмастита осуществляли на 10 клинически здоровых коровах, находящихся в процессе перевода в сухостой.

Изучение профилактической эффективности профмастита провели на 300 животных, которых разделили на 3 равные группы: опытную, 1-ю контрольную (положительный контроль) и 2-ю контрольную (отрицательный контроль) по 100 животных в каждой. Коровам опытной группы во время запуска, непосредственно после последнего доения, и проведения туалета вымени при помощи пластмассового стаканчика для обработки сосков наносили профмастит, после чего коров определяли в группу сухостоя. Коровам первой контрольной группы

по аналогичной схеме при помощи пластмассового стаканчика для обработки сосков наносили ProfilacDryOff. Животных второй контрольной группы определяли в сухостой без средств фармакопрофилактики. У подопытных животных на 15-е сутки сухостойного периода и после отела исследовали молочную железу клиническими методами и постановкой тест-реакций на скрытую форму мастита.

Влияние сангвимаста на молочную железу изучили на 5 клинически здоровых коровах на 4-6 месяце лактации. Препарат, разогретый до 38-39°C в дозе 10 мл, вводили внутрицистернально в соски правой половины молочной железы после предварительного выдаивания молока и вытирания сосков 70° этиловым спиртом (соски левой половины вымени служили контролем). За животными вели наблюдение и исследовали молоко оценки реакции с кенотестом и постановки пробы отстаивания. Также определяли внешний вид, запах, цвет, pH, количество соматических клеток в 1 мл секрета.

Оптимальную лечебную дозу сангвимаста определяли на 30 коровах-аналогах голштинской породы больных катаральным маститом, разделенных на 3 равных группы. Животным первой группы после предварительного выдаивания молока внутрицистернально вводили препарат, подогретый до 38°C. в дозе 5мл, второй -10 мл и третьей 15 мл до выздоровления. После всего курса лечения учитывали количество введений препарата, а также определяли состояние четвертой вымени визуально и при помощи пальпации, проводили исследование молока на скрытый мастит. Терапевтическую эффективность сангвимаста изучали в двух сериях опыта при различных клинически выраженных формах мастита на 216 животных в сравнительном аспекте с препаратами «Ваккамаст» и «Септогель», которые использовали согласно наставлению по применению. Препарат сангвимаст вводили животным после доения внутрицистернально в дозе 10 мл с интервалом 24 часа до выздоровления.

Математическую и биометрическую обработку полученных данных проводили при помощи программы WindowsVista, MicrosoftExcel 2010, степень достоверности «Р» устанавливали по распределению Стьюдента.

3. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Степень распространения и формы проявления мастита у коров

По данным акушерско-гинекологической диспансеризации крупного рогатого скота в 2010-2012 годах в 3 хозяйствах Краснодар-

ского края (ООО «Предгорье Кавказа» в Северском районе, ОАО «Искра» в Тимашевском районе, Учхоз «Кубань») было обследовано 3868 коров и из них выявлено с заболеванием маститом 1520 коров, что составляет 39,3%. Ежегодные исследования животных на мастит показали, что положительно реагирующих животных из года в год нарастало, несмотря на то, что поголовье ферм оставалось примерно на одном и том же уровне. Процент заболеваемости в 2010 году составил 39,0 % из 1290 обследованных животных, а в 2012 году – 39,6 % из 1289 обследованных животных.

Проведенные исследования по изучению сезонности возникновения мастита на МТФ №2 ООО «Предгорье Кавказа» позволили нам установить, что мастит коров имеет определенный сезонный характер и основные его пики приходятся на март-май и сентябрь-ноябрь.

В эти месяцы было выявлено больных маститом коров от 2,5 % до 4,1 % от общего поголовья фермы. С декабря по февраль этот показатель снижается до 1,3-2,0 %, а с июня по август до 1,2-1,7 % от общего поголовья фермы.

Также заболеваемость коров маститом зависит и от технологии доения коров. Проведенный нами анализ показал, что наименьший процент заболеваемости маститом отмечается при линейном доении коров в молокопровод, а наибольший процент заболеваемости приходится на линейную в бочок. Это зависит от того, что при доении коров в молокопровод коровы разделены на группы и каждая группа коров закреплена за определенными доярками в связи, с чем они уделяют пристальное внимание к каждой корове, как в период лактации, так и в период запуска. При доении коров в бочок нами было замечено, что вследствие высокой нагрузки на операторов машинного доения: вместо двух доильных аппаратов они используют три и четыре, происходит передержка доильных аппаратов, что ведет к раздражению вымени и, как правило, заболеванию коров маститом. Так же в трех хозяйствах были замечены нарушения в преддоильной подготовке вымени к машинному доению. В Учхозе «Кубань» и ОАО «Искра» больные животные доились совместно со здоровыми, что ведет к передаче через доильный аппарат возбудителей мастита от больных животных к здоровым. В ООО «Предгорье Кавказа» больных коров доили только после того как подоили здоровых, что в свою очередь не ведет к передачи возбудителей от больных к здоровым через доильный аппарат.

В результате мониторинга было выявлено 74 коровы с воспалением вымени в период сухостоя и установлено, что 46 животных заболели в первые 15 дней, 17 – на 16-30 день, а 11 животных в оставшиеся

дни сухостоя. При этом у 34 (46%) коров диагностировали клинически выраженный мастит, а у 40 (54%) коров – субклинический мастит (табл. 1).

Таблица 1

Заболевание маститом коров в период сухостоя по дням (n=74)

Заболело клиническим маститом		Заболело суб-клиническим маститом		Заболело маститом в сухостое					
гол.	%	гол.	%	1-15 день		16-30 день		31 день – до отела	
				гол.	%	гол.	%	гол.	%
34	46	40	54	46	62,2	17	23	11	14,8

При анализе данных распространения мастита в Краснодарском крае нами было отмечено, что мастит имеет широкое распространение и является актуальной проблемой.

3.2. Видовой состав микрофлоры молока у коров больных маститом

При микробиологическом исследовании молока от 54 коров больных маститом было выделено 17 видов микроорганизмов и 4 вида грибов, всего 105 изолята. У 50 коров (92,6%) больных маститом выделялась условно-патогенная микрофлора: при посевах молока из пораженных долей вымени на МПА в чашках Петри обнаруживали массовый рост микробных колоний. У 4 (7,4%) животных в секрете пораженных долей вымени, как правило, больных субклиническим и серозным маститом микрофлора не выделялась, воспаление протекало, как асептическое.

В монокультуре микрофлору выделяли у 17 коров (31,5%): *E. coli*; *St. epidermidis*; *C. freundii*; *Sh. dysenteriae*; *St. aureus*; *St. hyicus* spp. *chromogenes*; *Str. agalactiae*; *St. lentus*; *St. intermedius*.

У 33 (61,1%) коров больных маститом микрофлора выделялась в ассоциациях. В исследуемом материале наиболее часто встречались следующие ассоциации бактерий: *St. epidermidis* + *St. aureus* + *Str. agalactiae* + *Str. haemolyticus*; *E. coli* + *Str. agalactiae*; *Str. agalactiae* + *St. epidermidis*; *St. epidermidis* + *St. aureus* + *Str. agalactiae* и другие.

В 3 пробах были выявлены грибы: *Asp.fumigatus*, *Candida rugosa*, *Candida glabrata*, *Candida citreii*.

Гемолитической активностью обладали 63,8% культур, были патогенны для лабораторных животных 77,1% культур.

3.3. Фармакология и применение профмастита

3.3.1. Физико-химические свойства профмастита

В результате анализа соответствующих литературных данных и разносторонних исследований при подборе компонентов и определения их оптимальных доз и соотношения, мы разработали средство для профилактики мастита у коров в сухостое. Которое представляет собой прозрачный гель синего цвета, со специфическим запахом и вкусом спирта, горюч. Водородный показатель 5,8–6,0. После высыхания геля образуется прозрачная пленка голубого цвета.

При изучении стабильности профмастита по методу «ускоренного старения» было установлено, что срок годности препарата профмастит составляет 3 года.

3.3.2. Антимикробная активность профмастита

Антимикробную активность профмастита определяли в сравнительном аспекте с препаратом аналогом ProfilacDryOff (табл. 7). В результате нами установлено, что профмастит задерживает рост микроорганизмов от 14,4 до 16 мм, в то время как ProfilacDryOff не дает зон задержки роста. Таким образом, препарат профмастит обладает хорошим антимикробным действием на основную микрофлору, выделяемую от коров больных маститом.

3.3.3. Изучение токсичности профмастита

Исследование острой токсичности препарата провели в двух сериях опытов на белых мышах и белых крысах.

В первой серии опыта белым мышам препарат вводили перорально в дозах от 0,1 до 0,5мл, белым крысам от 1 до 3мл. Также нами была сформирована контрольная группа мышей и крыс, которым препарат не вводили.

Во второй серии опыта белым мышам и белым крысам препарат вводили подкожно в дозах 0,5-1мл и 5-10мл соответственно. Контрольной группе лабораторных животных препарат не вводили.

В течение последующих 14 дней за животными вели клиническое наблюдение, обращая внимание на общее состояние, аппетит, поведенческие реакции, картину интоксикации, гибель мышей и крыс.

В течение всего периода наблюдений гибели мышей и крыс не наблюдалось, состояние животных было аналогично состоянию животных из контрольной группы.

Для определения хронической токсичности препарата использовались беспородные белые мыши, которым в желудок вводили испы-

туемый препарат в дозе 0,3 мл на 1 введение в течение 7 дней. Крысам препарат вводили в желудок в дозе 2 мл на 1 введение в течение 7 дней. За животными вели пристальное наблюдение, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит. По истечению 7 дней после последнего введения препарата 5 мышей и 3 крысы было подвергнуто эвтаназии и вскрыто, было изучено патологическое состояние внутренних органов. За остальными 5 мышами и 2 крысами продолжали вести наблюдение в течение 3 недель, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит. Мыши и крысы второй группы служили контролем, им препарат не вводили. В течение всего периода наблюдений гибели мышей и крыс не наблюдалось, состояние животных было аналогично состоянию животных из контрольной группы. При патологическом изучении внутренних органов белых мышей и крыс первой группы каких-либо изменений в их структуре не наблюдалось. Расположение внутренних органов было правильным. Просвет трахеи и бронхов свободен. Ткань легких розового цвета. Слизистая оболочка желудка и кишечника серо-розового цвета без изъязвлений и кровоизлияний. Капсула почки легко снималась, мозговое и корковое вещество хорошо различимы на разрезе. В течение всего периода наблюдений изменений в их поведении, общем состоянии и аппетите не наблюдалось, животные вели себя и поедали корм, аналогично животным из второй контрольной группы. Следовательно, разработанное средство по степени воздействия на организм теплокровных животных относится к веществам малоопасным (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76).

3.3.4. Изучение раздражающего действия профмастита

В первой серии опыта раздражающее действие профмастита определяли методом конъюнктивальных проб. Исследование проводили на кроликах и морских свинках, которым на конъюнктиву под верхнее веко правого глаза однократно нанесли одну каплю испытуемого средства (левый глаз служил контролем – 1 каплю стерильного изотонического раствора натрия хлорида). Через 15 минут не отмечали помутнений роговицы, радужная оболочка без видимых изменений, химотоз отсутствует. Через 24-48 часов проводили повторные исследования у животных, не отмечали помутнений роговицы, радужная оболочка без видимых изменений, химотоз отсутствует.

Во второй серии опыта раздражающее действие профмастита определяли методом кожных аппликаций. Исследование проводили на морских свинках и беспородных белых мышах. После 20 кожных аппликаций изучаемого средства положительных реакций кожи (эри-

тема, пузырь, микро везикулы) не выявлено. Толщина кожной складки на месте нанесения препарата не увеличилась от исходного состояния. Таким образом, профмастит не обладает раздражающим воздействием на ткани в зоне его применения.

3.3.5. Изучение пленкообразующей способности профмастита

Пленкообразующую способность профмастита определяли на 15 коровах голштинской породы, находящихся в сухостое. Для этого профмастит наносили на соски вымени в период запуска животных, непосредственно после последней дойки. За животными вели непрерывное наблюдение, после чего установили, что через 5-7 минут на кожи соска вымени и в зоне соскового отверстия образовалась прозрачная голубая пленка. В дальнейшем каждые 5 дней проводилось наблюдение за сосками вымени животных и проверка наличия пленки на сосках коров.

В процессе систематического наблюдения было установлено, что средство профмастит имеет хорошую устойчивость на сосках коров и может обеспечить надежную защиту на протяжении почти всего периода сухостоя, вплоть до отела.

3.3.6. Изучение общей микробной обсеменённости секрета молочной железы и кожи сосков коров после применения профмастита

Общую микробную обсеменённость секрета молочной железы и кожи сосков после применения профмастита изучали на 10 клинически здоровых коровах, находящихся в процессе перевода в сухостой. После последней дойки у животных брали пробы секрета из всех долей, а также смывы с соска вымени для подсчета общей микробной обсеменённости секрета вымени и кожи сосков. Затем наносили профмастит на соски правой половины вымени, соски левой половины вымени не обрабатывали, они служили контролем. Спустя неделю после нанесения средства на соски брали пробы секрета вымени и смывы с сосков для подсчета общей микробной обсеменённости (табл. 2).

Из полученных нами данных видно, что в начале опыта обсеменённость бактериями кожи сосков ($31,2 \pm 0,321$ и $31,2 \pm 0,329$ тыс. бактерий/см²) и секрета вымени ($196,85 \pm 0,708$ и $197,7 \pm 0,901$ тыс. бактерий/мл) правой и левой половины вымени у коров была приблизительно одинаковой. После обработки сосков профмаститом их бактериальная обсеменённость снижалась до $2,9 \pm 0,27$ тыс. бактерий/см², т.е. более чем в 10 раз. А бактериальная обсеменённость секрета вымени снижалась до $130,55 \pm 0,515$ тыс. бактерий/мл, т.е. на 66%.

Таблица 2

Общая микробная обсемененность секрета вымени и кожи сосков коров

Группа	Количество проб	Бактериологическая обсеменённость	
		Секрета вымени (10 ³ бактерий/мл)	Кожи сосков (10 ³ бактерий/см ²)
I опытная (до обработки)	20	196,85±0,708	31,2±0,321
II опытная (после обработки)	20	130,55±0,515*	2,9±0,27*
Контрольная (соски не обрабатывали)	20	197,7±0,901	31,2±0,329

*P < 0,001

3.3.7. Изучение профилактической эффективности профмастита

Для оценки профилактической эффективности средства в период сухостоя у коров провели производственный опыт на 300 животных, которых разделили на 3 равные группы: опытную, положительный контроль и отрицательный контроль по 100 животных в каждой. Коровам опытной группы во время запуска, непосредственно после последнего доения, наносили профмастит, после чего коров определяли в группу сухостоя. Коровам группы положительный контроль наносили ProfilacDryOff, после чего коров определяли в группу сухостоя. Животных группы отрицательный контроль определяли в сухостой без средств фармакопрофилактики. У подопытных животных трех групп на 15-е сутки сухостойного периода и после отела исследовали молочную железу клиническими методами и постановкой тест-реакции на скрытую форму мастита (табл. 3).

В итоге, при использовании профмастита заболеваемость коров маститом снижается до 10% или в 3,4 раза, по сравнению с отрицательным контролем или в 1,6 раза по сравнению с положительным контролем, где использовали средство ProfilacDryOff.

Таблица 3

Профилактическая эффективность профмастита в период сухостоя

Группа	Выявлено заболевших маститом коров							
	На 15-е сутки				За весь период сухостоя			
	Клинический мастит		Субклинический мастит		Клинический мастит		Субклинический мастит	
	К-во	%	К-во	%	К-во	%	К-во	%
Опытная	0	0	4	4	6	6	4	4
Положительный контроль	4	4	4	4	10	10	6	6
Отрицательный контроль	18	18	8	8	24	24	10	10

3.4. Фармакология и применение сангвимаста

3.4.1. Физико-химические свойства сангвимаста

В результате анализа соответствующих литературных данных и разносторонних исследований при подборе компонентов и определения их оптимальных доз и соотношения, мы в соавторстве разработали препарат для лечения мастита у коров, который представляет собой гель от светло-оранжевого до оранжевого цвета, не имеет запаха, не горюч, не пожароопасен. Водородный показатель 6,6-6,8. Активным компонентом разработанного препарата является смесь бисульфатов двух близких по структуре алкалоидов – сангвинарина и хелеритрина.

При изучении стабильности препарата установлено, что срок годности препарата – 3 года.

3.4.2. Антимикробная и антимикозная активность сангвимаста

Антимикробные свойства препарата проверяли методом диффузии в агар с использованием лунок и последовательных серийных разведений в жидкой питательной среде.

Сангвимаст обладает выраженным бактерицидным и бактериостатическим действием с концентрацией действующего вещества 312,5 мкг/мл по отношению к культуре *Staphylococcus epidermidis*, а также с концентрацией действующего вещества 625 мкг/мл по отношению к культуре *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus* и

Escherichiacoli. МБцК для *Klebsiella pneumonia* составила 1250 мкг/мл, а МБсК – 625 мкг/мл.

Чувствительность выявленной микрофлоры в вымени коров к антибактериальным препаратам устанавливали *in vitro* при помощи следующих методов: диффузии в агар с использованием лунок и методом дисков. Анализируя полученные результаты исследований по определению чувствительности условно-патогенной микрофлоры к лекарственным препаратам, устанавливаем, что наиболее активно препятствуют росту микрофлоры такие антибиотики, как цефазолин, ципрофлоксацин, левомецитин, гентамицин; из противомаститных препаратов наиболее эффективными оказались такие как ваккамаст, гамарет и разработанный нами сангвимаст.

3.4.3. Изучение токсичности сангвимаста

В первой серии опыта белым мышам препарат вводили перорально в дозах от 0,1 до 0,5мл, белым крысам от 1 до 3мл. Также нами была сформирована контрольная группа мышей и крыс, которым препарат не вводили.

Во второй серии опыта белым мышам и белым крысам препарат вводили подкожно в дозах 0,5-1мл и 5-10мл соответственно. Контрольной группе лабораторных животных препарат не вводили.

В течение последующих 14 дней за животными вели клиническое наблюдение, обращая внимание на общее состояние, аппетит, поведенческие реакции, картину интоксикации, гибель мышей и крыс.

В результате проведенных исследований установлено, что даже максимально возможная доза введения препарата в течение всего периода наблюдения не вызывала гибели и острой интоксикации у подопытных животных.

Для определения хронической токсичности препарата использовались беспородные белые мыши и белые крысы. Мышам первой группы испытуемый препарат вводили в желудок в дозе 0,3 мл на 1 введение в течение 14 дней. Крысам первой группы испытуемый препарат вводили в желудок в дозе 2 мл на 1 введение в течение 14 дней. За животными вели пристальное наблюдение, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит. По истечению 14 дней после последнего введения препарата 5 мышей и 3 крысы было подвергнуто эвтаназии и вскрыто, было изучено патологическое состояние внутренних органов и взята кровь на гематологическое исследование. За остальными мышами и крысами продолжали вести наблюдение в течение 3 недель, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит. Мыши и крысы

второй группы служили контролем, им препарат не вводили. Условия содержания и кормления были аналогичны с животными первой группы. В течение всего периода наблюдений гибели мышей и крыс не наблюдалось, состояние животных было аналогично состоянию животных из контрольной группы.

При патологическом изучении внутренних органов белых мышей и крыс первой группы каких-либо изменений в их структуре не наблюдалось. Расположение внутренних органов было правильным. Просвет трахеи и бронхов свободен. Ткань легких розового цвета. Слизистая оболочка желудка и кишечника серо-розового цвета без изъязвлений и кровоизлияний. Капсула почки легко снималась, мозговое и корковое вещество хорошо различимы на разрезе.

При анализе гематологических показателей крови крыс установлено, что при применении сангвимаста наблюдается незначительное повышение эритроцитов и гемоглобина. Гематологические показатели крови крыс в опытных группах не превышали физиологических норм. Следовательно, разработанный препарат по степени воздействия на организм теплокровных животных относится к веществам малоопасным (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76).

3.4.4. Изучение раздражающего и сенсибилизирующего действия сангвимаста

В первой серии опыта раздражающего действия сангвимаста определяли методом конъюнктивальных проб. Исследование проводили на кроликах и морских свинках, которым на конъюнктиву под верхнее веко правого глаза однократно нанесли одну каплю испытуемого средства (левый глаз служил контролем – 1 каплю стерильного изотонического раствора натрия хлорида). Через 15 минут и спустя 24-48 часов не отмечали помутнений роговицы, радужная оболочка без видимых изменений, химотоз отсутствует.

Во второй серии опыта раздражающего действия сангвимаста определяли методом кожных аппликаций. Исследование проводили на морских свинках и беспородных белых мышах, которым на протяжении 4 недель 5 раз в неделю изучаемое средство наносили на боковую поверхность туловища. После 20 кожных аппликаций изучаемого средства положительных реакций кожи (эритема, пузырь, микровезикулы) не выявлено. Толщина кожной складки на месте нанесения препарата не увеличилась от исходного состояния.

Изучение сенсибилизирующего действия сангвимаста определяли методом максимального сенсибилизирующего воздействия. Иссле-

дование проводили на морских свинках, которым в выстриженные участки внутрикожно инъецировали по 0,1 мл растворов. Спустя 24, 48 и 72 часа положительных реакций кожи (отек, эритема, пузырь) не выявлено. Таким образом, препарат сангвимаст не обладает раздражающим и сенсибилизирующим воздействием на ткани в зоне его применения.

3.4.5. Влияние сангвимаста на молочную железу коров

Влияние сангвимаста на молочную железу коров осуществлялось на 5 клинически здоровых коровах во вторую фазу лактационного периода. Для этого внутрицистернально в соски правой половины вымени вводили 10 мл препарата сангвимаст, соски левой половины вымени служили контролем, в них вводили 10 мл физиологического раствора. После введения сангвимаста на 3, 6, 9, 12, 24 и 48 часов учитывали состояние вымени, а также брали пробы молока для подсчета количества соматических клеток. В ходе исследований проб молока на соматические клетки, нами отмечено, что в долях, в которые вводили сангвимаст и физиологический раствор, наблюдалось незначительное повышение соматических клеток уже на 3 час после введения. Спустя 48 часов после введения сангвимаста число соматических клеток снижалось до $54,86 \pm 2,347$ тыс./мл и было практически равно контролю, где число соматических клеток составляло $55,7 \pm 2,376$ тыс./мл. То есть за весь промежуток исследований число соматических клеток в опытной и контрольной группе не превышало физиологической нормы. Таким образом, сангвимаст не оказывает раздражающего действие на молочную железу коров, и может быть рекомендован для интрацистернального введения. Оптимальная лечебная доза сангвимаста при маститах коров составляет 10 мл на 1 введение повторное введение через 24 часа, курс лечения 3-4 введения.

3.4.6. Применение сангвимаста для лечения маститов у коров

Опыт по определению терапевтической эффективности сангвимаста проводили в двух повторностях. **В первой серии опыта**, по определению терапевтической эффективности сангвимаста, было задействовано 109 коров с различными формами мастита. Животных разделили на 2 группы, по принципу пар-аналогов, на опытную и контрольную. Опытной группе животных после доения внутрицистернально вводили препарат сангвимаст. Контрольной группе животных после доения внутрицистернально вводили применяемый в хозяйстве препарат Ваккамаст (табл. 4).

Таблица 4

Терапевтическая эффективность сангвимаста в сравнении с антибактериальным препаратом Ваккамаст

Группа	Форма мастита	Пролечено		Срок лечения, дней	Кратность введения препарата	Терапевтическая эффективность, %
		К-во коров	К-во долей			
Опыт	серозный	19	22	1,4	1,4	100
	катаральный	19	21	1,9	1,9	94,7
	гнойно-катаральный	16	20	3,1	3,1	87,5
Контроль	серозный	20	22	2,4	2,4	95
	катаральный	19	22	2,9	2,9	78,9
	гнойно-катаральный	16	19	3,2	3,2	68,7

Таким образом, при лечении серозного мастита у коров сангвимастом терапевтическая эффективность составляла на 5% больше, а кратность введения препарата на 1 введения меньше, чем у Ваккамаста. При лечении катарального мастита у коров сангвимастом терапевтическая эффективность составляла на 15,8% больше, а кратность введения препарата на 1 введения меньше, чем у Ваккамаста. При лечении гнойно-катарального мастита у коров сангвимастом терапевтическая эффективность составляла на 18,8% больше, а кратность введения препарата на 0,1 введения меньше, чем у Ваккамаста. Срок лечения серозного и катарального мастита у коров сангвимастом на 1 день меньше, чем при лечении Ваккамастом. Срок лечения гнойно-катарального мастита у коров сангвимастом на 0,1 день меньше, чем при лечении Ваккамастом.

Во второй серии опыта, опытной группе животных после доения внутрицистернально вводили препарат сангвимаст. Контрольной группе животных после доения внутрицистернально вводили препарат Септогель (табл. 5).

Таблица 5

**Терапевтическая эффективность сангвимаста в сравнении с
Септогелем**

Группа	Форма мастита	Пролечено		Срок лечения, дней	Кратность введения препарата	Терапевтическая эффективность, %
		К-во коров	К-во долей			
Опыт	серозный	20	22	1,4	1,4	100
	катаральный	18	21	2	2	94,4
	гнойно-катаральный	16	21	3,1	3,1	87,5
Контроль	серозный	19	22	2,5	2,2	94,7
	катаральный	19	21	3,1	3,5	89,5
	гнойно-катаральный	15	21	4,1	4,7	73,3

Таким образом, при лечении серозного мастита у коров сангвимастом терапевтическая эффективность составляла на 5,3% больше, а кратность введения препарата на 1,1 введения меньше, чем у Септогеля. При лечении катарального мастита у коров сангвимастом терапевтическая эффективность составляла на 4,9% больше, а кратность введения препарата на 1,1 введения меньше, чем у Септогеля. При лечении гнойно-катарального мастита у коров сангвимастом терапевтическая эффективность составляла на 14,2% больше, а кратность введения препарата на 1 введение меньше, чем у Септогеля. Срок лечения серозного мастита у коров сангвимастом на 0,8 дня меньше, чем при лечении Септогелем. При лечении катарального мастита сангвимастом срок лечения коров на 1,5 дня меньше, чем при лечении Септогелем. Срок лечения гнойно-катарального мастита у коров сангвимастом на 1 день меньше, чем при лечении Септогелем.

Проведенный сравнительный анализ гематологических и биохимических исследований сыворотки крови коров показал, что после лечения гнойно-катарального мастита сангвимастом наблюдалось снижение лейкоцитов на 57%, что на 7,8% больше по сравнению с вак-

камастом и на 22,3% по сравнению с септогелем и снижение палочко-ядерных нейтрофилов на 6%. В сыворотки крови наблюдалось повышение фракций альбуминов на 6,8%, α -глобулинов на 3,9% и β -глобулинов на 5,4% и снижение фракции γ -глобулинов на 10,5%. Т.е. после применения сангвимаста все показатели крови коров приходили в пределы физиологической нормы.

Таким образом, применение препарата сангвимаст при лечении маститов способствует уменьшению сроков лечения животных и ускоряет нормализацию некоторых показателей крови животных.

ВЫВОДЫ

1. Заболеваемость коров маститом в некоторых хозяйствах Краснодарского края, в среднем, составляет 39,3%. Отмечается тенденция увеличения мастита с 39,0% в 2010 г. до 39,6% в 2012 г. Клинически выраженный мастит составляет в среднем 25,7% от общего числа заболевших маститом коров, а на долю субклинического мастита приходится в среднем 74,3%. Соотношение клинически выраженного мастита к субклиническому составляет 1:3. В период лактации мастит проявляется у 49% коров, в период запуска у 17%, а в период сухостоя у 34% животных. В период сухостоя заболеваемость коров маститом приходится на первые 2 недели сухостоя.

2. У коров, больных маститом, из секрета вымени изолировали 17 видов бактерий и 4 вида гриба. В монокультуре микрофлору выделяли у 31,5% коров: *E. coli*; *St. epidermidis*; *C. freundii*; *Sh. dysenteriae*; *St. aureus*; *St. hyicus* spp. *chromogenes*; *Str. agalactiae*; *St. lentus*; *St. intermedius*. У 61,1% коров больных маститом микрофлора выделялась в ассоциациях. Наиболее часто встречались следующие ассоциации бактерий: *St. epidermidis* + *St. aureus* + *Str. agalactiae* + *Str. haemolyticus*; *E. coli* + *Str. agalactiae*; *Str. agalactiae* + *St. epidermidis*; *St. epidermidis* + *St. aureus* + *Str. agalactiae* и другие. А у 7,4% животных в секрете пораженных долей вымени, как правило, больных субклиническим и серозным маститом микрофлора не выделялась. Гемолитической активностью обладали 63,8 % культур, были патогенны для лабораторных животных 77,1% культур.

3. При определении острой и хронической токсичности нами установлено, что предложенный препарат профмастит согласно принятой классификации химических веществ относится к малотоксичным препаратам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), не обладает раздражающим воздействием на ткани в зоне его применения. При нанесении профмастита на соски коров он обеспечивает надежную защиту

соска на протяжении практически всего периода сухостоя, вплоть до отела.

4. При применении профмастита в период сухостоя заболеваемость коров маститом снижается до 10% или в 3,4 раза, по сравнению с отрицательным контролем или в 1,6 раза по сравнению с положительным контролем, где использовали средство ProfilacDryOff. А экономическая эффективность профмастита на рубль затрат составляет 9,3 рубля.

5. При определении острой и хронической токсичности препарата сангвимаст установлено, что он относится к малотоксичным препаратам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), не обладает раздражающим и сенсибилизирующим воздействием на ткани в зоне его применения. При введении сангвимаста в молочную железу здоровой коровы, он оказывает слабо раздражающее действие на молочную железу коров, которое проходит спустя 24 часа после введения препарата, и может быть рекомендован для интрацистернального введения.

6. Наиболее оптимальная терапевтическая доза сангвимаста для лечения мастита у коров – 10 мл на 1 введение повторное введение через 24 часа, курс лечения 3-4 введения. При лечении серозного мастита у коров сангвимастом терапевтическая эффективность составляла 100% при кратности введения препарата 1,4 введения, а экономическая эффективность на рубль затрат при лечении серозного мастита была 13,74 руб. При лечении катарального мастита у коров сангвимастом терапевтическая эффективность составляла 94,5% при кратности введения препарата 2 введения. Экономическая эффективность препарата сангвимаст при лечении катарального мастита на рубль затрат составляла 10,79 руб. При лечении гнойно-катарального мастита у коров сангвимастом терапевтическая эффективность была 87,5% при кратности введения препарата 3,1 введение, а экономическая эффективность на рубль затрат составляла 9,16 руб.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для профилактики мастита в сухостойном периоде, в конце запуска проверять молочную железу на клинический и скрытый мастит. А также в этом периоде после последней дойки коровы обрабатывать соски вымени животного препаратом профмастит, методом погружения соска в пластиковый стаканчик с препаратом.

2. Для лечения мастита у коров использовать новый препарат сангвимаст интрацистернально в дозе 10 мл 3-4 раза с интервалом 24 часа в зависимости от тяжести заболевания.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Решетка М.Б.** Распространение мастита у коров и разработка средства профилактики мастита в период сухостоя / Решетка М.Б. // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2013. – №04(88). – IDA [article ID]: 0881304059. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2013/04/pdf/59.pdf>, 0,938 у.п.л., импакт-фактор РИНЦ=0,577
2. Турченко А.Н., Коба И.С., Новикова Е.Н., Решетка М.Б., Горпинченко Е.А. Пробиотики в акушерско-гинекологической практике ветеринарной медицины // Актуальные проблемы современной ветеринарии: Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию ветеринарной науки Кубани, ч.1 – Краснодар, 2011. – 95-98 с.
3. Решетка М.Б., Турченко А.Н., Коба И.С. Распространение и этиология мастита у коров // Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии и фармации: Материалы меж. Науч.практ. Конф. - Краснодар, 2012. – 113-115 с.
4. **Турченко А.Н., Коба И.С., Новикова Е.Н., Решетка М.Б., Горпинченко Е.А.** Перспектива решения акушерско-гинекологической патологии у коров на промышленной ферме/ Труды Кубанского государственного аграрного университета 1(34), 2012 – 194-196с.
5. Решетка М.Б., Коба И.С. Распространение и профилактика мастита в сухостойном периоде у коров // Современные проблемы ветеринарного акушерства и био-технологии воспроизведения животных: материалы между-нар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию со дня рожд. проф. Д.А. Черемисинова и 50-летию созд. Воронежской школы вет. акушер., 18-19 октября 2012 г., Воронеж, 397-398 с.
6. Коба И.С., Решетка М.Б. Лечение мастита у коров без антибиотиков // Эффективное животноводство №3(89) март 2013 – 22-23 с.