

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Кубанский государственный аграрный
университет имени И.Т. Трубилина»

На правах рукописи



ДЯТЛОВ НИКИТА ВИКТОРОВИЧ

РАЗРАБОТКА ПРОБИОТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ОБРАБОТКИ
СОСКОВ ВЫМЕНИ У КОРОВ

06.02.03 – Ветеринарная фармакология с токсикологией

Диссертация

на соискание учёной степени кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
доктор ветеринарных наук,
доцент Коба И. С.

Краснодар - 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Проблема маститов в молочном животноводстве. Этиопатогенез заболевания	10
1.2 Методы диагностики мастита у коров	22
1.3 Профилактика мастита на молочных фермах	35
1.4 Роль пробиотиков в профилактике мастита у коров	42
Заключение по обзору литературы	48
ГЛАВА 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	50
2.1 Материалы и методы	50
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	61
3.1 Распространение и сезонность возникновения маститов в хозяйствах Краснодарского края	61
3.2 Состав и технология получения средства «Биомастим»	70
3.3 Определение антимикробной активности средства «Биомастим»	76
3.4 Определение острой и субхронической токсичности средства «Биомастим»	80
3.5 Изучение ранозаживляющего действия средства «Биомастим»	88
3.6 Отработка метода нанесения средства на соски вымени коров	90
3.7 Бактериальная обсеменённость сосков вымени и молока до и после применения средства «Биомастим»	92
3.8 Оценка переносимости завышенных доз средства после доения «Биомастим» целевыми видами животных (коровы)	95
3.9 Клинические испытания средства «Биомастим»	97
3.10 Экономическая эффективность средства «Биомастим»	104
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ	107
ВЫВОДЫ	111
ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ	113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	114

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Важной проблемой при формировании молочного животноводства считается увеличение продуктивности коров, а также повышение качества пищевых и санитарно-технологических свойств получаемого молока, что приобретает особую значимость во взаимосвязи Российской Федерации с мировой торговой системой (В.А. Париков, В.Д. Мисайлов, А.Г. Нежданов, 2005).

Экономически-финансовый вопрос в абсолютно всех хозяйствах с активным молочным животноводством представляют собой заболевания вымени у крупного рогатого скота. Заболевания вымени весьма распространены и наносят животноводству крупные потери.

Они вызывают грандиозные убытки в хозяйствах из-за понижения молочной продуктивности, у животных сокращаются сроки хозяйственного использования, а также изменяются в худшую сторону свойства молока. (Л.Д. Демидова, 1997; Л.К. Попов с соавт., 2012; А. Дойтц, 2010).

Согласно данным российских, а также иностранных исследователей, максимальное распространение воспаления вымени у коров проявляется в период запуска, сухостоя, а также после родов (И.И. Архангельский с соавт., 1973; А.П. Береснова, 1976; J.Nogan, с соавт., 2003; В.И. Рубцов, 1979; О.А. Симецкий, 1980; Ю.В. Веллесте, 1980; Н.М. Хилькевич, С.Х. Икаев, 1982; Ю.А. Забелин, 1982; А. L. Al-Ashmony 2016; В.М. Морев, А.П. Береснова, А.Р. Корягина, 1984; Г.В. Зверева, В.Н. Олескив, Д.Е. Капур, 1983; Ю.П. Полянцев, 1981; А.Н. Савостин, 1988; В.А. Париков с соавт., О. Филиппова, А. Смянов, 2000; В.К. Понамарёв, 2002).

Изучением воспалительных процессов вымени в Краснодарском крае также занимались Родин И.А. (1994), А.Л. Буланкин (1996), Трошин А.Н. (1996), Н.И. Крюков (1999), Е.В. Ильинский, М.В. Назаров, А.М. Кавунник, А.Н. Коваль, А.И. Тузов (2002), А.Н. Трошин (2003), Ю.П. Попов (2004).

Еще одна трудность, относящаяся к маститу, – это присутствие в молоке ветеринарных лекарственных препаратов – антибиотиков, гормональных

веществ и др., а также микотоксинов (из испорченных кормов); пестицидов и гербицидов; моющих и дезинфицирующих средств. Их наличие в молоке приводит к формированию у людей аллергии, шоковых реакций, отравлений, а в молочной индустрии – к нарушению производственных процессов при изготовлении молочных продуктов и сыров (А.И. Тузов, 2002).

Важное место в организации ветеринарно-профилактических мероприятий отводится периоду от запуска до родов. В настоящее время ветеринарные специалисты наиболее часто используют эффективный прием профилактики мастита в начале сухостойного периода – введение внутримаститно-препаратов продолжительного срока действия, что является важным этапом для подготовки организма коровы к родам и новой лактации (С.И. Ширяев, 2010).

В настоящее время отсутствует общая точка зрения о дозах, времени и частоте внутривыменного введения антибактериальных препаратов, как с целью лечения, так и в качестве профилактики мастита у коров. (А.А. Архипов 2012; Е. Висьневски, 1979; Э.П. Орловой, 1982; Г.Ф. Коган, А.Н. Семенова, 1982; В.М. Морев, А.П. Береснева, А.Р. Корягина, 1984; Ю.Н. Полянецв, 1985; А.Н. Савостин, 1988; Н.И. Полянецв, 1997; R.J.Farnsworth 1977).

Основываясь на вышеизложенных фактах, отечественные учёные ведут напряжённую работу по созданию новых, высокоэффективных средств для борьбы с маститами (Л.Д. Демидова, 1997; А.А. Архипов, 2008; Е.А. Сидоркин, 2009 и др.). Такие средства должны быть доступны к использованию на животноводческих фермах, комплексах и малых частных хозяйствах. Однако разработанные в Российской Федерации препараты часто уступают по эффективности импортным аналогам.

Резюмируя вышесказанное, мы констатируем тот факт, что разработка современных и более эффективных антимаститных средств, которые будут значительно отличаться по ценовой политике в сторону удешевления от импортных аналогов, является в Российской Федерации актуальной задачей.

Степень разработанности темы. Теоретической базой для научного исследования послужили публикации Забелина Ю.А. (1982), Бовкун Г.Ф., (1998), Крюкова Н.И. (1999), Кузьмич Р.Г. (2002), Багманова М.А. (2003), Данилевской Н.В, Коробова А.В. (2005), Мисайлова В.Д., Нежданова А.Г., Парикова В.А.(2005), Баймишевой Д.Ш. (2007), Грязневой Т. Н. (2008), Батракова А.А. (2010), Барковой А. С., Колчиной А.С. (2012), Климова Н.Т., Першина С.С. (2012), Коренник И. В. (2012) и других авторов.

Следует отметить, что, несмотря на большое количество исследований в области создания различных препаратов, предназначенных для лечения и профилактики мастита у коров, исследователями в основном делается упор на разработку антибиотикосодержащих средств для лечения маститов и мало внимания обращается на профилактику, в частности, на обработку сосков вымени после доения. На сегодняшний день имеется недостаточно препаратов для профилактики мастита, особенно, которые в качестве действующего вещества несут пробиотические культуры штаммов *Bacillus subtilis* и *Enterococcus faecium*. На ветеринарном фармакологическом рынке имеется небольшой арсенал подобных средств, который в основном представлен продукцией импортных производителей.

Цель и задачи исследований. Цель настоящих исследований состояла в разработке нового пробиотического эффективного средства для профилактики мастита у коров путем обработки вымени после доения. Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить степень распространения мастита у коров в хозяйствах Краснодарского края.
2. Разработать новое средство для обработки сосков вымени коров после доения на основе штаммов пробионтов.
3. Определить антибактериальную активность средства.
4. Провести доклинические исследования средства.
5. Провести клинические испытания средства на поголовье крупного рогатого скота в хозяйствах Краснодарского края.

Объект исследований. Здоровые коровы и животные, больные маститом. Мыши, крысы, кролики. Пробиотические культуры штаммов *Bacillus subtilis* – В-5225 и *Enterococcus faecium* СТФ 1/56, а также средство для обработки вымени после доения «Биомастим» и HDUdderStabilizer на основе пробиотических культур.

Предмет исследований. Показатели антимикробной активности пробиотических культур штаммов *Bacillus subtilis* - В-5225 и *Enterococcus faecium* СТФ 1/56, а также средства для обработки вымени после доения «Биомастим» и HDUdderStabilizer на основе пробиотических культур в отношении полевых штаммов микроорганизмов. Гематологические показатели крови здоровых и больных маститом коров.

Токсическое, аллергическое и раздражающее действие средства «Биомастим» на организм лабораторных животных, влияние на регенерацию кожных ран.

Изучение профилактического действия средства «Биомастим» на коровах.

Научная новизна. Основываясь на методологических принципах фармакологии, токсикологии, микробиологии, а также на результатах проведённых клинических испытаний и широкого производственного испытания, нам впервые удалось научно обосновать технологию создания комбинированного средства на основе пробиотических культур штаммов *Bacillus subtilis* – В-5225 и *Enterococcus faecium* СТФ 1/56, предназначенного для профилактики маститов у коров.

Нами предложены и обоснованы методы контроля качества средства. В процессе доклинических и клинических испытаний изучена антимикробная активность, определена оптимальная доза и схема применения, доказана безопасность, высокая профилактическая эффективность новогосредства, предназначенного для профилактики субклинического мастита у коров в сравнительном аспекте с другими аналогичными по действию средствами.

Научная новизна работы подтверждена патентом № 2560277 на «Средство для профилактики мастита у коров в период лактации».

Практическая значимость. В ходе проведённых исследований удалось установить степень и сезонность распространения мастита на молочно-товарных фермах Краснодарского края, расположенных в разных климатических зонах этого региона. Исследованы различные способы профилактики мастита.

Предложено новое средство – «Биомастим», которое рекомендуется для применения в качестве профилактики мастита у коров.

На основании проведенных научно-исследовательских тестов и сличительных испытаний нами предложена производству схема профилактики мастита у коров.

Полученные в работе результаты исследований могут использоваться:

- ветеринарными специалистами личных подсобных хозяйств, крестьянско-фермерских хозяйств, а также другими хозяйствами различных организационно-правовых форм собственности.

- в научно-исследовательской работе в прикладных и фундаментальных отраслях биологии, в ветеринарных научных и научно-образовательных организациях, при написании учебников, учебных пособий, методических рекомендаций и монографий.

Методология и методы исследований. Технология изучения базируется в едином целом на исследовании предметов изучения, точной обработке, рассмотрении и синтезировании установленных результатов. При изучении опытных, а также клинических сведений были применены способы точной статистики с использованием прогрессивных технических средств - персонального компьютера IBM операционной системой «Windows» и пакета программ «Вариативной статистики».

В ходе исследованиянами проводились экспериментальные опыты на лабораторных животных (белые мыши, крысы, кролики), находящихся в vivариифакультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Кубанского ГАУ имени

И.Т. Трубилина, и сельскохозяйственных животных (коровы) хозяйств Краснодарского края.

В проведённых исследованиях мы пользовались методами, принятыми в фармакологии, токсикологии, ветеринарном акушерстве, микробиологии, гематологии, биохимии, патологической анатомии, а также методами, принятыми в статистике.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту. Разработка состава и технология создания нового комплексного средства после доения на основе пробиотических штаммов для профилактики мастита у коров. Методы контроля качества профилактического средства.

Отсутствие токсического, раздражающего, аллергического действия средства.

Показания и эффективность применения разработанного средства для профилактики мастита у коров в условиях производства.

Апробация результатов собственных исследований. Главные утверждения, заключения, а также практические предложения, приведенные в диссертации, отвечают целям и задачам проделанного эксперимента. Лабораторные исследования проводились на современном сертифицированном оборудовании. Достоверность результатов исследований подтверждается их статистической обработкой.

Основные результаты диссертации доложены и обсуждены на международных научно-практических конференциях:

1. 73-я научно-практическая конференция преподавателей по итогам научно-исследовательской работы за 2017 г, Краснодар, март 2018 г.

2. Национальная научно-практическая конференция, посвященная 100-летию факультета ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий «Саратовский форум ветеринарной медицины и продовольственной безопасности РФ», ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова Саратов, 13-14 сентября, 2018.

3. Международная научно-практическая конференция «Современные проблемы и достижения зооветеринарной науки», г. Казань, «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана» 30-31 мая, 2019. Доклад: «Клинические испытания средства «Бимоастим».

4. Премия «IQ года» 27 марта – 6 апреля 2018. Доклад: «Разработка средства для обработки сосков вымени после доения на основе *V. subtilis* и *E. faecium*»

По материалам диссертации опубликовано 8 научных статей, из них 3 в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень ВАК Минобрнауки РФ.

Реализация результатов исследований. Результаты исследований используются в ООО АФ «им. Ильича» Выселковского района Краснодарского края, ООО «Смоленское» Северского района Краснодарского края, ФГУП «Кореновское» Кореновского района Краснодарского края.

Объём и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из 131 страниц текста, разделённого на следующие разделы: введение, обзор литературы, заключение по обзору литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение результатов исследований, выводы и практические предложения, список литературы. Список литературы включает в себя 173 источника, из которых 30 иностранных. Работа иллюстрирована 21 таблицами и 11 рисунками. На пяти страницах представлены приложения.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Проблема маститов в молочном животноводстве. Этиопатогенез заболевания

«Мастит – воспаление молочной железы, развивающееся вследствие воздействия механических, термических и биологических факторов» (А. Батраков, 2012; А.Ф. Голубкина, 2007; М. А. Багманов, 2003). Среди ветеринарных проблем маститу принадлежит особое место, что обусловлено, с одной стороны, массовым охватом поголовья, а с другой - экономическими потерями из-за снижения удоев, ухудшения качества молока, сокращения срока продуктивной жизни коров. Как показывают расчеты, суммарные потери эквивалентны стоимости 10-15% производимой продукции (И.С. Коба с соавт., 2018;).

Мастит является одним из наиболее распространенных заболеваний, причем данная патология проявляется не только в лактационный период, но и в сухостое.

В течение года маститом может переболеть до 68% коров стада, а некоторые животные болеют два и более раз в год.

Из-за этого молоко теряет свои пищевые и товарные свойства, такое молоко уничтожают. Для лечения животных применяются различные лекарственные средства. Все эти факторы приводят к большим экономическим потерям.

Основные причины, вызывающие маститы:

- низкий иммунный статус животного;
- нарушение технологии доения;
- нетехнологический раздой и запуск;
- несвоевременное обслуживание доильного оборудования;
- гинекологические заболевания;
- заболевания конечностей;
- нарушение зоогигиенических требований к содержанию животных;
- некачественное кормление;

– несвоевременная диагностика и лечение.

В отечественной и зарубежной научной среде принято понимать под маститом не только локальный процесс в поражённых тканях вымени, но и общую реакцию организма на этот процесс – такая реакция может проявляться в той или иной степени со стороны каждой системы органов и проявлять такие клинические признаки, как повышение температуры тела, отказ от корма, учащённое дыхание и сердцебиение и так далее. Комплексный, местный и общий патологический процесс, возникающий в молочной железе, является определенной реакцией организма, которая проявляется в ответ на воздействие болезнетворных факторов. Как известно, маститы разделяют по проявлению на клинически выраженный, скрытый (субклинический); по виду воспаления – на серозный, катаральный, фибринозный, гнойный, геморрагический; по течению болезни – на острый (до 10 дней), подострый (до 3 недель), хронический (свыше 3 недель).

«Дифференцируют маститы на основе клинических признаков, изменений тканей, общей реакции организма животного, изменения качества и количества молока» (В.А. Париков с соавт., 2005).

«Классификация по характеру воспаления позволяет сравнительно легко дифференцировать маститы, так как для каждого из них характерны определенные клинические признаки, которые сопровождаются нарушением трофики тканей. Расстройство трофики тканей определяется степенью нарушения тонуса и проницаемости кровеносных сосудов, от которых, в конечном счете, зависит характер экссудации и самого воспаления» (В.А. Париков с соавт., 2005; Л.Г. Войтенко с соавт., 2014).

«Возникающие в молочной железе воспалительные процессы не являются стабильными, протекающими строго по определенной схеме. Они могут легко переходить из одной формы в другую и принимать смешанный характер. Например, серозный мастит при переохлаждении молочной железы или под влиянием других причин может перейти в серозно-катаральный, серозно-фибринозный или флегмону, а катаральный мастит часто является начальной

стадией гнойно-катарального и т.д.» (Н.Т. Климов, 2012; А.Г. Шехватов, 2007; Л.А. Черепихина, 2007).

«К воспалению молочной железы весьма часто приводит несоблюдение условий гигиены, несбалансированное кормление коров, отсутствие моциона, плохое санитарное состояние сосковой резины, несоблюдение вакуумного режима доения» (А.П. Студенцов, 1952; А.И. Ильина, А.А. Поспелов, 1968; В.А. Париков, 1968; Д.Д. Логвинов, Т.А. Чумакова, 1971; В.И. Мутовин, 1974; О.А. Симецкий, 1979; В.П. Гончаров с соавт., 1980; В.М. Воскобойников, 1981; В.Г. Васильев, 1996; W. Tompson et al., 1972; Y.Schukken, 1988).

Как отмечает К. Баязитова с соавт. (2010), патологические процессы, которые возникают в молочной железе коров, во многом зависят от состояния макроорганизма, а также от характера и причины, которая вызвала мастит. Не следует также забывать и о предрасполагающих факторах – условий содержания и кормления.

Одним из таких факторов является качество кормления. На фоне несбалансированности кормов, а также их низкой питательности, у животных происходит снижение иммунитета, что в последствие вызывает целый ряд различных заболеваний, в том числе и мастит. Немаловажный фактор – отрицательный энергетический баланс (дефицит энергии). Проведенными исследованиями было доказано, что у коров с низким энергетическим балансом превалирует риск заболеваемости маститом после отела.

Также отмечено, что на заболеваемость маститом влияет и физиологическое состояние: возраст, лактационный период, число лактаций и т.п. Немаловажную роль в патогенезе заболеваемости коров маститом играет и общее состояние организма, а в частности при ослабленном иммунитете риск заболеваемости увеличивается.

В.И. Доровских (1996) в своих исследованиях, проводимых в Томбовской области, отмечает, что на заболеваемость коров маститом влияют не только санитарное состояние ферм и физиологическое состояние животных, но и вакуумный режим доильных установок, используемых на ферме. По

данным В.И. Доровских «только для 9% коров применяемый режим вакуума соответствует нормам и физиологическим показателям молокоотдачи, а 90% коров доится в режиме избыточного вакуума».

Подобные изменения режима вакуума приводит к уменьшению на 25 % молока от годового удоя и возрастанию заболеваемости маститом до 30 % коров стада.

По наблюдениям А.Я. Батракова, В.В. Токарева, А.Р. Костякова (2009), «основными причинами заболевания молочной железы у коров в Кингисеппском районе Ленинградской области являлись нарушения технологии машинного доения. Начиная с режима доения, подготовки и массажа вымени, правильного одевания доильных стаканов на соски вымени, поддержания надлежащего вакуума и частоты пульсации доильных аппаратов, и заканчивая своевременным, правильным снятием доильных аппаратов после окончания доения».

Одной из частых причин заболеваемости коров маститом является сосковая резина плохого качества. Как известно, сосковая резина имеет свойство изнашиваться. На ней появляются трещины, она вытягивается, приобретает шершавую поверхность, теряет эластичность. При этом в трещины попадает молоко, которое является прекрасной средой для развития условно-патогенной микрофлоры.

В связи с этим ещё в семидесятых-восемидесятых годах прошлого века различными учеными, а в частности З.М. Желоватых (1977), рекомендовалось менять резину в стаканах аппаратов один раз в три месяца.

Также З.М. Желоватых (1977) в своих исследованиях отмечал, что «уже спустя четыре месяца бактериологическая обсеменённость каждого квадратного сантиметра площади сосковой резины может возрасти до 13 раз». Также рекомендуется при укомплектовании доильного оборудования подбирать сосковую резину одной жесткости, а разница удлинения не должна превышать 5 мм (И.Н. Краснов, С.Г. Красниченко, 1976).

Следует отметить, что в заболеваемости маститом у коров немаловажную роль играет также плохая подготовка животного к доению, которая заключается не только в очистке вымени от грязи и обмывании его, но и использовании массажа вымени. Последний стимулирует рефлекс молокоотдачи. Также следует помнить и о сдаивании первых струек молока. Проведение подобной процедуры необходимо не только из-за наличия в них высокой бактериальной загрязненности, но и для раскрытия сфинктера соскового канала, а также для визуализации секрета и диагностики молока на наличие клинического мастита.

Многие авторы отмечают, что при некачественном и неумелом массаже у животных происходит задержка молока, что связано с рефлексом молокоотдачи. Подобные неполноценные рефлексывы молокоотдачи далее вызывают неполноценное выдаивание, что в впоследствии приводит к развитию микрофлоры и возникновению мастита у этих животных.

«Кроме того, не выдоенное молоко препятствует образованию новых порций молока, что в итоге способствует снижению молочной продуктивности и преждевременному запуску или самозапуску коровы» (Решетка М.Б., 2013).

Проведенными исследованиями российских и зарубежных ученых доказано, что, если не проводить сдаивание перед доением, то микрофлора, которая находится в канале соска во время доения, попадает в молоко, находящееся в молочном танке, что в последствие снижает его сортность. Также из-за обратного тока молока, которое связано с проблемами вакуума, происходит раздражение рецепторов вымени, что впоследствии приводит к заболеваемости коров маститом.

«Удаление молока из соскового канала приводит к рефлекторному расслаблению кольцевого сфинктера, что обеспечивает легкое выдаивание последующих порций молока» (В.И. Слободяник, В.А. Париков и др., 2009).

Проводя анализ работ Э.П. Кокориной с соавт. (1984), мы отметили то, что автор концентрирует свое внимание на подготовке вымени к доению, в

частности на процедуре обмывания, сдаивания первых струек молока, причем автор отмечает, что при подобной подготовке животного к доению 10-15 секунд не достаточно. Если обслуживающий персонал проводит данную процедуру, то есть массаж вымени в течение минуты, то повышается не только интенсивность доения до 40%, но и удой до 23%, а также количество молочного жира до 32 %. Следует отметить, что автор в своих работах рекомендует проводить подобную подготовку вымени к доению особенно качественно у первотелок, что связано с физиологическим состоянием животных. Формирование молочной железы у таких животных еще не закончено и продолжается (на протяжении месяца) формирование и увеличение железистой ткани вымени.

Э.П. Кокориной на 40 животных был поставлен производственный опыт, в котором она доказала, что, если неправильно подготавливать перед доением вымя коровы (преддоильная подготовка – 10-15 секунд), то у этих животных молочная продуктивность на протяжении всей лактации будет ниже на 27%. А если проводить тщательный массаж вымени в течение 1 минуты, то у коров повышается удой за первые 3 месяца на 17,9%, а за вторые 3 месяца на 30,7% и за последние 3 месяца – на 67,1% . Данными исследованиями было подтверждено, что минутная стимуляция молочной железы перед доением не только поддерживает, но и увеличивает секреторную активность железы и животные не уходят в самозапуск.

Следует отметить, что воспалительные процессы в молочной железе связаны не только с технологией доения, но также могут быть вызваны различными факторами, а в частности травмами, ушибами и т.п. Как известно, при травмировании мягких тканей происходят капиллярные кровотечения, в результате чего нарушается трофика тканей и их питание. В результате, к этому процессу присовокупляется различная имеющаяся в молочной железе микрофлора, а капиллярная кровь является хорошей питательной средой, в связи с чем развивается более тяжелый воспалительный процесс. Также доказано, что при травмах молочной железы происходит нарушение нервной про-

водимости, что в дальнейшем приводит к нарушениям кровообращения. Также следует отметить, что рваные раны очень плохо заживают, чаще всего под струпом, где и размножается огромное количество патогенных микроорганизмов.

При анализе работ А.И. Ивашуры (1972, 1991), А.И. Ильиной, А.И. Поспелова (1968), В.А. Парикова (1968), И.И. Балкового (1967), Н.К. Оксамитного (1988), И.М. Беякова (1978), В.М. Воскобойникова (1981), В.М. Карташовой (1980), А.П. Студенцова с соавт. (1986), В.И. Родионова (1985), И.А. Родина с соавт. (2001) и других авторов, нами был проанализирован материал, в котором отмечается, что травмирование молочной железы на молочных комплексах встречается в высоком проценте, что в дальнейшем приводит к маститам. Особенно часто данное заболевание проявляется в подобном обстоятельстве при неудовлетворительной санитарной гигиене, что в начале проявляется в виде образования трещин на сосках и как следствие микротравмы, а в дальнейшем происходит инфицирование в связи с неудовлетворительным санитарным состоянием ферм и отсутствием подстилки. Патогенные микроорганизмы проникают через поврежденные кожные покровы и способствуют образованию мастита.

Немаловажный фактор, на который указывают исследователи, – загрязненная подстилка, грязная ветошь, применяемая для обмывания вымени – все это является косвенным фактором, способствующим проникновению микрофлоры через сосковый канал.

Однако следует отметить, что основной причиной заболеваемости коров маститом являются холодные помещения, сквозняки, отсутствие подстилки и влажные полы – Нежданов А.Г., Слободяник В.И., Ходаков А.В., (1996).

В.П. Гончаров, В.А. Карпов, И.Л. Якимчук (1980) своими исследованиями доказали, что форма сосков вымени имеет прямую корреляцию с заболеваемостью маститами коров при машинном доении. Животные, у которых регистрировали отвислую, ступенчатую форму вымени либо козье вымя –

браковали, т.к. они не пригодны для использования в технологическом процессе, а в частности при машинной дойке. Авторы также отмечали, что проявлению маститов способствуют дефекты сфинктера и верхушки сосков. В своих трудах они отмечают, что животные, имеющие соски с кратерными и тарельчатыми верхушками, подвержены заболеванию наиболее часто по сравнению с животными, у которых соски имеют форму конуса или закругленную форму. Одним из важных факторов предрасположенности к заболеванию коров маститом считается слабость мышцы сжимателя соскового канала, ее переразвитость и т.п. При слабости мышцы сжимателя соскового канала наиболее часто происходит заражение молочной железы, а если у животного тугодойность, то не выдаивается полностью молоко, что также приводит к заболеванию.

Исследователями отмечаются различные формы мастита, которые связаны с различными причинами и регистрируются в разных сочетаниях. Одно из ведущих мест, в качестве причины, занимает условно-патогенная микрофлора. Мастит вызывают различные микроорганизмы диплококки, синегнойная палочка, стафилококки, стрептококки.

Как уже отмечалось, проникновение микроорганизмов в молочную железу происходит различными путями: через сфинктер соскового канала, лимфогенным и гематогенным путем при наличии воспалительного процесса в матке и других органах (R. Mukherjee, G.C. Ram, P.K. Dash, 2004).

Микроорганизмы, вызывающие мастит, обитают в различных средах (навоз, подстилка, кожа животного и т.д.).

Некоторым авторам свойственно разделять этиологию маститов, основываясь на морфологических признаках колоний – согласно подобной классификации, маститы могут быть стафилококковыми, стрептококковыми и так далее. Однако с подобным подходом многие ученые не согласны, т.к. эти этиологические факторы не обладают постоянными свойствами. В частности, штаммы одного возбудителя могут иметь разную вирулентность. В связи с этим, одна и та же доза возбудителя может вызвать мастит, а может и не вы-

звать развитие заболевания. При этом воспалительный процесс может отличаться по характеру течения. Следует также отметить не только различный характер течения, но и формы воспаления вымени. В качестве примера Е.В. Ильинский приводил различные виды микроорганизмов, которые в первом случае вызывают серозный мастит, а во втором катаральный или фибринозный (Е. В. Ильинский с соавт., 2001).

В.А. Париков, В.Д. Мисайлов, А.Г. Нежданов полагают (2005), что заражение молочной железы наиболее часто происходит галактогенным путем. И это происходит в основном в течение первых двух часов после доения, что ученые связывают с открытым сосковым каналом и сниженной локальной защитой. Также в работах этих ученых прослеживается характерная мысль о менее редком заражении коров лимфогенным или гематогенным путем.

По данным А.Б. Лопырина (2000), микрофлора в молочной железе может встречаться как в монокультурах, так и в ассоциациях, и в 96,4% автор изолировал стафилококки и стрептококки в различных вариациях.

С.В. Шабунин, Н.П. Мещеряков, В.А. Париков, В.Д. Мисайлов (2005) провели исследования на животных, больных маститом, и выявили, что наиболее часто у этих животных выделяются золотистый и эпидермальный стафилококк, а также стрептококк агалактический и дисагалактический, реже констатировали изоляцию коринобактерий и эшерихий.

Ряд авторов в различные годы проявляли интерес к проблеме выделения микроскопических грибов и микоплазм при воспалении вымени у коров. Однако следует отметить, что животные, имеющие воспаление вымени, вызванное данными патогенами, очень плохо поддаются лечению, и большинство антимикробных препаратов являются не эффективными (В.Г. Гавриш и др., 2001; I. Osterlundh, H. Hoist, U. Magnusson, 2001; K. Kaneko, N. Uchida, S. Kawakami, 2004; E. Malinowski, H. Lassa, A. Klossowska, 2006).

Е.Ю. Смертина (2005) своими исследованиями доказывает идентичность микрофлоры, выделенной из маточной слизи коров, больных эндомет-

ритом, и микрофлоры молока у коров с воспалением молочной железы. Исследователь в обоих случаях выделял у 26,5% коров *Staph. aureus* и *E. coli*.

Как известно, мастит может протекать как в выраженной клинической форме, так и в скрытой, в связи с этим его делят на выраженную форму и форму без клинических признаков. В.А. Париков, В.Д. Мисайлов, А.Г. Нежданов (2005) в своих работах отмечают, что скрытое воспаление вымени является основной формой мастита, которое поражает дольки альвеол и паренхиму молочной железы и проявляется в виде катарального или серозно-катарального воспаления.

В.А. Париков, Н.Т. Климов, Н.В. Притыкин, В.И. Михалёв, В.М. Грязнов, А.Я. Петров, Д.М. Пониткин (2005) отмечают, что при скрытом мастите при пальпации поражённой доли, паренхима пальпируется как упругая дольчатая ткань, как и здоровая доля вымени. Однако гистологические исследования указывают на наличие патологических изменений в альвеолах и дольках вымени.

Н.Ф. Курило, Н.Т. Климов (2006), анализируя свои исследования, делают вывод, что у коров со скрытым воспалением вымени в 50% случаев мастит развивается асептически, а бактериальная микрофлора выделяется в только у 50,5% животных.

Исследованиями А. Колчиной, А. Батраковой (2012) подтверждается определенная взаимосвязь в строении вымени и заболеваемости коров маститом. При этом исследователи прослеживают определенные концептуальные критерии: форма кератиновых бляшек на концах сосков, количество кератина в каналах сосков, диаметр канала соска.

Учеными разных стран (Е. Malinowski с соавт., 2006; J. Bystron с соавт., 2001; В.Г. Васильев, 1998) проводились многосторонние исследования и было установлено, что на развитие воспаления вымени в большей степени влияет наличие и количество воскоподобного вещества – кератина, которое является биологическим барьером для проникновения патогенной микрофлоры в вымя извне. Однако во время дойки до 40% этого воскоподобного веще-

ства вымывается вместе с клетками и погибшими бактериями. В дальнейшем происходит восстановление кератина, которое позволяет защищать эпителий соскового канала. В итоге, авторы резюмируют, что при нехватке (недостатке) кератина условно-патогенная микрофлора проникает вглубь молочной железы, не встречая на своем пути биологического барьера и вызывает воспаление тканей.

Но теми же учеными установлено, что избыточное содержание данного воскоподобного вещества, также является нежелательным фактором, который негативно влияет на качество молока. Подобные изменения (избыточное количество кератина) могут происходить при его высокой выработке организмом или при доении, если он не удаляется, что связывают с отсутствием пульсации во время автоматической дойки. Такой «остаточный» или «отработанный» кератин является хорошей питательной средой для микроорганизмов.

Не следует забывать и о том, что образованию кератиновых бляшек (по сути это гиперкератоз эпидермиса сосков), мы обязаны чрезмерной выработке кератина организмом животного.

Ученые утверждают, что концевые бляшки - это огрубевшая кожа в виде кольца. Причем форма этих колец может быть разнообразной. Это зависит от длины сосков, количества удоя, времени (периода) лактации. Наиболее приемлемая форма кератиновых бляшек, которая не приводит к развитию мастита - с ровными и тонкими кольцами. Если подобные кольца отсутствуют или животные имеют неровные контуры этих колец, то такие животные более подвержены заболеванию. Объясняется это тем, что контур кольца (бляшки) не дает проникнуть патогенной микрофлоре в сосковый канал, закрывая его просвет. Если у животного отсутствуют на сосках подобные бляшки, то закрытие соскового канала происходит очень медленно и патогенная микрофлора может проникнуть вглубь вымени и вызвать поражение. При наличии у животного колец неправильной формы отмечаются шероховатости, на кото-

рых задерживается микрофлора и даже во время обмывания вымени не всегда удается её удалить. Далее такие животные заболевают маститом.

Исследованиями ученых, которые проводились в последние 5-7 лет, доказано, что во время машинной дойки у животных на физиологическом уровне происходит прилив крови к соску, что в дальнейшем приводит к раскрытию соскового канала, сосок увеличивается в размерах. И в этом случае немаловажным фактором при заболеваемости маститом является диаметр соскового канала. После окончания доения в открытый сосковый канал могут проникать различные условно-патогенные микроорганизмы вызывая в дальнейшем у животных воспаление вымени. В связи с этим чем быстрее закрывается сосковый канал после доения, тем ниже риск возникновения мастита.

Однако нужно учитывать и тот факт, что уровень настройки доильной системы также влияет на удои коровы, форму кератиновых колец и изменение диаметра канала соска.

Не стоит забывать и о физиологических особенностях животного, которыми заложены генетически все вышеописанные признаки (форма бляшек и степень раскрытия канала соска), хотя факторы содержания и доения также влияют на проявление этих качеств (Е.В. Ильинский, С.В. Синилов, 2005).

Многие авторы с сожалением отмечают, что в последние десятилетия проблема маститов крупного рогатого скота лишь только увеличивается в масштабах. Виной тому, с одной стороны, служит ухудшение экологических условий, которое, в свою очередь, нередко влечёт за собой снижение уровня иммунитета животных. С другой стороны, бесконтрольное применение химиотерапевтических средств способствует появлению всё новых штаммов микрофлоры, устойчивой к антибиотикам и антисептикам, что усложняет как лечение, так и профилактику маститов на молочно-товарных фермах (Е.В. Ильинский, 2001; Е. Висьневски, 1979).

В.А. Париков с соавт, 2005; J. R. Wenz с соавт. (2001) в своих исследованиях также подтверждают, что заражение молочной железы может происходить через молочный канал после окончания дойки в течение нескольких

часов (галактоненно). Это именно то время, когда сосковый канал остается открытым, а местный иммунитет остается сниженным. В связи с этим, ученые рекомендуют профилактировать заболеваемость коров маститом, используя средства, направленные на снижение количеств условно-патогенной микрофлоры на сосках вымени, перед началом доения и после него (В.А. Париков с соавт, 2005; J. R. Wenz с соавт., 2001).

Общая проблема усложняется и тем, что при многолетней и не всегда оправданной антибиотико-химиотерапии воспаления молочной железы животных, в последнее время усилился адаптивный потенциал патогенов мастита, что выражается и в проявлении их устойчивости к антимикробным препаратам, широко используемым в ветеринарной лечебной практике. В связи с этим возникла необходимость изыскания новых препаратов и средств для профилактики и лечения животных, а так же проведения дезинфекции вымени, молочного оборудования и животноводческих помещений (Н.И. Крюков, 1999; Н.В. Василенко, 2014; W.Wawron, 2001).

1.2 Методы диагностики мастита у коров

Как известно, для постановки диагноза – воспаление молочной железы (мастит) требуется комплексный подход. Обращают внимание на причинно-следственный фактор, характер течения заболевания, проводят комплексный осмотр животного со сбором анамнестических данных.

Анализируя свойства молока, получаемого от животных, больных субклинической формой мастита, отмечают снижение количества сухого вещества, казеина, лактозы, кальция. При этом исследователи отмечают повышение соматических клеток и сывороточных белков. Все эти показатели неблагоприятно влияют на качественные и физико-химические показатели молока.

Современная ветеринарная наука уделяет большое внимание верификации субклинических изменений, которые обуславливают начальную стадию инфицированности альвеол, но при этом еще не вызывают органолептических

изменений, однако такие же процессы могут проходить и в прогрессирующей стадии.

Применение экспресс-диагностики для постановки реакции на субклинический мастит облегчает и ускоряет возможность диагностики данного заболевания ветеринарными специалистами в производстве. Но следует отметить, что подобные тесты часто показывают ложноположительную реакцию. Подобные реакции происходят из-за изменения физиологического состояния животных и нарушения в кормовой базе. В качестве примера: при экспресс-диагностике калифорнийским тестом у коров в стадии возбуждения полового цикла реакция на мастит в 90% случаев положительная.

Следует также отметить, что для производства сыров одним из важнейших факторов, определяющих пригодность молока, является сычужная свертываемость. При повышении кислотности молока, плотность сычужного сгустка выше, это происходит за счет более быстрого протекания реакции и активности сычужного фермента. Следует также отметить, что немаловажный фактор - количество казеина в молоке. От этого зависит плотность сгустка и скорость его образования.

Если молоко инфицировано различными условно-патогенными микроорганизмами, то они проникают в паренхиму и альвеолы, выделяют различные продукты жизнедеятельности, которые понижают способность клеток паренхимы вымени синтезировать казеин, лактозу и молочный жир. На фоне этого организму приходится поддерживать осмотическое давление непосредственно в очаге поражения, в связи с чем через стенку кровеносных сосудов ионы крови поступают в молочный секрет.

Подводя итог вышесказанному, происходят изменения молока (на фоне субклинического мастита), которые приводят к невозможности выработки или ухудшению качества получаемой молочной продукции.

Ветеринарным специалистам ферм рекомендуется в обязательном порядке проводить диагностику коров на наличие у них скрытого мастита. Отсутствие должной диагностики может привести к массовым заболеваниям ко-

ров данной патологией и в конечном итоге повлиять не только на продуктивность хозяйства, но и на прибыль.

Проводя ежедекадную экспресс-диагностику скрытых маститов на ферме, ветеринарные специалисты не только могут диагностировать данное заболевание и проводить лечебно-профилактические мероприятия, но и прогнозировать новые случаи заболевания коров маститом.

К.К. Горбатова (2004) указывает, что использование микробиологических методов для установления тождественности молока коров, имеющих скрытое воспаление вымени, экономически не выгодно из-за дороговизны и длительности анализа. В этой связи К.К.Горбатова рекомендует использовать дополнительные физико-химические экспресс-методы, на основании которых возможно обнаружить изменения химических свойств молока.

Г.Н. Кузьмин, 1999; М.А. Багманов (2012) рекомендуют при постановке диагноза на скрытый мастит первоначально определить причину заболевания, а также установить время проявления первых клинических признаков. Для этого необходимо провести мониторинг качества кормления и содержания животных. Проанализировать качество проведения доения животных и определить сопутствующие заболевания.

После проведения мониторинга анамнестических данных, следует приступить к основному методу - клиническому обследованию животных, который включает в себя определение габитуса и непосредственно диагностику мастита, определение формы течения заболевания.

В своих работах А.Ф. Колчина (2002), А.С. Баркова (2014) представляют детальный и развернутый план проведения клинического осмотра животных для диагностирования мастита. Первоначально они предлагают провести осмотр и пальпацию, в дальнейшем пробное доение и исследование молока.

Также необходимо проведение термометрии - измерение местной температуры пораженной доли вымени. Это возможно делать как тыльной стороной ладони, так и при помощи инфракрасных бесконтактных термометров.

Авторы уточняют, что у животных обычно задние четверти теплее передних, поэтому с ними проводить сравнение нельзя.

Немаловажный этап – осмотр вымени: следует обратить внимание на целостность кожных покровов, пропорциональность развития вымени, цвет, состояние видимых кровеносных и лимфатических сосудов (А.А. Архипов, 2008; Л.Г. Войтенко, 2014).

Обязательно при клиническом осмотре животных обращают внимание на состояние надвыменных лимфатических узлов.

Основные клинические признаки мастита любой формы – местное повышение температуры тела, болезненность вымени, иногда угнетение и отказ от корма или снижение аппетита. Также отмечается увеличение и болезненность лимфоузлов, их неподвижность. При проведении исследования продуктивности каждой доли вымени отмечают степень гипогалактии и симметричность четвертей.

А.С. Баркова (2014), Э.К. Рахиматуллин (2017) в своих исследованиях отмечают, что у животных, больных маститом, происходит снижение выработки молока в больной доле на 80-95 %, а иногда удои составляет несколько миллилитров, однако из других долей удои молока составляют до 1000 мл.

Данные клинические признаки указывают на наличие воспалительного процесса в пораженной доле вымени, а также в наиболее частых случаях свидетельствуют о уже прошедшем заболевании и представляют следствие данной болезни.

Также следует, что часто ветеринарные специалисты прибегают при постановке диагноза к лабораторным исследованиям секрета вымени и определению тургора кожи молочной железы после полного выдаивания молока из всех долей вымени и сравнении данного показателя со здоровыми долями.

Как уже говорилось выше, немаловажным диагностическим фактором является лабораторная диагностика, которой большинство исследователей отдают ведущее место в постановке данного диагноза. При этом определяется не только физико-химический состав молока, но проводится определение

возбудителя, вызвавшего данную патологию, и определение чувствительности его к антибактериальным препаратам.

Основываясь на полученных лабораторных данных, ветеринарные специалисты устанавливают окончательный диагноз и разрабатывают определенный план лечения данного заболевания (И.П. Кондрахин, 1983).

Ни для кого не является секретом, что ежедневная преддоильная обработка вымени и сдаивания первых струек молока является лучшей диагностикой клинического мастита (А.С. Баркова, 2014; Э.К. Рахиматуллин, 2017).

Однако следует отметить, что диагностировать субклиническую форму мастита более сложно, и данная диагностика основана на лабораторных методах, либо применении экспресс-тестов.

На сегодняшний день имеется много различных методик для проведения подобных тестов. Но одним из основных моментов является регулярность их проведения – не реже одного раза в месяц, а также при запуске животных (за 10 дней) и на 10 день после родов. Также обязательным правилом считается проведение контрольной диагностики после проведенного курса лечения. Следует проводить плановую диагностику коров на скрытый мастит, если в сборном молоке определяют повышенное количество соматических клеток.

Согласно правилам проведения диагностики коров на скрытый мастит, после сдаивания из каждой четверти вымени первых струек, в лунку диагностической пластины вносят около 1 мл молока и в дальнейшем добавляют диагностикум Альфа – теста также в дозе 1 мл. Аккуратно перемешивают стеклянной палочкой, круговыми движениями. При наличии сгустка или тяжелой реакция считается положительной.

Одной из наиболее точных и результативных диагностических проб на скрытый мастит считается проба отстаивания. Для проведения данной пробы используют лабораторную пробирку, в которую наливают до 15 мл молока и отстаивают его при температуре $+3$ – $+5^{\circ}$ С в течение 18 часов. По истечении времени экспозиции при хорошем освещении учитывают показатели молока.

У положительно реагирующих животных отмечают образование осадка в пробирке, возможно молоко станет водянистым, а сливки слизистыми.

Отрицательная реакция проявляется изменением цвета молока в сторону фиолетового спектра и образованием сгустка.

При получении положительного результата животное подвергается лечению, а молоко выбраковывается. После окончания лечения тесты повторяют выше описанными методами («Рекомендации по борьбе с маститом коров», М., 1983).

Согласно «Рекомендациям по борьбе с маститом коров», если животное положительно реагирует на экспресс-тест, рекомендуется проведение дополнительных бактериологических исследований. Для этого стерильно отбирают пробы молока и доставляют в лабораторию, где проводят посеvy полученного материала на питательные среды и выделенные микроорганизмы дифференцируют, а также исследуют их на чувствительность к антимикробным препаратам.

Следует отметить, что наиболее результативным методом все же считается метод лабораторной диагностики, связанный с определением патогенов.

Н.Н. Хазипов, Б.В. Камалов, И.Р. Закиров (2012) рекомендуют в сухостойный период коров обследовать на мастит дважды: первый раз на 14-21 день после родов, и вторично – за две недели до родов. При этом авторы рекомендуют не только обращать внимание на клинические признаки и факторы изменения вымени, но и непременно проводить пробное сдаивание. Авторы отмечают, что у здоровых коров в первые 20-30 дней сухостойного периода секрета много, он жидкий, серовато-белого цвета, без хлопьев. Во второй половине – мало (3-5 мл), он вязкий, тягучий, клейкий (медообразный), желто-коричневого цвета (редко бывает серо-белым), иногда секрет выдоить не удается. При воспалении молочной железы секрета много, он жидкий, с хлопьями или примесью гноя (экссудат).

Ещё одним распространённым методом лабораторной диагностики мастита является проба Торнсдорфа – суть её заключается в центрифугировании

отобранных проб молока. Если в пробе содержится большое количество лейкоцитов, то после центрифугирования они выпадут в осадок, по факту образования которого регистрируют положительный результат пробы Тормсдорфа.

При изучении механизма пробы Уайтсайда А. Александровская отмечала (1987), что её результат зависит не только от количества лейкоцитов, но и от содержания жира и солей кальция в исследуемом молоке. Суть этой пробы заключается в осаждении лейкоцитов 4%-ным раствором NaOH. В.К. Копытин (1999) отмечает, что секрет вымени от коров, страдающих клиническими формами маститов, в подавляющем большинстве случаев имеет щелочную реакцию среды, что делает возможным использование в диагностике маститов анализ показателя активной кислотности (pH).

А.Ф. Колчина (2008) и Д.Д. Логвинов (1971), анализируя методику каталазной пробы, пришли к выводу, что эта проба достаточно сложна для проведения в условиях животноводческого комплекса, и во многих случаях показывает ложноположительный результат, поэтому в производственных условиях каталазная проба малоприменима. Иногда прибегают к Фельген-пробе на ДНК: суть этого исследования заключается в прибавлении двойного объема реактива Шиффа к разбавленному двухнормальным раствором соляной кислоты молоку в соотношении 1:1. Смесь молока и двухнормального раствора соляной кислоты предварительно термостатируют при 60 градусах Цельсия в течение 24 минут. Положительный результат пробы регистрируют по появлению сиреневого окрашивания.

Еще в 60-70 годах прошлого века в СССР были разработаны диагностические тесты, благодаря которым ветеринарные специалисты выявляли скрытую форму мастита у коров. К таким тестам относились димастин и мастидин (Р.Г. Кузьмич, 2002).

Молочно-контрольная пластинка (МКП-1) имеет четыре (по числу четвертей) полушаровые луночки с черно-белым окрашиванием и кольцевыми углублениями, соответствующими объему 1,0 и 2,5 мл молока. Контрастное

дно луночек облегчает выявление в молоке белых хлопьев на черном или примеси крови – на белом фоне. Между одной парой луночек сделано отверстие для правильного определения четвертей при проведении исследования. При взятии проб молока из вымени молочно-контрольную пластинку держат отверстием по направлению к голове животного, что позволяет легко определить, из какой четверти взято молоко.

Молочно-контрольная пластинка МКП-2 отличается от МКП-1 большим размером лунок цилиндрической формы с калибровочным центральным углублением на 1 мл и наличием щелей между лунками для одномоментного слива излишка молока путем наклона пластинки под углом 60-65° С.

Д.Д. Логвиновым и А.Д. Логвиновым (1990) для облегчения проведения диагностических манипуляций по определению форм субклинического мастита у коров было предложено модифицированное устройство «Устройство для определения качества молока (УОКМ-1)». Оно представляет собой молочную пластину с капиллярно-раздаточным устройством. В ручку-баллончик наливается диагностикум и при нажатии на него в пластину поступает нужное количество реактива.

«При отборе проб из четвертей вымени в каждой лунке должны находиться от 2 до 5 г молока. Затем легким нажатием на стенку баллончика из капиллярного устройства выбрасывается 2-3 капли диагностикума, поступающего синхронно во все четыре лунки. Учет реакции любого индикатора производится согласно инструкции к соответствующему диагностикуму по цветовой гамме сдвига рН (Д.Д. Логвинов, А.Д. Логвинов, 1990).

Реакция молока с димастином или мастидином основана на выявлении в нем повышенного количества соматических клеток и изменении рН среды.

Массовые диагностические исследования на скрытый мастит удобнее проводить во время контрольной дойки животных

Для исследования готовят 5% раствор димастина на дистиллированной или прокипяченной теплой воде. В каждое углубление пластинки из соответствующей четверти вымени надаивают по 1 мл молока и добавляют 1 мл ди-

мастина из бутылки с пипеткой-автоматом. Смесь молока с реактивом перемешивают палочкой в каждой лунке в течение 10-15 секунд.

При использовании пластинки МКП-2 палочка не требуется, проводя горизонтальные вращательные движения пластинкой происходит смешивание молока с реактивом. Реакция учитывается по густоте желе и цвету.

Учет реакции по вязкости желе:

- отрицательная реакция – однородная жидкость (–);
- сомнительная реакция – следы образования желе (\pm);
- положительная реакция – ясно видимый сгусток (от слабого до плотного), который можно выбросить из луночки палочкой (+).

На пластинке МКП-2 при:

- отрицательной реакции (–) образуется однородная смесь;
- Сомнительная реакция (\pm) – во время вращения пластинки на дне лунки заметны тонкие хлопья без образования сгустка;
- Положительная реакция (+) – отчетливое появление слабого или быстрообразующегося плотного сгустка.

Проба с 10% раствором мастидина. Для исследования коров на мастит по молоку из общего удоя применяют 10% раствор мастидина.

Техника постановки пробы на пластинках МКП-1 и МКП-2 и учет реакции по образованию желе проводят так же, как и при постановке с димастином.

Для определения пораженной четверти вымени от животных, давших положительную или сомнительную реакции с 10% раствором мастидина, отбирают пробы молока из каждой четверти и исследуют с 5% или 2% растворами мастидина или по пробе отстаивания (Н.В. Данилевская с соавт., 2005).

Проба с 2% раствором мастидина. Для приготовления 2% раствора мастидина к 100 мл 10% раствора прибавляют 400 мл дистиллированной воды или прокипяченной теплой воды.

Постановка пробы и учет реакции проводят по образованию сгустка и изменению цвета, как при исследовании молока с 10% раствором мастидина.

Образование сгустка является основным диагностическим признаком при исследовании молока по димастиновой и мастидиновой пробам, а изменение цвета служит ориентирующим признаком.

Показания реакций с димастином или мастидином не имеют самостоятельного значения для постановки диагноза на мастит, они в обязательном порядке должны подтвердиться пробой отстаивания (А.Ф. Колчина, 2008; Р.Г. Кузьмич, 2002).

Проба отстаивания. Ее проводят путем отбора секрета из четвертей вымени, которые реагировали положительно на димастиновый или мастидиновый тесты.

В конце доения в пробирку надаивают 10 мл молока и ставят ее на 16-18 часов в холодильник, чтобы оно не прокисло. На второй день учитывают результат. При этом обращают внимание на наличие осадка, количество и характер сливок и цвет молока.

Молоко здоровых коров имеет белый или слегка синеватый оттенок, осадка не образует. Молоко от больных маститом коров водянистое, сливки становятся тягучие, слизистые, хлопьевидные.

Основным диагностическим признаком при пробе отстаивания является осадок. Образование его в отстоявшемся молоке или наличие хлопьевидных, тягучих слизистых сливок указывает на положительную реакцию. Такую корову считают больной маститом, ее изолируют от общего стада и подвергают лечению. Молоко из пораженной маститом доли выдаивают руками, собирают отдельно и уничтожают. Молоко из непораженных четвертей в каждом отдельном случае бракуют в соответствии с наставлением по применению того или иного метода лечения (А. Ф.Колчина, 2008; Р.Г. Кузьмич, 2002).

Проба Уайтсайда – часто применяется в диагностической практике ветеринарных специалистов. Для ее проведения используют 4% раствор NaOH, который один к пяти совмещаем с молоком. Если животное больно маститом, читается положительная реакция, которая проявляется образованием тягучей

массы. Для более быстрого проведения пробы обычно используют 0,1 мл NaOH и 0,5 мл молока.

Многие авторы отмечают очень высокую степень чувствительности пробы Уайтсайда – именно этим обстоятельством обусловлена возможность её применения для определения самых различных вариантов воспаления вымени. Тем не менее, О.В. Александровская с соавт. (1987) проведёнными исследованиями убедительно доказала, что результат пробы Уайтсайда зависит не только от количества лейкоцитов в исследуемой пробе молока, но также, химически, имеет зависимость от содержания в нём жиров, и даже – солей кальция.

Однако постановка таких проб довольно трудоёмка и нередко требует специальных лабораторных условий. По этой причине в практических условиях товарного животноводства гораздо чаще прибегают к использованию различных экспресс-тестов на мастит – примером может служить калифорнийская маститная проба.

Такие тесты обычно создаются на основе ПАВ. В частности, в калифорнийской пробе в качестве ПАВ используются алкиларилсульфаты и алкиларилсульфонаты. Для постановки пробы достаточно смешать 3-5% раствор реактива с равным объёмом молока. Для максимального комфорта исследователя, существуют и специальные пластинки для постановки экспресс проб – контрольно-молочные пластинки. Такая пластинка содержит лунки, куда добавляют по 2 мл молока и раствора реактива, далее необходимо осуществить интенсивное перемешивание. Если животное, от которого отобрана проба молока, страдает маститом, то спустя 5-10 секунд считая от начала перемешивания в лунке образуется сгусток – такая проба считается положительной. Одновременно, включённый в состав реактива цветовой индикатор отразит и изменения активной кислотности исследуемой пробы молока.

Эффект загустения массы в лунке при положительной реакции происходит от того, что в маститном молоке содержится существенное содержание лейкоцитов. Под действием ПАВ разрушается оболочка ядер лейкоцитов и в

реакцию вступает ДНК, которая, взаимодействуя с ПАВ, придаёт жидкости вязкую консистенцию. Таким образом, чем больше лейкоцитов содержится в исследуемой пробе, тем более вязкая консистенция получится в лунке, вплоть до образования обособленного сгустка. Соответственно, проба позволяет не только определить факт наличия заболевания, но и, в некотором роде, степень поражения тканей вымени.

Некоторые авторы предлагают для детекции клинических форм заболевания маститом обращать внимание на изменения активной кислотности – так, молоко здоровых животных имеет водородный показатель в пределах 6,3-6,9, а молоко больных маститом животных обычно имеет щелочную реакцию среды (В.К. Копытин, 1999).

По схожему принципу работают и индикаторные карточки – изменение окраски индикатора свидетельствует о наличии заболевания.

При маститах изменяются химические свойства молока, одним из проявлений чего может быть наличие казеиновых сгустков. Такие сгустки можно заметить, например, при процеживании молока через тёмное сито.

Такое сито обычно встраивается в специальную кружку для сдаивания первых струек молока – если в крупном хозяйстве операторы доения неизменно пользуются такой кружкой и не пренебрегают процедурой пробного сдаивания, то таким нехитрым способом можно добиться раннего выявления маститов в очень большом количестве случаев.

Некоторыми авторами было предложено определять наличие заболевания маститом по активности каталазы: для этого в пробирке со вставленной в герметичную крышку трубкой добавляли 9 мл молока и 1 мл 3%-ного раствора перекиси водорода. При выделении из трубочки более 4 кубических сантиметров кислорода реакцию считали положительной, при выделении 3-4 сантиметров кубических кислорода – сомнительной и при выделении менее 3 сантиметров кубических кислорода реакцию считали отрицательной.

Однако положительная реакция может возникать и в отсутствие заболевания маститом, когда содержание каталазы, за счёт которой и происходит

выделение кислорода из перекиси водорода при смешивании её с секретом вымени, повышается в тот или иной период жизни животного – например, в первые дни после отёла.

Также каталазу содержат эритроциты, поэтому при их примешивании к секрету вымени проба даёт резко положительный результат, хотя при этом содержание эритроцитов в молоке отнюдь не обязательно сигнализирует о заболевании животного маститом. (А.Ф. Колчина, 2008; Д.Д. Логвинов, 1971).

Фельген-проба на ДНК.

Наличие ДНК, а значит – и лейкоцитов, в секрете вымени можно определить путём термостатирования секрета вымени на водяной бане при 60 градусах Цельсия в течение 24 минут в присутствии соляной кислоты. После этого следует прибавить реактив Шиффа. Если секрет окрашивается в сиреневый цвет, то такая проба считается положительной.

Титрация лизоцима М. Если в пробе молока не наличествует лизоцим М, то это не обязательно означает воспаление молочной железы, однако при постановке диагноза на мастит лизоцим М обыкновенно отсутствует, вследствие чего его количественное определение может использоваться в качестве дополнительного метода диагностики мастита.

Титрацию лизоцима проводят по Мutowнину на мясопептонном агаре луночным методом. МПА берут с водородным показателем 7,2, заливают его в чашки Петри на глубину до трёх миллиметров, выдерживают при температуре холодильника в течение суток.

В качестве фона пользуются золотистым стафилококком штамм ВМ: готовят 0,01% разведение бульонной культуры и вносят по ¼ миллилитра в чашки Петри для титрации.

Далее, после подсушивания получившейся среды в течение получаса в каждой чашке Петри стальной трубкой диаметром 1 см делают до 4-7 луночек, или колец. В каждую такую луночку вносят по несколько капель пробы секрета вымени, 18 часов выдерживают при комнатной температуре, а затем дополнительно термостатируют 5-6 часов при 37 градусах Цельсия.

Если в результате получают зоны угнетённого роста диаметром более 14 мм, то это свидетельствует о наличии бактериостатически активного лизоцима М в исследуемых пробах, диаметр зоны задержки роста 14 мм расценивают, как следовое содержание лизоцима в секрете вымени.

Длительное время в российской и зарубежной практике ветеринарные специалисты пользуются широко распространенным диагностическим калифорнийским тестом – (КМТ), но в последнее время наиболее часто применяют лабораторную диагностику (подсчитывая соматические клетки), а в частности различные автоматические анализаторы соматических клеток и бактерий в молоке

1.3 Профилактика мастита на молочных фермах

Одни лишь лечебные меры не могут быть эффективными в борьбе с заболеваемостью маститом, если не устранить причины его возникновения. Профилактические мероприятия должны быть направлены на устранение причин и предрасполагающих к маститу факторов, предупреждение проникновения в молочную железу патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, повышение общей резистентности организма животных и локальной - молочной железы. Чтобы профилактика заболеваний вымени на молочно-товарной ферме была эффективной, она должна представлять собой цельную систему мероприятий: начиная от комплектования стада и формирования рационов, до неукоснительного соблюдения зоогигиенических норм и регулярного поголовного исследования животных. Только в случае комплексного подхода профилактика маститов может быть результативной. (А. Л. Буланкин; 1996, Л.А. Черепахина, Г.Н. Кузьмин, 2008; S.P.Oliver, 2005).

Формирование стада необходимо осуществлять из коров, отвечающих требованиям для машинного доения и устойчивых к маститу. Наиболее пригодными считаются коровы с ваннообразной и чашевидной формами вымени, цилиндрической и конической формами сосков длиной 6-8 см, диаметром 2-3

см, с расстоянием от дна вымени до земли не менее 50 см, с общей балльной оценкой вымени не менее 16 баллов, со средней скоростью молокоотдачи 1,5-2,5 кг/мин, индексом вымени не ниже 40% и с наличием остаточного молока не более 300 г (В. Д. Мийсанов соавт 2005, А.Л. Буланкин, 1996).

С целью профилактики болезней коров маститами в момент лактации «необходимо, прежде всего, обеспечить биологически полноценную среду обитания, включающую в себя сбалансированное кормление, оптимальный микроклимат помещений в соответствии с зоотехническими и зоогигиеническими требованиями и действующими нормативами; создать надлежащие ветеринарно-зоотехнические и санитарно-гигиенические условия содержания и эксплуатации животных, исключая или сводящие до минимума стрессовые воздействия» (О.Г. Лоретц, 2012; М.И. Барашкин, 2012).

Грамотное содержание животных в условиях МТФ позволяет животным сохранять физиологически нормальный уровень естественной резистентности, что закономерным образом способствует профилактике мастита, а отсутствие скученности предотвращает травмы вымени, а значит, и маститы травматической этиологии.

Анализ литературных данных указывает на недопустимость сквозняков и сырости в животноводческих помещениях.

Переохлаждение животных часто наступает из-за сквозняков в корпусах, из-за повышенной влажности в помещениях. Влажный пол с давно не убранной подстилкой – хорошая среда для развития патогенной микрофлоры, которая легко проникает в ослабленный организм животного (например, галактогенным путём при лёжке на холодном полу) и вызывает заболевание. Очень важно регулярно проводить уборку в помещениях, чистку животных, дезинфекцию полов, стойл и предметов ухода за скотом. (Н.Т. Климов, 2012; В.К. Копытин, 1999).

Н.Т. Климов (2012) и В.К. Копытин (1999) отмечают важность поддержания животноводческих помещений в надлежащей чистоте, а также важность поддержания в них микроклимата, отвечающего зоогигиеническим

нормам. Это необходимо для поддержания высокого уровня естественной резистентности у коров. Нельзя допускать скученного содержания животных, так как нередко это приводит к травматизму, в том числе и к травмам вымени – а они, в свою очередь, часто становятся непосредственной причиной развития маститов.

М.А. Багманов (2012) и В.И. Слободяник (2005) отводят важное место мероприятиям, направленным на повышение иммунобиологической защиты организма коров. А.В. Парахин (2005) и А.И. Трошин (2003) отмечают в этой связи высокое значение регулярного моциона животных: помимо повышения резистентности, моцион способствует повышению моторики матки, что в свою очередь известным образом профилактирует развитие послеродовых маститов. В данном контексте следует обратить внимание на важность сбалансированного кормления, так как недостаток в корме необходимых элементов способствует снижению иммунитета, что чревато развитием самых различных заболеваний, и в том числе – маститов. А.Г. Нежданов (1996) и А.Н. Трошин с соавт. (2012) обращают внимание на двойственный эффект от введения комплексных противомаститных препаратов при запуске коров: с одной стороны, это, безусловно, один из наиболее действенных способов профилактики развития мастита в сухостойном периоде, с другой – интрацистернальное введение таких средств неминуемо ведёт к развитию резистентных штаммов вызывающих мастит микроорганизмов, а также оказывает негативное влияние на состояние функциональных тканей молочной железы коровы. В настоящее время разработаны и методы специфической профилактики маститов: в частности, на российском рынке представлен ряд вакцин отечественных и зарубежных производителей (СтарттВак, Нирга - Испания, Ваколин, Пробиотик-Плюс - Россия и др.). Основу составов таких вакцин составляют антигены микроорганизмов, наиболее часто выделяемых от животных, больных маститом. Л.Н. Скосырская отмечает (2013), что после применения этих вакцин иммунный ответ коров сохраняется на протяжении 5-6 месяцев.

Моцион животных – важное профилактическое средство не только нарушений обмена веществ, но и маститов. Выгул животных на свежем воздухе не только повышает естественную резистентность организма, но и способствует повышению моторики матки, что, в свою очередь, эффективно профилактирует целый ряд послеродовых заболеваний, а, таким образом, и маститов. (А.В. Парахин, 2005, А.Н. Трошин, 2003).

До половины всех заболеваний вымени может приходиться на маститы, которые возникают вследствие нарушения кормления животных. Недопустимо скармливание животным недоброкачественных и перемороженных кормов, а сам рацион обязательно должен быть сбалансирован по содержанию переваримого белка, безазотистым веществам, витаминам и минералам. Крайне важное значение имеет соблюдение кальций-фосфорного отношения в рационе, а также витаминов А и Д, так весьма большое их количество выводится из организма при лактации. При недостатке этих веществ снижается общая резистентность и увеличиваются шансы на приживаемость условно-патогенной микрофлоры в макроорганизме, которая способна вызвать в том числе и мастит. При скармливании недоброкачественных кормов может наступить интоксикация организма, отложенным следствием которой часто являются различные заболевания. Особую опасность представляют собой микотоксины.

Нередко имеет место возникновение маститов вследствие неправильного запуска коров. Обычно эта процедура осуществляется за полтора-два месяца перед отёлом. Прежде всего, необходимо правильно скорректировать рацион животных: сократить дачу сочных и концентрированных кормов, что будет способствовать снижению секреции молока в вымени. После этого следует сократить кратность доения: с трёхкратного перейти на двукратное, а затем – на однократное. Чрезвычайно важно, чтобы выдаивание было полным. Процесс запуска длится от 10 до 20 дней.

Очевидно, что в период сухостоя диагностика маститов становится затруднённой, и они могут протекать латентно. Чтобы избежать массового за-

болевания коров маститом в период сухостоя, часто прибегают к интрацистернальному введению специальных препаратов, как правило – на основе химиотерапевтических средств. Часто в состав таких препаратов входят воскоподобные вещества, которые как бы запечатывают канал соска вымени, не допуская попадания туда микрофлоры.

Профилактическое введение антимикробных препаратов в вымя сухостойных коров позволяет существенно снизить число инфицированных долей, однако имеет и негативные последствия: развитие резистентности у возбудителей мастита, разрушение биоценозов молочной железы, деструктивное действие антибиотиков на паренхиму, снижение содержания бета-каротина и витамина А в тканях вымени (А.Г. Нежданов, 1996; А.Н. Трошин; Б.Л. Белкин с соавт., 2012) .

М.Г. Миролубов для профилактики мастита и предупреждения его рецидивов предлагает проведение санации пораженных долей вымени коровам на 3-и и 10-и сутки сухостойного периода внутримышечно инъецировать 3 мл 2%-го линимента прополиса на ПЭГ-400.

В настоящее время актуальным является и разработка безмедикаментозных методов профилактики мастита, а именно акупунктуры, электропунктуры, лазеропунктуры, криопунктуры, гомеопунктуры (Л.Д. Демидова, 1996; И.И. Балковой, 2000).

Возникновение резистентности у микроорганизмов к химиотерапевтическим средствам ставит перед научным сообществом необходимость поиска новых путей профилактики маститов. Так, одним из перспективных направлений на сегодняшний день является специфическая профилактика маститов путём вакцинации.

В настоящее время на фармацевтическом рынке Российской Федерации представлено 2 вакцины против маститов коров: СТАРТВАК, производитель LaboratoriosHipra (Испания) и ВАКОЛИН, производитель ООО «Пробиотик Плюс» по лицензии Otto Christian Lidars Handels GmbH (Германия). В состав обеих вакцин введены антигены возбудителей, наиболее часто вызывающие

маститы у коров – *Staphylococcus aureus* и *Esherichia coli*. Отличие заключается в том, что СТАРТВАК содержит инактивированные клетки, содержащие внеклеточный компонент – ассоциированный со слизью антигенный комплекс (SAAC). Таким образом, внеклеточный компонент – ассоциированный со слизью антигенный комплекс (SAAC) препятствует образованию в вымени очагов инфекции в виде биоплёнки.

«При применении этих вакцин, иммунный ответ сохраняется на высоком уровне не менее 5-6 месяцев, а реализация мяса и молока разрешается без каких-либо ограничений» (Л.Н. Скосырская, 2013).

Безусловно, важное значение в системе профилактических противомаститных мероприятий занимает гигиеническая обработка вымени до и после доения. Отмечают, что обработка вымени перед каждой дойкой снижает заболевание коров латентными формами мастита до 5,3% по сравнению с гигиенической обработкой вымени один раз в день.

Д.Ш. Баймышева (2007), А. Жданов (2001) отмечают, что санитарная обработка сосков вымени дезинфицирующими средствами после доения снижает частоту возникновения маститов в 2 раза. Помимо этого, от санитарного состояния кожи сосков вымени сильно зависит содержание соматических клеток в молоке.

Очевидным путём проникновения патогенных микроорганизмов в молоко является попадание их с загрязнённой кожи сосков вымени. С помощью воды полностью удалить загрязнения невозможно, поэтому возникает необходимость использования специальных средств для обработки вымени.

Важность обработки кожи сосков вымени после доения подчёркивают Р.К. Шаев, Р.А. Багманов и Р.Н. Сафиуллов (2010). Они отмечают, что патогенная микрофлора способна попадать в вымя через сосковый канал, который после доения остаётся открытым иногда до двух часов. Поэтому для надёжной профилактики мастита вымени необходимо обрабатывать не только до, но и после доения.

При каждом доении вымя надо массировать. Отек вымени, появляющийся в конце стельности, после отела при благоприятных условиях постепенно исчезает к 7-10 дню (Ю.А. Забелин, 1982; С.А. Мальцев, 2010).

На сегодняшний день имеется огромное количество средств, профилактирующих как заболевания вымени, так и патологии сосков вымени. Одним из первых средств, которое использовалось на производстве, был «Dipal» от знаменитой фирмы «Delaval» – производитель: Швеция. Действующее вещество йод, а вспомогательный смягчающий компонент сорбитол. Kenocidin (Кеноцидин) – производство Бельгия. Действующее вещество хлоргексидин (антисептик) и луговая мята, смягчающее вещество аллантоин. Мاستиклин Финиш – производство Россия. Действующее вещество хлоргексидин и аллантоин, не содержит йода. Обладает репеллентным действием (отпугивает насекомых). Легко смывается при подготовке вымени к доению (не образует полимерную пленку). Viri TE Dip – производство Дания. На основе молочной кислоты. Ярко-оранжевого цвета. Содержит репеллент. Nova DipBarrier – производство Дания. Действующее вещество: йод, молочная кислота, аллантоин, сорбитол. Цвет коричневый. Также имеется ряд средств для орошения сосков после доения на основе биопрепаратов. Основой данных средств является ассоциация штаммов аэробных строго сапрофитных микроорганизмов: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* и *Bacillus megaterium*. Данные комплексные концентрированные микробиологические продукты, с одной стороны, активно воздействуют на патогенную микрофлору и частицы грязи, а с другой стороны, формируют полезную для здоровья и безопасную микрофлору. Применяют средство РІР СТС, при помощи пульверизатора непосредственно после снятия доильного аппарата, распыляя препарат снизу вверх от верхушки соска в течение 2–3 секунд (D.Anderson, B.Hill, 2002).

Дезинфицирующие средства с помощью полимеров с содержанием йода призваны предотвращать заражение вымени в период между дойками, но основная передача инфекции происходит через сосковую резину от больной корове к здоровой во время дойки. Дезинфекция доильного оборудования ре-

зультатов не даст, так как одним аппаратом за трехчасовую дойку доят 15-20 коров, а чистым доильный аппарат можно считать только до первой коровы.

Учитывая выраженное антисептическое действие препаратов йода, а также их безвредность и доступность широко используется для обработки сосков после доения препарат Мастосепт. Он содержит комплекс поливинилпирролидона йода и активный йод, губительно действующий на грамположительные и грамотрицательные бактерии, грибы, вирусы и простейшие (О. Татарчук, 2009).

Созданный на основе бентонита и хвои пихты сибирской фитогель, обладает антимикробным, противовоспалительным и заживляющим действием, не проявляя при этом аллергических и сенсibiliзирующих свойств. Хвойно-бентонитовый гель проявляет высокую профилактическую эффективность при заболеваниях кожи сосков вымени и маститах у коров (Р.Д. Дильбахранов с соавт., 2005; Ю.И. Попов, 2004).

Другой альтернативой профилактики маститов с использованием антисептиков является применение средств на основе пробиотиков для обработки вымени до и после доения (Ю.И. Попов, 2004).

Использование пробиотических средств есть перспективный путь неспецифической профилактики маститов, поскольку они не способствуют повышению резистентности самих штаммов микрофлоры, вызывающей мастит. (Е.А. Сидоркин с соавт., 2009; С.А. Васильева с соавт., 2017).

1.4 Роль пробиотиков в профилактике мастита у коров

Высокая эффективность химиотерапевтических средств в вопросах профилактики маститов со временем привело к их бессистемному и бесконтрольному применению. Такое положение дел неминуемо влечёт за собой появление устойчивых микроорганизмов, в результате чего существенно снижается терапевтический эффект от применения этих средств. Более того, применение антибиотиков и гормональных компонентов в лечении и профилактике

маститы нередко накладывают ограничения на возможности реализации сырья. (А.Ф. Колчина, А.С. Баркова, 2012).

Пробиотики – это культуры микроорганизмов, которые исключают патогенную микрофлору по принципу антагонизма – за счёт биологической конкуренции за ресурсы к существованию. Препараты на их основе весьма эффективны и не приводят к усилению резистентности патогенной и условно-патогенной микрофлоры (R.H. Sayed, 2014; А.Н. Турченко с соавт., 2012).

В виду вышеизложенного, усилия ветеринарных микробиологов последних десятилетий направлены на устранение пагубных последствий широкого применения химиотерапевтических средств, в том числе – антибиотиков. (В.И. Слободник с соавт., 2013).

Первоначально название «пробиотик» применяли для описания субстанций, продуцируемых одним простейшим, который стимулировал рост других, а позднее кормовых добавок, оказывающих полезный эффект на животное-хозяина путем влияния на его кишечную микрофлору. В последней роли его определяли как организм и вещества (субстанции), которые делают вклад в микробный баланс кишечника (Г.А. Богатырев, 2000).

В 1981 году Т. Riise (Дания) предложил пробиотик понимать как «...увеличение микроорганизмов в пищеварительном тракте животного-хозяина путем введения больших количеств желательных бактерий для переустановления и поддержания идеальной ситуации в кишечнике». В 1989 году R. Fuller дал другое понятие пробиотикам – «живая микробная кормовая добавка, которая оказывает полезное действие на животное-хозяина путем улучшения его кишечного-микробного баланса». Последнее определение пробиотиков было принято в научной литературе и до настоящего времени не модифицировалось (Б.В. Тараканов, 2000).

Термин «пробиотики» в буквальном переводе двух слов «про» и «био» означает «для жизни», в отличие от антибиотиков – «против жизни».

Немаловажное значение для ветеринарной практики имеет то, что стоимость средств на основе пробиотиков зачастую существенно ниже, а значит выше экономическая эффективность их применения (И.С. Коба, 2016). Сегодня использование пробиотиков актуально в целях профилактики и лечения желудочно-кишечных расстройств, в целях регулирования и повышения естественной резистентности организма, при применении химиотерапевтических средств для профилактики состояний дисбактериоза. Штаммы пробиотических культур в процессе собственной жизнедеятельности вырабатывают многие полезные вещества, такие как витамины, органические кислоты и многие другие биологически активные вещества. Отдельного внимания заслуживает их способность подавлять рост и развитие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (М.И. Барашкин, 2012). Рассматривая механизм действия пробиотических факторов, можно выделить некоторые основные моменты: вскоре после применения пробиотиков начинают выделяться биологически активные вещества и функционировать системы микробных клеток, оказывающих как прямое действие на патогенные и условнопатогенные микроорганизмы, так и опосредованное – путем активации специфических и неспецифических систем защиты макроорганизма. Современная промышленность выпускает достаточное количество пробиотиков, представляющих культуру живых организмов

М.И. Подчалимов с соавторами (2008) испытывали действие пробиотика сахабактисубтила в целях профилактики послеродовых осложнений у стельных коров. В результате у всех животных отмечено нормальное течение родов – без задержания последа и с отсутствием послеродового эндометрита.

Г.Ф. Бовкун предложил (1998) использовать препарат бифином, который применяется в качестве профилактического средства. В своем составе он содержит бифидобактерии кишечника цыплят, что при его применении позволяет активировать фагоцитоз и повышать бактерицидную ёмкость крови. Согласно сообщениям автора, применение данного препарата повышает сохранность кур до 98,5%. Также автор отмечает, что после пассажирования

бифидобактерий в организме цыплят отмечается высокая стабильность их ферментативных, кислотообразующих свойств, а также устойчивость к антибиотикам.

Б.В. Тараканов (2000) предложил использовать препарат лактоаниливорин на основе нового штамма лактобацилл. Автор доказывает, что применение данного препарата обеспечивает процесс торможения жизненных процессов организма внешними факторами и стимулирует увеличение поедаемости концентрированных кормов. На этом же фоне происходит стимуляция неспецифической резистентности организма, что в дальнейшем приводит к повышению сохранности животных.

Целобактерин. Представляет ассоциацию из трех видов жизнеспособных клеток целлюлозолитических бактерий рубца. Рекомендуется применять для повышения эффективности использования грубых кормов. Препарат способствует более быстрому формированию микрофлоры преджелудков телят и позволяет снизить расход молока (Б.В. Тараканов, 2000).

Стрептофагин. Содержит бактериофаги, лизирующие штаммы амилотических стрептококков рубца животных. Предназначен для скармливания высокопродуктивным лактирующим коровам, содержащимся на концентратных рационах в качестве средства регуляции метаболических процессов в рубце. Препарат позволяет повысить жирность молока на 0,2-0,3% и снизить затраты производства одного килограмма молока на 15% (Б.В. Тараканов, 2000).

В 2003 году В. Ли предложил препарат для добавления в ЗЦМ для телят под названием имагро. Этот препарат представляет собой симбиотик – сочетание пробиотика и пребиотика. Он эффективно подавляет развитие патогенных микроорганизмов в кишечнике и повышает резистентность организма телят.

И.Н. Жирков в 1999 году предложил препарат РАС. Этот препарат позволяет эффективно справляться с желудочно-кишечными расстройствами и диарей телят. Основу препарата составляет генетически модифицированный

штамм 534. Этот препарат отличает высокая устойчивость к антибиотикам, что делает возможным применение его в составе стандартных схем выпойки телят.

Для коррекции микрофлоры ЖКТ нередко используют штаммы, являющиеся компонентами естественной микрофлоры желудочно-кишечного тракта.

Лактобактерии штамма *Lactobacillus amylovorus* способны ферментировать крахмал, а также проявляют устойчивость в отношении ряда антибиотиков: к хлорамфениколу, тетрациклину, канамицину, рифампицину, полимиксину. Более того, эти пробиотики не чувствительны к агрессивной среде ЖКТ: желчи, фенолу, спирту.

Вполне универсальными считаются пробиотики, полученные из сапрофитной микрофлоры, в частности, сенной палочки (*Bacillus subtilis*). Они проявляют антагонистическую активность в отношении большинства видов патогенных микроорганизмов, а также существенно повышают неспецифическую резистентность организма животного. Бациллы имеют ряд преимуществ, позволяющих считать их наиболее эффективными в качестве новых биопрепаратов. Эти микроорганизмы, как правило, безвредны для макроорганизма даже в концентрациях, превышающих рекомендуемые для применения. Они экологически безопасны и характеризуются высокой ферментативной активностью, позволяющей им существенно регулировать и стимулировать пищеварение, оказывать антиаллергенное и антитоксическое действие. Кроме того, препараты технологичны в производстве и стабильны при хранении (Б.В. Тараканов, 2000).

Применение пробиотических средств часто позволяет избежать раздражающего действия на кожу, которое нередко возникает при применении дезинфектантов. Помимо этого, химиотерапевтические препараты могут нанести вред здоровью специалиста, который их применяет. Использование пробиотических средств позволяет восстановить естественный микробиоценоз, а также проявляет благотворное действие на иммунную систему как животных,

так и человека, при этом они эффективно снижают риск развития инфекционных заболеваний (А.С. Баркова, 2014).

Как отмечает А.Н. Турченко (2011), при обработке сосков вымени коров пробиотическими препаратами со временем создается новый микробиоценоз, в котором подавляется развитие патогенной микрофлоры культурами пробиотических бактерий по принципу антагонизма, конкурируя за пищу и среду обитания.

Для решения проблем, связанных с воспалением молочной железы у коров, наиболее целесообразной является коррекция микробиоценоза вымени, оптимальный вариант – пробиотические препараты. В отличие от антибиотиков и антисептиков они подавляют само развитие патогенной микрофлоры по принципу антагонизма и не оставляют возможности для повторной контаминации тканей или их заселения другими микроорганизмами. Использование пробиотиков может позволить профилактировать мастит, не допуская развития заболевания, и снижать количество рецидивов (Н.В. Литусов, 1997).

Лаборатории ветбиотехнологии НИИСХ Северо-Востока был разработан пробиотический препарат «Бактоцеллолалктин» (на основе *R. albus*, *L. plantarum*, *B. subtilis*) и экистероидсодержащий препарат «Биоинфузин» (на основе левзеи сафлоровидной), применяемые при акушерско-гинекологических заболеваниях коров. Эти препараты повышают их иммунный статус (А.А. Ивановский, 2012).

По результатам исследований, можно рекомендовать использование нового способа профилактики мастита крупного рогатого скота, который предусматривает комплексное применение «Биоинфузина» внутримышечно в дозе 2,5 мл/100 кг живой массы за 60, 50, 40, 30, 20, 10 дней до отёла и бактоцеллолактин внутривагинально в дозе 2,0 мл во все доли вымени за 60 и 10 дней. Его профилактическая эффективность в первый день после отела, по сравнению со способом, предусматривающим введение химических препаратов, составляет 83,4... 100 %, в послеродовом периоде – 91,7...100 % (И. Н. Пермякова, 2010; А.А. Ивановский, 2012).

Заключение по обзору литературы

Таким образом, заболевание маститом коров распространено во всем мире. Основными предрасполагающими факторами данного заболевания являются: несоблюдение технологии и правил машинного доения коров, завышенный и нестабильный вакуум в вакуум-проводе, нарушение условий кормления и содержания животных.

Одним из основных этиологических факторов является условно-патогенная микрофлора, такая как *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *E. coli*, *Candida*, *Aspergillus*. Для лечения мастита коров предложено много различных методов, и современная фармакологическая наука также разрабатывает огромное количество различных лекарственных средств. Однако в качестве лечебных и профилактических средств применяют, в основном, внутрицистернальные - введение нитрофуранов, сульфаниламидов, а также комплексные противомаститные препараты, содержащие антимикробные вещества.

Использование данных антимикробных средств приводит к возникновению резистентных штаммов микроорганизмов, особенно к антибиотикам, в результате чего снижается терапевтическая эффективность противомаститных препаратов на их основе. Кроме того, после лечения отмечается наличие остаточных количеств антибиотиков в молоке. В связи с этим оно становится технологически непригодным и вредным для здоровья людей. Также угнетается иммунная система, возникают аллергические реакции и микотические маститы.

Распространено применение для профилактики маститов препаратов йода, хлоргексидина, молочной кислоты и т.п. Но стоит отметить, что эти средства также имеют ряд недостатков.

Поэтому разработка и применение профилактических средств на основе пробиотических штаммов является весьма перспективным направлением как в целях профилактики заболеваний вымени, так и для профилактики других

заболеваний, а также лечения сельскохозяйственных животных. Поэтому данная тема требует всесторонних дальнейших научных исследований.

ГЛАВА 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы

Исследования проводили с 2018-го по 2020-й год на кафедре терапии и фармакологии Кубанского ГАУ, а также в хозяйствах края: ООО АФ «им. Ильича» Выселковского района Краснодарского края, ООО «Смоленское» Северского района Краснодарского края, ФГУП «Кореновское» Кореновского района Краснодарского края, АО «Холдинговая компания – агрофирма «Россия» Тимашевского района Краснодарского края.

Для проведения доклинических и лабораторных исследований нами использовали мыши – 50 шт., крысы – 30 шт., кролики – 6 шт. Опыты по проведению клинических исследований проводились на коровах голштинской породы в количестве 500 голов. Исследования по распространенности и сезонного распределения маститов крупного рогатого скота изучен на базе хозяйств ООО «Смоленское» Северского района Краснодарского края и ФГУП «Кореновское» Кореновского района Краснодарского края, находящихся в разных климатических зонах – предгорной и равнинной, в течение 2017-2019 года на 1030 головах дойного стада.

Во всех хозяйствах применяется беспривязная система содержания, доение производится два раза в день в доильном зале на аппарате типа «Карусель».

Первейшим и основополагающим этапом разработки, а также внедрения лекарственного средства в клиническую практику, является доклиническое исследование. Оно позволяет своевременно изучить фармакологические, токсические и фармацевтические свойства, а так же оценить эффективность и безопасность фармакологического средства. Также доклинические исследования составляют значительную часть регистрационного досье, которое формируется с целью государственной регистрации лекарственного препарата.

Определение внешнего вида и цвета средства «Биомастим» производили визуально при дневном рассеянном свете при освещении лампами накаливания. Запах определяли органолептически.

«Биомастим» представляет собой суспензию тёмно-зелёного цвета с кисловатым запахом.

Определение бактериологической чистоты проводили в соответствии с ГОСТ 28085 «Препараты биологические. Метод биологического контроля стерильности». Для этого десятикратные разведения «Биомастима» высевали на плотные питательные среды: солевой агар, среду Эндо, МПА, кровяной агар, агар Сабуро, МПА с глюкозой. Посевы помещали в термостат и инкубировали в течение 24, 48 и 72 часов при температуре 37,5⁰ С. На среде Сабуро посевы инкубировали при температуре 22⁰ С в течение 8 суток.

Для определения количества жизнеспособных микроорганизмов в течение срока хранения средства «Биомастим» были отобраны образцы средства в количестве 0,3 л от партии №1, произведенной 5 апреля 2017 года. Средство хранили в чистом помещении без доступа света при температуре +8⁰ С в охлаждающей камере. В течение срока хранения периодически брались пробы средства для анализа: на момент выпуска средства, через 1 месяц от даты изготовления и через 2 и 3 месяца от даты изготовления. Анализ проводили путем подсчета жизнеспособных микроорганизмов.

Помимо определения количества жизнеспособных микробных клеток средства «Биомастим» нами были проведены исследования по определению динамики изменения рН средства в течение всего срока хранения. Для этого измеряли уровень рН каждые 10 дней в течение 1 месяца со дня производства средства «Биомастим» посредством рН метра «Picalo».

Противомикробную активность средства *in vitro* определяли по следующей методике: в первой серии испытаний в чашки Петри наливали расплавленный и охлажденный до 45⁰С лактобакагар, затем добавляли небольшое количество бульонной культуры штамма-пробионта. Перемешивали содержимое чашки и оставляли до остывания агара. Сразу после остывания агара стерильным скальпелем удаляли из чашки половину агаровой пластинки с выросшим на ней пробионтом. В свободную часть чашки заливали 10 мл

СПА. После застывания среды на нее сплошным газоном засеивали тест-микроб.

Во второй серии испытаний использовали «чашечный» метод М. Литвинова (1947) в модификации Н.С. Егорова (1965): в чашки Петри наливали расплавленный и охлажденный до 45⁰С лактобакагар, затем добавляли небольшое количество бульонной культуры штамма-пробионта. Перемешивали содержимое чашки и оставляли до остывания агара. Затем помещали в термостат при температуре 37⁰ С на 48 часов.

Через двое суток стерильным скальпелем удаляли из чашки Петри половину агаровой пластинки с выросшим на ней пробионтом. В свободную часть чашки заливали 10 мл СПА. После застывания среды на нее сплошным газоном засеивали тест-микроб. Через 24 часа учитывали зону задержки роста между пробионтом и тест-микробом.

Исследования по определению острой токсичности оценивают потенциальный вредный эффект на подопытных животных при однократном или многократном воздействии на них средства в течение суток. Для исследований были использованы здоровые, не инфицированные, молодые половозрелые животные известного происхождения. В начале исследования вариантность массы используемых животных для каждого пола не превышает $\pm 20\%$ средней массы. Используемые в исследовании самки не рожавшие и не беременные.

Все болезненные манипуляции с животными будут проведены в соответствии с регламентирующими стандартами:

European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.

Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.

Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. – Washington, D.C. 1996.

Был проведен контроль условий окружающей среды и методов ухода за животными. Это необходимо для получения более показательных результатов. Надлежащим образом была составлена диета, своевременно осуществлялась замена подстилок, с учетом их потенциального влияния на результаты исследования.

Для проведения исследования по определению острой токсичности средства «Биомастим» было сформировано 5 групп из белых мышей обоего пола, из них 4 опытных и 1 контрольная, по 10 голов в каждой. Масса тела животных составляла, в среднем, 25-30 г.

Перед началом эксперимента лабораторных животных выдерживали на голодной диете до 12 часов. После периода голодания животные взвешивались.

Средство вводили *per os* с помощью зонда (шприц с изогнутой инъекционной иглой и с напаянной оливой на конце), утром, натощак. Дозы исчисляли в мг на кг массы тела животных (мг действующего вещества на кг массы тела). Внутри средство вводили опытным группам в объеме 0,4; 0,6; 0,8; 1,7 мл. Контрольной группе вводили изотонический раствор натрия хлорида в дозе 1 мл/гол.

За всеми подопытными животными вели наблюдения в течение 14 дней, причем первый день после введения, животные находились под непрерывным наблюдением. О токсическом действии средства судили по общему состоянию животных; особенностям их поведения; интенсивности и характеру двигательной активности; реакции на тактильные, звуковые и световые раздражители; состоянию шерстного и кожного покрова; окраске слизистых оболочек; потреблению корма и воды.

Для расчета параметров острой токсичности средства использовали метод по Литчилду и Уилкоксону (М.А. Беленький, 1963), который основан на учете смертности животных от вводимых доз изучаемого средства.

При определении параметров хронической токсичности средства «Биомастим» было сформировано 3 группы крыс-аналогов с массой тела 180-190 г

(две опытные и одна контрольная) по 10 животных в каждой. Все экспериментальные животные находились в условиях, аналогичных исследованиям при определении острой токсичности средства.

Исследуемый образец средства крысам первой группы задавали ежедневно в течение 28 суток с водой в дозе 600 мг/кг массы тела (1/10 от максимально-испытанной при изучении острой токсичности), во второй группе дозировка составила 300 мг/кг (1/20 от максимально испытанной). Третья группа служила биологическим контролем.

Критериями оценки хронической токсичности на лабораторных животных являлись: клиническое состояние животных; возможная картина интоксикации; поведенческие реакции; число павших животных и сроки гибели; влияние средства на общие показатели крови и биохимический состав сыворотки крови; патологоанатомические изменения.

При оценке изменений, наблюдаемых у животных в хроническом токсикологическом эксперименте, исключалась возможность влияния всех побочных факторов, не связанных с воздействием средства (заболевания животных, изменения рациона, содержания и т.п.).

В начале и в конце опыта опытных и контрольных животных взвешивали для контроля динамики массы тела, в конце опыта у 5-ти крыс (опытных и контрольных) проводили забор крови для проведения морфо-биохимических исследований.

Кровь для исследования использовалась от голодных животных. Взятие крови проводили в утренние часы. Все аналитические измерения проводили на стандартизированном оборудовании с обязательной поверкой и использованием предложенных методик производителями реагентов.

Биохимические исследование крови проводились на анализаторе открытого типа «А-25» (BioSystems, Испания) с использованием реагентов ДИАВЕТ. Для исследования использовали венозную кровь, которую отбирали из вены в чистую пластмассовую пробирку. Для получения сыворотки кровь центрифугировали 15 минут при 3000 об/мин. Для приготовления

плазмы, предварительно в пробирку добавлялся антикоагулянт (гепарин натриевая соль, цитрат натрия или 2% раствор EDTA). Полученная сыворотка (или плазма) переносилась во вторичные пробирки, которые затем загружали в анализатор.

Уровень гемоглобина и количество эритроцитов определяли с помощью фотоэлектрического анализатора «Abacus».

Определение количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы осуществляли на фотоэлектрическом анализаторе «Abacus».

Уровень общего белка в сыворотке крови определяли с помощью биохимического анализатора «SINNOWA»

Определение содержания белковых фракций в сыворотке крови определяли турбодиметрическим (нефелометрическим) способом по И.П. Кондрахину (2004). Принцип метода: сравнение интенсивности светорассеяния коллоидных растворов в проходящем свете, образующихся в результате коагуляции фосфатными растворами отдельных фракций белка.

Основные биохимические показатели сыворотки крови подопытных животных изучали при помощи полуавтоматического анализатора «SINNOWA» с использованием набора реактивов «Диахим».

Регистрацию и анализ поведенческих актов лабораторных животных проводили методом открытого поля. Автором метода является Hall C.S. (1934). Для этого использовали картонную коробку площадью 1 м², разделенную на 16 квадратов, с бортами высотой 20 см. и несколькими отверстиями в полу.

Крысу помещали в центр коробки. В течение 3 мин регистрировали число пересеченных квадратов (4 лапами) и количество центровых посещений, что фиксировалось как горизонтальная активность. Число вертикальных стоек фиксировалось как вертикальная активность, пристеночные и свободные стойки и число заглядываний в отверстия (норковый рефлекс). Критерием седативного или стимулирующего действия считают достоверное изменение показателей горизонтальной и вертикальной двигательной активности.

Также регистрируют вегетативную деятельность: дефекация, мочеиспускание.

Исследования молока и смывов с сосков вымени для изучения его культурально-морфологических и биохимических свойств проводили общепринятыми методиками бактериологического исследования, по методике Н.Н. Михайлова, М.А. Лучко, З.С. Кононовой (1967). Посев исследуемого материала проводили из разведений на жидкие и плотные питательные среды (МПА, МБП, кровяной агар, среда Эндо, среда Сабуро).

Идентификацию выделенных микроорганизмов до вида проводили с использованием 23 биохимических тестов и «Определителя бактерий Берджи» (М., 2001), «Определителя зоопатогенных микроорганизмов» (М.А. Сидоров с со авт., 1995). Изучение патогенности выделенных культур бактерий проводили с помощью биологической пробы на белых беспородных мышах путем внутрибрюшинного заражения, одномолиардной взвесью смыва суточной агаровой культуры в дозах 0,2-0,5 мл (200-500 млн микробных клеток). Для определения чувствительности выделенных культур к антибиотикам использовали метод диффузии в агар (МУК 4.2.1890-04).

Исследование раздражающего действия средства «Биомастим» на слизистые оболочки проводили на 6-ти кроликах породы «Калифорнийский».

Средство «Биомастим» закапывали в конъюнктивальный мешок левого глаза с помощью пипетки в дозе 2 капли, при закапывании оттягивали внутренний угол конъюнктивального мешка. После этого на протяжении 1 минуты прижимали слезно-носовой канал. В конъюнктивальный мешок правого глаза тем же подопытным животным для контроля закапывали изотонический раствор натрия хлорида.

Воздействие изучаемого вещества на слизистые оболочки фиксировали через 5 минут, 30 минут, 1, 3, 6, 24, 48 часов и оценивали по степени гиперемии, отечности, инъекции сосудов склеры и роговицы, ширине зрачка, состоянию век.

В связи с тем, что средство «Биомастим» наносится на кожные покровы, нами было проведено исследование раздражающего действия на кожные покровы при многократном воздействии. Исследование проводили в течение 21 суток. За сутки до начала эксперимента проводили депиляцию по обеим сторонам спины на участках площадью примерно 10×15 см. Для эксперимента использовались 5 кроликов со здоровой кожей.

Пол миллилитрами (0,5 мл) «Биомастима» смачивали марлю сложенными вчетверо, которую в дальнейшем наносили на кожу с каждой стороны и фиксировали полупрозрачной повязкой.

Так как нами было принято решение о проведении многократного воздействия, регистрацию состояния кожи в месте аппликации проводили через 1 ч после удаления образца и непосредственно перед следующей аппликацией; разница во времени между нанесением образца была 12 часов.

После последней аппликации регистрировали состояние каждого участка через 1, 24, 48 и 72 ч после снятия образцов.

На результаты изучения раздражающего действия оказывают влияние следующие факторы: образование струпа, эритемы, и отека.

При многократном воздействии определяют индекс суммарного раздражения, при этом для каждого животного складывают баллы раздражения, включая эритемы и отеки, в каждый интервал времени. Делят полученное число на общее число наблюдений и получают средний балл раздражения для каждого животного.

При изучении ранозаживляющего действия средства «Биомастим» показатели заживления ран определяли методом вульнографии с использованием компьютерного наложения измерительной сетки, для масштабирования использовали линейку. Исследования проводили на кролике породы «Калифорнийский».

За сутки до проведения исследований выстригали шерсть на участках площадью примерно 10×15 см. Подготовленный участок обрабатывали 70° этиловым спиртом, проводили местную анестезию 0,5%-м раствором ново-

каина, скальпелем наносили 2 линейных разреза по трафарету, веретенообразной формы, 40×15 мм и глубиной 1,520 мм. Расстояние между разрезами было не менее 2 см. Первый разрез обрабатывают опытным средством 10%-ным раствором средства «Биомастим», второй – контрольным средством (на рисунке 6 справа) – «Биосептин мазь» производства ООО «НПФ Исследовательский центр», который также, как и «Биомастим», содержит в качестве действующих веществ пробиотические микроорганизмы – *Bacillus amyloliquefaciens* штамм ВКПМ В-10642 (DSM 24614) и *Bacillus amyloliquefaciens* штамм ВКПМ В-10643 (DSM 24615), и показан, согласно утвержденной инструкции, для лечения ран, ожогов и дерматитов у домашних, сельскохозяйственных, диких животных, в т.ч. пушных зверей и птиц.

Оценивали суточное уменьшение площади раны (%), которое вычисляли по формуле $\Delta S = ((S - S_n) \times 100) : S \times t$, где:

S – площадь раны при предшествующем измерении;

S_n – площадь раны при последующем измерении;

t – количество дней между измерениями

Измерения площади ран проводили на 2-й день после нанесения, затем на 4-е, 6-е, 8-е и 14-е сутки после нанесения ран, при этом проводя ежедневную оценку клинического состояния животного.

Для диагностики коров на скрытый мастит использовали подсчет соматических клеток на анализаторе молока вискозиметрическом «Соматос Мини». В колбу анализатора вводятся молоко и водный раствор препарата «Мас-топрим». После этого включается мотор, исследуемый состав перемешивается с помощью блока перемешивания, который совершает вращательные движения на 160° . Полученная смесь по завершении процесса вытекает через капилляр. Запускается оптический датчик, а затем секундомер. Когда вытекание исследуемого состава прерывается или завершается, секундомер срабатывает.

Микроконтроллер рассчитывает общее время вытекания молочной смеси за 58 сек., переводит это время в количество соматических клеток в молоке и отображает на индикаторе.

После вытекания смеси и промывки колбы и капилляра дистиллированной водой анализатор готов к проведению следующего измерения.

Проводили экспресс-диагностику скрытого мастита с использованием препарата Масттест на пластинке типа МКП-1. В каждое углубление пластинки из соответствующей четверти вымени надаивают по 1 мл молока и добавляют 1 мл димастина из бутылки с пипеткой-автоматом. Смесь молока с реактивом перемешивают палочкой в каждой лунке в течение 10-15 секунд

Учет реакции проводили по вязкости желе:

- отрицательная реакция – однородная жидкость (–);
- сомнительная реакция – следы образования желе (±);
- положительная реакция – ясно видимый сгусток (от слабого до плотного), который можно выбросить из луночки палочкой (+).

Общую микробную обсеменённость кожи сосков вымени и секрета молочной железы до и после применения средства «Биомастим» изучали на 12 клинически здоровых коровах. Животные были распределены на 2 группы по 6 коров. Доеение коров проводилось в коровнике с линейной дойкой. Животным опытной группы на соски вымени сразу после доения наносили средство «Биомастим» при помощи распыскивателя типа «Росинка». Животным контрольной группы соски вымени обрабатывали средством после доения «HD Udder Stabilizer» методом погружения соска в пластиковый стаканчик с средством.

Перед дойкой 1 раз в неделю в течение 5 недель у коров опытной и контрольной группы брали смывы с поверхности кожи соска вымени, до обмывания вымени и после него, при помощи стерильного зонд-тампона – тупфер, для подсчета общей микробной обсемененности. Пробы секрета из всех долей вымени брали в стерильный контейнер для сбора биологических жидкостей.

Для проведения испытаний делали ряд последовательных десятикратных разведений пробы (смыва) до 10^{-20} . Брали по $1,0 \text{ см}^3$ образца из каждой пробирки и по отдельности вносили в пробирки с 9 см^3 стерильной дистиллированной воды, получая первое разведение смыва, затем 1 см^3 переносили во

2-ю пробирку с 9 см³ стерильной дистиллированной воды, получая разведение 10⁻². Операцию повторяли до разведения 10⁻²⁰. После тщательного перемешивания стерильно переносили по 1 см³ разведенного образца из каждой пробирки в микробиологические чашки, в которые стерильно заливали по 15 см³ расплавленного и охлажденного до 45⁰С мясопептонного агара. Чашки помещали в термостат на 24 часа при температуре 37⁰ С. Учет результатов производили через 24 часа путем подсчета выросших колоний на число жизнеспособных клеток в млн/см³ и определяют по формуле:

$$X=N \times 10^p, \text{ где}$$

N- количество выросших колоний

p- порядковый номер десятикратного разведения.

Для определения количества микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* делали последовательные десятикратные разведения, а затем из каждой пробирки переносили по 1 см³ полученного образца в стерильную чашку Петри и заливали по 15 см³ расплавленным и охлажденным до 45⁰С агаром эндо. Определение количества микроорганизмов семейства *Staphilococcus* осуществляли аналогично, используя в качестве питательной среды желточно-солевой агар. Для определения лактобактерий применяли лактобакагар. Посевы помещали в термостат при температуре 37⁰С на 24 ч. Учет результатов осуществляли путем подсчета выросших колоний по формуле, указанной выше.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Распространение и сезонность возникновения маститов в хозяйствах Краснодарского края.

Проведенный анализ статистических данных, представленный Департаментом ветеринарии Краснодарского края, позволил установить, что в Выселковском районе Краснодарского края за две тысячи семнадцатый – две тысячи девятнадцатый год было исследовано на мастит 507141 голов дойного стада коров. Анализ общественного сектора животноводства показал, что заболеваемость коров маститом составляет 3,9% от всего поголовья дойных коров, при этом выявлено 19778 случая заболевания коров. При этом в 12063 случаях заболевание является повторным, что составляет 61% исследованных животных.

Мониторинг заболеваемости коров маститом в Тихорецком районе Краснодарского края за 2017-2019 год позволил выявить из 4740 голов дойного стада, в общественном секторе животноводства, 237 случаев заболевания коров маститом, из которых 137 случаев являются рецидивами (58%).

В Кореновском районе Краснодарского края за 3 года исследования нами было установлено, что из 11400 коров, мастит выявлен в 684 случаях, то есть заболеваемость коров маститом в данном районе составила 6 %. При этом повторные случаи заболевания регистрировались в 478 случаях (70 %).

Анализ заболеваемости коров маститом в зависимости от времени года (помесячно), а также по клинической форме проводили на базе хозяйства ФГУП «Кореновское» Кореновского района Краснодарского края. Это связано с тем, что в этом районе на протяжении 3-х последних лет фиксировалось максимальное количество повторных случаев заболевания коров маститом. Для достоверности исследования провели подобные исследования в хозяйстве предгорно-климатической зоны Краснодарского края – ООО «Смоленское» Северского района Краснодарского края.

Согласно проведенной акушерско-гинекологической диспансеризации, в 2017-2019 годах пик заболеваемости клиническим маститом в этих хозяйствах приходился на осенне-зимние месяцы, а именно на период с сентября по январь (таблица 1, рисунок 1). Следует отметить, что средние показатели заболеваемости маститом по стаду в хозяйстве Северского района значительно выше и составляют примерно 10,6 %. Коровы содержатся в корпусах, содержание беспривязное, моцион отсутствует. В хозяйстве отмечено резкое колебание заболеваемости маститом, что может быть также связано с неудовлетворительными санитарными условиями и нарушением правил доения. Помимо этого, в хозяйстве отмечаются резкие перепады температуры в течение холодного времени года в разное время суток от плюсовых до минусовых. В июне-июле отмечается заболеваемость маститом, что можно объяснить чрезмерным потреблением животными воды, большим расплодом мух и недостаточной обработкой вымени до и после доения. В хозяйствах центральной части края содержание коров привязное, коровы выпасаются в базах. В данном хозяйстве высокая заболеваемость маститом отмечена в апреле и сентябре, что можно связать с установлением большой разности ночных и дневных температур в сочетании с высокой влажностью воздуха.

В целом, заболеваемость маститом в хозяйстве ФГУП «Кореновское» существенно ниже, чем в ООО «Смоленское». Так средняя заболеваемость по стаду составила 2,2 %, отмечена меньшая амплитуда колебаний заболеваемости коров в разное время года, максимальный процент заболеваемости составил 3,54%, а минимальный – 1,25%.

Таким образом, мы установили, что заболеваемость маститом в хозяйствах зависит от условий содержания, кормления, соблюдения санитарных норм при доении, обработки сосков до и после доения, а также от времени года.

Таблица 1 – Распределение клинических маститов по месяцам года в хозяйствах ООО «Смоленское» и ФГУП «Кореновское»

Месяц	ООО «Смоленское»		ФГУП «Кореновское»	
	Кол-во голов, больных маститом	% от дойного стада (n=550)	Кол-во голов, больных маститом	% от дойного стада (n=480)
Январь	57	10,36	17	3,54
Февраль	29	5,27	15	3,13
Март	51	9,27	11	2,29
Апрель	43	7,81	17	3,54
Май	30	5,45	13	2,71
Июнь	84	15,27	11	2,29
Июль	46	8,36	8	1,67
Август	28	5,09	6	1,25
Сентябрь	28	5,09	16	3,33
Октябрь	108	19,64	9	1,88
Ноябрь	104	18,91	6	1,25
Декабрь	92	16,73	15	3,13

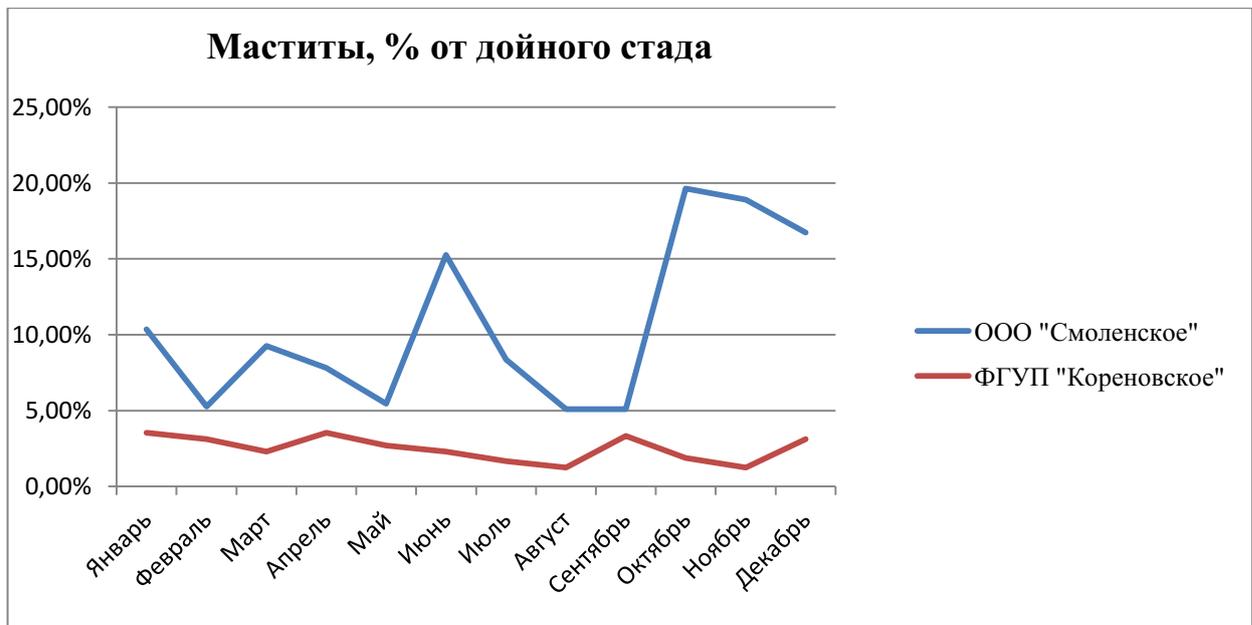


Рисунок 1 – Распределение клинических маститов по месяцам года в хозяйствах ООО «Смоленское» и ФГУП «Кореновское».

Из 844 случаев клинического мастита, диагностированных в хозяйствах в течение 2018 года, имело место следующее распределение клинических форм заболевания: 314 случаев (37,20%) приходилось на серозный мастит, в 419 (49,64%) случаях диагностировали катарально-гнойный мастит и в 111 случаях (13,15%) был диагностирован геморрагический мастит (рисунок 2).



Рисунок 2 – процентное распределение клинических форм мастита в хозяйствах ООО «Смоленское» и ФГУП «Кореновское».

В зависимости от физиологического состояния животных, наиболее часто маститы диагностировали в период лактации (652 случая или 77,25%), реже – в период запуска (147 случаев или 17,42%) и наиболее редко в период сухостоя (45 случаев или 5,33%) (рисунок 3).



Рисунок 3 – Возникновение маститов в различные периоды

Рассматривая полученные результаты, мы констатируем тот факт, что коровы заболевают маститом наиболее часто в период лактации. Это связано по нашему мнению с тем, что в данный период обслуживающий персонал, а также ветеринарные специалисты уделяют большее внимание лактирующим животным и диагностируют мастит достаточно быстро, в результате чего, впоследствии, ими назначается определенное лечение.

Животным, находящимся в периоде от запуска до родов, в промышленном животноводстве, к сожалению, уделяется меньше времени и внимания обслуживающим персоналом ферм. Однако и заболеваемость коров маститом в этот период не настолько велика и составляет 5,33%, но стоит отметить, что практически все животные, у которых регистрируют заболевание в этот период даже после примененной терапии, заболевают маститом сразу после отела.

Следует отметить, что специалистами ферм данное заболевание начинает регистрироваться только после отела, что пагубно отражается на качестве и количестве молока, а также ведет к атрофии долей вымени.

Исследования животных на скрытый мастит проводятся в хозяйствах регулярно с использованием препарата «Масттест» на пластинке ПМК-2. Распространение субклинических форм мастита не имело выраженной вариабельности в течение года и в целом колебалось в диапазоне от 7,50 до 12,55 процентов от дойного стада, при этом в хозяйстве ООО «Смоленское» также отмечалась более высокая заболеваемость коров скрытым маститом (таблица 2). Соотношение клинических и субклинических форм маститов в данных хозяйствах отражено на рисунке 4.

Таблица 2 – Распределение субклинических маститов по месяцам года в хозяйствах ООО «Смоленское» и ФГУП «Кореновское»

Месяц	ООО «Смоленское»		ФГУП «Кореновское»	
	Кол-во голов, больных маститом	% от дойного стада (n=550)	Кол-во голов, больных маститом	% от дойного стада (n=480)
Январь	62	11,27	41	8,54
Февраль	64	11,64	41	8,54
Март	58	10,55	40	8,33
Апрель	63	11,45	38	7,92
Май	69	12,55	40	8,33
Июнь	51	9,27	41	8,54
Июль	58	10,55	36	7,50
Август	62	11,27	40	8,33
Сентябрь	59	10,73	38	7,92
Октябрь	63	11,45	39	8,13
Ноябрь	69	12,55	41	8,54
Декабрь	68	12,36	40	8,33

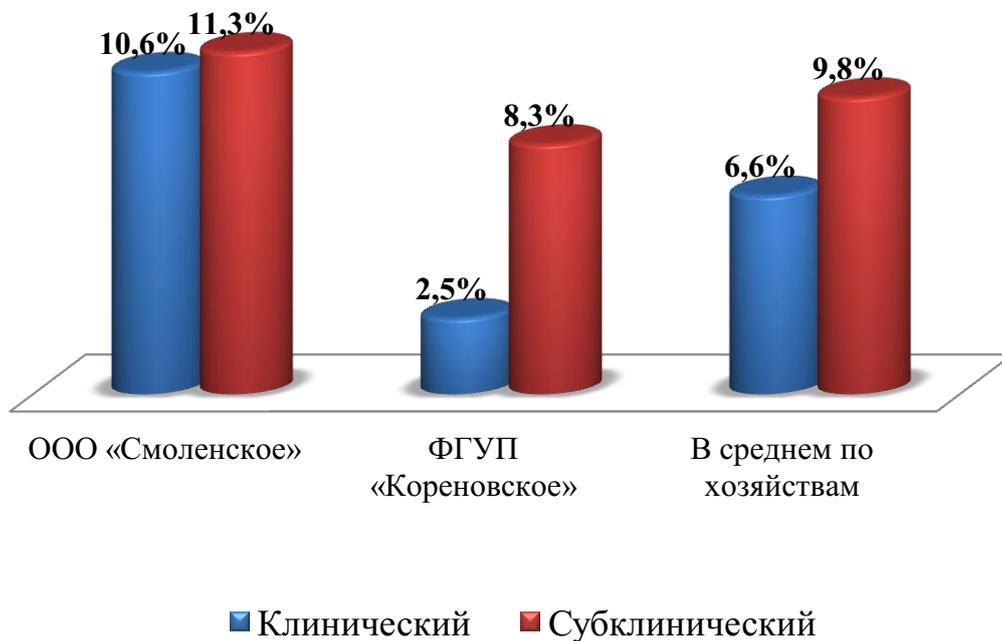


Рисунок 4 – Сопоставление клинических и субклинических форм маститов в хозяйствах ООО «Смоленское» и ФГУП «Кореновское»

Для подтверждения этиологической роли условно-патогенной и патогенной микрофлоры при заболевании коров маститом, мы провели бактериологические и микологические исследования 25 проб секрета вымени от больных маститом коров.

Нами была выделена следующая условно-патогенная микрофлора: в 12 пробах *St. aureus*, в 10 пробах *E. agglomerans*, в 10 пробах *Pr. mirabilis*, в 9 пробах *St. scuri*, в 9 пробах *Kl. rinoscleromatis*, в 4 пробах *Kl. Cryocrescens*, в 2 пробах *Kl. pneumoniae* ssp. ozaenae, в 2 пробах *E. aerogenes*, в 1 пробе *Str. agalactiae*, в 1 пробе *Sh. desinteriae*.

Отмечено, что в 17 пробах выделен условно-патогенный грибок *S. albicans*. Вся выделенная из секрета молочной железы микрофлора была представлена ассоциациями, наиболее часто из которых встречались ассоциация из таких микроорганизмов, как *St. scuri* + *Kl. rinoscleromatis* + *Pr.*

mirabilis + *C. albicans* и *St. aureus*, *Kl. rinoscleromatis*, *E. agglomerans*, *C. Albicans*.

Микрофлора, выделенная из секрета вымени коров, больных маститом, была чувствительна к норфлоксацину, ципрофлоксацину, цефтиофуру, энрофлоксацину, цефотаксиму, цефалексину, гентамицину и оказалась слабо чувствительна или не чувствительна к амфотерицину, линкомицину, канамицину.

Уже неоднократно доказывалось, что в этиопатогенезе мастита основную роль играет условно-патогенная микрофлора, которая всегда присутствует на коже сосков вымени. Причем данная микрофлора способна вызвать заболевание маститом особенно во время доения.

Нами было проведено исследование по определению динамики бактериального загрязнения резины доильных стаканов в зависимости от количества выдоенных коров (таблица 3)

Таблица 3 – Динамика бактериального загрязнения резины доильных стаканов в зависимости от количества выдоенных коров ($M \pm m$, $n = 5$)

Возраст животных (лактация)	Перед началом доения, тыс. КОЕ/см ²	После выдаивания пяти коров, тыс. КОЕ/см ²	После выдаивания десяти коров, тыс. КОЕ/см ²
1	2,2±0,3	548,4±30,1	1348,2±44,9
2	2,4±0,7	623,4±27,4	1503,4±33,7
3	2,3±0,2	834,7±51,2	1573,9±57,9
4	2,3±0,2	826,7±59,1	1510,3±58,2

Анализ полученных результатов указывает, что бактериальное загрязнение сосковой резины доильных стаканов перед доением было в пределах 2,1-2,3 тыс. КОЕ/см². После проведения машинного доения пяти и десяти голов коров бактериальное загрязнение резины доильных стаканов у животных первой лактации увеличилось в 249,2 и 626,4 раза у животных второй

лактации в 259,7 и 626,4 раза соответственно. Данные исследования указывают на возможность перезаражения коров и передачи условно-патогенной микрофлоры от животного к животному при проведении машинного доения. Поэтому использование средств как после доения, так и моющих средств перед доением должно быть обязательным технологическим процессом в процессе машинного доения.

Неоднократно как российскими, так и зарубежными учеными доказывалось, что чем больше будет в стаде коров, больных субклиническим маститом, тем выше вероятность роста количества соматических клеток в сборном молоке. Это обстоятельство в последние годы для многих хозяйств является огромной проблемой. Для надлежащего контроля мастита в стаде недостаточно обследовать коров ежедекадно, их нужно осматривать постоянно.

В странах ЕС, США, в Канаде в этих случаях рекомендуют ежедневное измерение показателя количества соматических клеток в молоке коров и на основании полученных данных судят о заболеваемости коров скрытым маститом.

Нами была апробирована методика определения процента больных коров скрытым маститом в хозяйстве ООО «Смоленское» при помощи определения числа соматических клеток в сборном молоке. Полученные экспериментальные данные приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Зависимость между содержанием соматических клеток в сборном молоке и уровнем мастита у коров на молочной ферме

Среднее число соматических клеток в пробе сборного молока, тыс./см ³	Уровень мастита в стаде, %
До 200	7-9
300–400	10–13
500–600	14–22

Как свидетельствуют данные таблицы 4, с увеличением количества соматических клеток в сборном молоке уровень заболеваемости коров маститом в стаде значительно растёт.

Таким образом, опираясь на полученные данные, мы можем рекомендовать ветеринарным специалистам в хозяйствах контролировать процент распространения мастита на основании увеличения соматических клеток в сборном молоке.

Многочисленными исследованиями Olde Riekerink R. G. M., Barkema H. W. et al (2010); O'Driscoll K., Boyle L., French P. et al (2008) доказано, что с повышением уровня соматических клеток в молоке наблюдается увеличение концентрации жира, белка, общего протеина и снижения содержания лактозы. Наряду с изменениями состава молока при повышенном уровне соматических клеток в молоке снижаются его технологические свойства; в том числе устойчивость к нагреванию, инертность сычужного фермента, происходят изменения ферментного статуса молока, что негативно влияет на продукты молокопереработки, в частности сыра.

Таким образом, принимая во внимание распространённость маститов и большое количество повторных случаев заболевания можно заключить, что разработка новых профилактических средств, сдерживающих распространение маститов в стадах коров, является актуальной проблемой современной ветеринарии.

3.2 Состав и технология получения средства «Биомастим»

Большинство широко применяемых на сегодняшний день средств для обработки сосков вымени после доения содержат в качестве действующих веществ различные полимерные соединения йода или хлоргексидин. Применение данных антисептиков в столь широких масштабах животноводства неизбежно приводит к повышению устойчивости микрофлоры, в том числе и к формированию резистентных штаммов микроорганизмов. Поэтому мы, в соавторстве, приступая к разработке нового средства для гигиены вымени,

стремились найти иное действующее начало, способное быть эффективным, не приводя при этом к повышению устойчивости микрофлоры. В качестве такого действующего начала мы избрали пробиотические культуры штаммов *Bacillus subtilis* – В-5225 и *Enterococcus faecium* СТФ 1/56.

Bacillus subtilis – В-5225 – являются аэробными подвижными спорообразующими палочками (грамм положительные), образуют эндоспоры, которые имеют центральное расположение спор. При этом *Bacillus subtilis* - В-5225 не является генетически модифицированным штаммом и является не вирулентным для человека и животных.

Enterococcus faecium СТФ 1/56 - грамм положительные палочки, которые при рассмотрении под микроскопом располагаются короткими цепочками, либо парами. Рост на твердых питательных средах данной культуры клеток представлен колониями R-формы, белого либо телесного цвета. Данная культура также не является генетически модифицированным штаммом, не патогенна для человека и животных.

Bacillus subtilis В-5225 выращивали на среде следующего состава (количество на 100%):

экстракт кукурузный	– 1,5%
кристаллогидрат сульфата магния	– 0,02%
однозамещенный фосфорнокислый калий	– 0,05%
кормовая патока	– 1,5%
хлорид кальция	– 0,02%
железо сернокислое 7- водное	– 0,0002%

Enterococcus faecium СТФ 1/56 выращивают на среде следующего состава (количество на 100%):

сыворотка сухая творожная	– 1,5%
кукурузный экстракт обработанный	– 4,0%
натриевая соль лимонной кислоты	– 0,66%

магний сернокислый 7-водный	– 0,02%
дигидроортофосфат калия	– 0,06%
кормовая патока	– 1,0%

Для получения разрабатываемого средства культуры *Enterococcus faecium* СТФ 1/56 и *Bacillus subtilis* В-5225, а также глицерин совмещают в соотношении 4:4:2. К одной части полученной смеси добавляют 9% частей стерильной дистиллированной H₂O, смешанной в отношении 1:10 с медным комплексом Хлорофиллина Е-141 (краситель).

Медный комплекс Хлорофиллина Е-141 представляет собой раствор медного хлорофиллина в воде и глицерине и состоит из: деминерализованной воды, глицерина Е 422, медного комплекса хлорофиллина Е 141 (ii), мальтодекстрина, гидроксида натрия Е 524. Обладает выраженным зеленым цветом.

Следует отметить, что глицерин является прозрачной, бесцветной сиропообразной очень гигроскопичной жидкостью без запаха, сладкого вкуса, нейтральной реакции. Смешивается во всех пропорциях с водой и этанолом, с этилацетатом (1:11), очень плохо - с этиловым эфиром (1:500), не смешивается с бензолом, хлороформом, четыреххлористым водородом, сероуглеродом и маслами. Данная аминокислотная кислота является хорошим консервантом, а также обладает рядом полезных свойств, уменьшает выделение из нейронов «возбуждающих» аминокислот, таких, как глутаминовая кислота, и повышает выделение ГАМК.

В целом компонентный состав средства «Биомастим» имеет следующий вид: вода 65,9% глицерин 20%, краситель хлорофиллин жидкий Е-141 10%, кукурузный экстракт 2,2%, меласса свекловичная 1%, сыворотка молочная 0,6%, пробиотические штаммы 0,3%.

Установление вида и цвета производили оптически при диффузном, рассеянном свете. Запах определяли с помощью органов чувств.

«Биомастим» является суспензией темно-зеленого цвета с кисловатым запахом.

Определение бактериологической чистоты проводили в соответствии с ГОСТ 28085 «Препараты биологические. Метод биологического контроля стерильности». Для этого разводили «Биомастим» в десять раз и проводили посев на плотные питательные среды. В дальнейшем чашки Петри помещали в термостат на 24, 48 и 72 часа при температуре 37,5 °С. На среде Сабуро посевы инкубировали при температуре 22 °С в течение 8 суток.

Анализ бактериологической чистоты разрабатываемого средства после доения «Биомастим» показал, что в нем не содержится посторонних микроорганизмов, что является основным правилом для контроля качества пробиотических препаратов и средств.

Изучение изменения жизнеспособности микроорганизмов, входящих в состав пробиотического средства в процессе хранения, является важным условием для контроля технологического процесса.

Результаты исследования стабильности титров микроорганизмов средства «Биомастим» представлены в таблице 5.

Для определения количества жизнеспособных микроорганизмов в течение срока хранения «Биомастим» были отобраны образцы средства в количестве 0,3 л от партии №1, произведенной 5 апреля 2017 года. Средство хранили в чистом помещении без доступа света при температуре +8°С в охлаждающей камере. В течение срока хранения периодически брались пробы средства для анализа: на момент выпуска средства, через 1 месяц от даты изготовления и через 2 и 3 месяца от даты изготовления. Анализ проводили путем подсчета жизнеспособных микроорганизмов.

Таблица 5 – Исследование стабильности титров средства «Биомастим» при хранении до 3 месяцев.

Количество жизнеспособных бактерий КОЕ/мл, не менее:	Фактический результат хранения в упаковке изготовителя при температуре +8° С		
	на момент выпуска	через 1 мес от даты изготовления	через 2мес от даты изготовления
Bacillus subtilis В-5225	1,0x10 ⁸	1,0x10 ⁷	6,5x10 ⁵
Enterococcus faecium СТФ 1/56	1,0x10 ⁸	1,2x10 ⁷	4,0x10 ⁵

Полученные результаты указывают на то, что разрабатываемое нами средство «Биомастим» обладает свойством сохранять количество жизнеспособных клеток при хранении до 1 месяца, сохраняя достаточно устойчивые титры микробных клеток. Дальнейшее изучение жизнеспособности микроорганизмов, входящих в состав средства не имело смысла, так как при дальнейшем хранении количество живых клеток снижалось, и средство не оказывало необходимого профилактического эффекта.

Помимо определения количества жизнеспособных микробных клеток средства «Биомастим», нами были проведены исследования по определению динамики рН средства в течение всего срока хранения. Для этого измеряли уровень рН каждую декаду в течение 1 месяца со дня производства средства. Данные изменения рН среды также представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Изменение рН «Биомастима» на разных сроках хранения

Срок хранения, дни	1	10	20	30
рН средства Биомастим	6,4±0,0	6,3±0,0	5,8±0,1	5,1±0,1
Кислотность, °Т	101±1,5	112,5±1,0	121,25±0,5	133,5±0,9

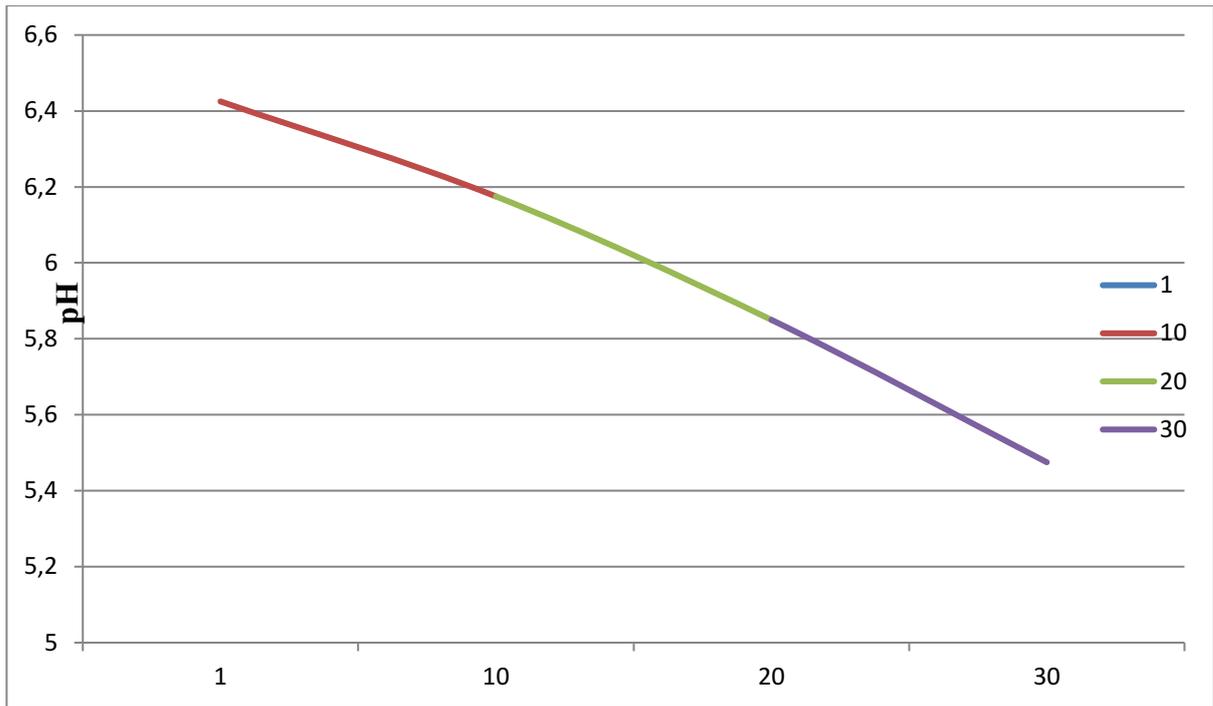


Рисунок 5 – Изменение рН «Биомастима» в течение срока хранения

На представленном рисунке 5 мы видим графическое отображение изменения рН среды «Биомастима» из слабокислой 6,4 в кислую 5,1 в течение 30 дневного срока хранения. Причем тенденция к изменению рН в средстве отмечается относительно стабильно до 20 дня, но к 30 дню эксперимента уже прослеживается более резкое снижение рН на 0,7 относительно 20 дня.

Изучение кислотообразующих свойств *Enterococcus faecium* СТФ 1/56 и *Bacillus subtilis* В-5225 осуществлялся на основе нейтрализации кислот, в которые выделяют данные микроорганизмы, избыточным количеством щелочи (NaOH) в присутствии индикатора фенолфталеина (рисунок 6).

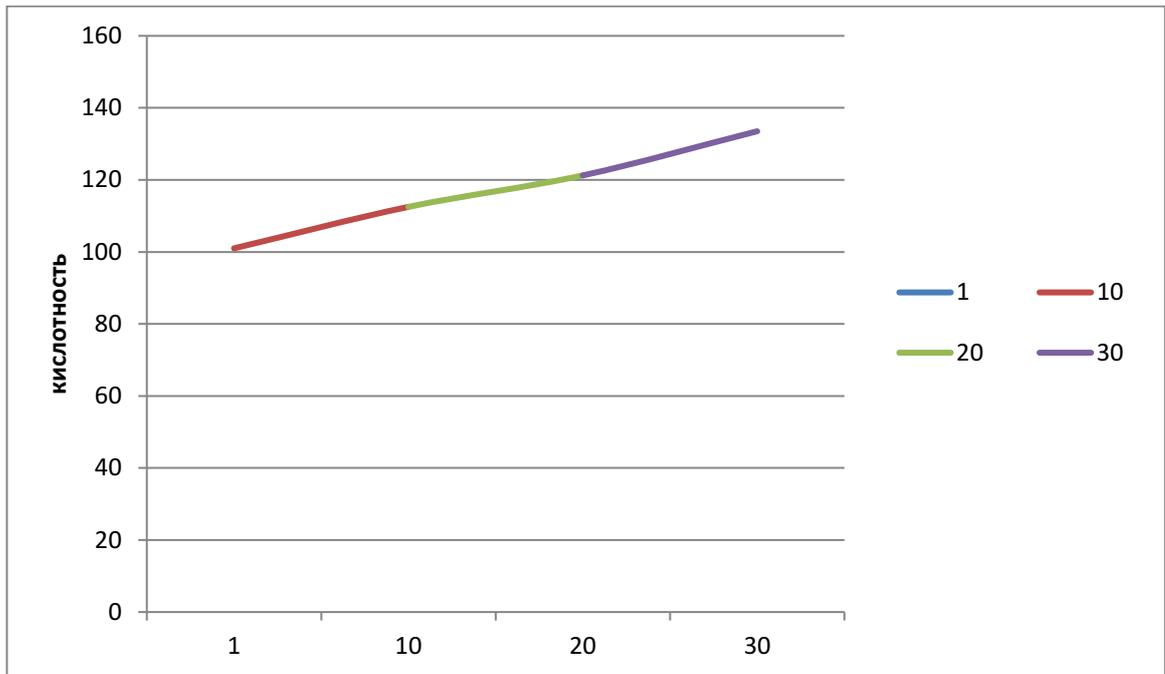


Рисунок 6 – Изменение кислотности средства по Тернеру в течение срока хранения

Анализ проведенных опытов показывает, что кислотность по Тернеру разрабатываемого нами средства «Биомастим» колеблется в течение срока хранения. Как видно из приведенного графика в первые 10 дней после выработки средства его кислотность составляет 101°T , на 20-й день отмечается повышение кислотности средства до $121,2^{\circ}\text{T}$. Причем тенденция роста кислотности отмечается вплоть до окончания срока годности средства (30 суток) и достигает 133°T .

Следует отметить, что при увеличении кислотности разрабатываемого средства пропорционально происходит снижение КОЕ микробных клеток в средстве. Причем снижение происходит ниже норм, указанных в ТУ.

3.3 Определение антимикробной активности средства «Биомастим»

Для выяснения антагонистической активности компонентов средства по отношению к полевым штаммам условно-патогенной микрофлоры, выявляе-

мой при маститах крупного рогатого скота в Краснодарском крае, была проведена серия опытов.

Определение антагонистической активности разрабатываемого средства «Биомастим» проводили в нескольких сериях.

В первой серии изучали антагонистическую активность средства «Биомастим» при синхронном посеве штаммов-пробионтов и тест-культур (*St. epidermidis*, *Kl. pneumoniae* spp. *Ozaenae*, *C. freundii*, *E. agglomerans*, *St. xylosum*, *E. coli*, *St. aureus*). Анализируя полученные результаты, мы отметили отсутствие зоны задержки роста между штаммами пробионтов и примененными тест-культурами (рисунок 7).

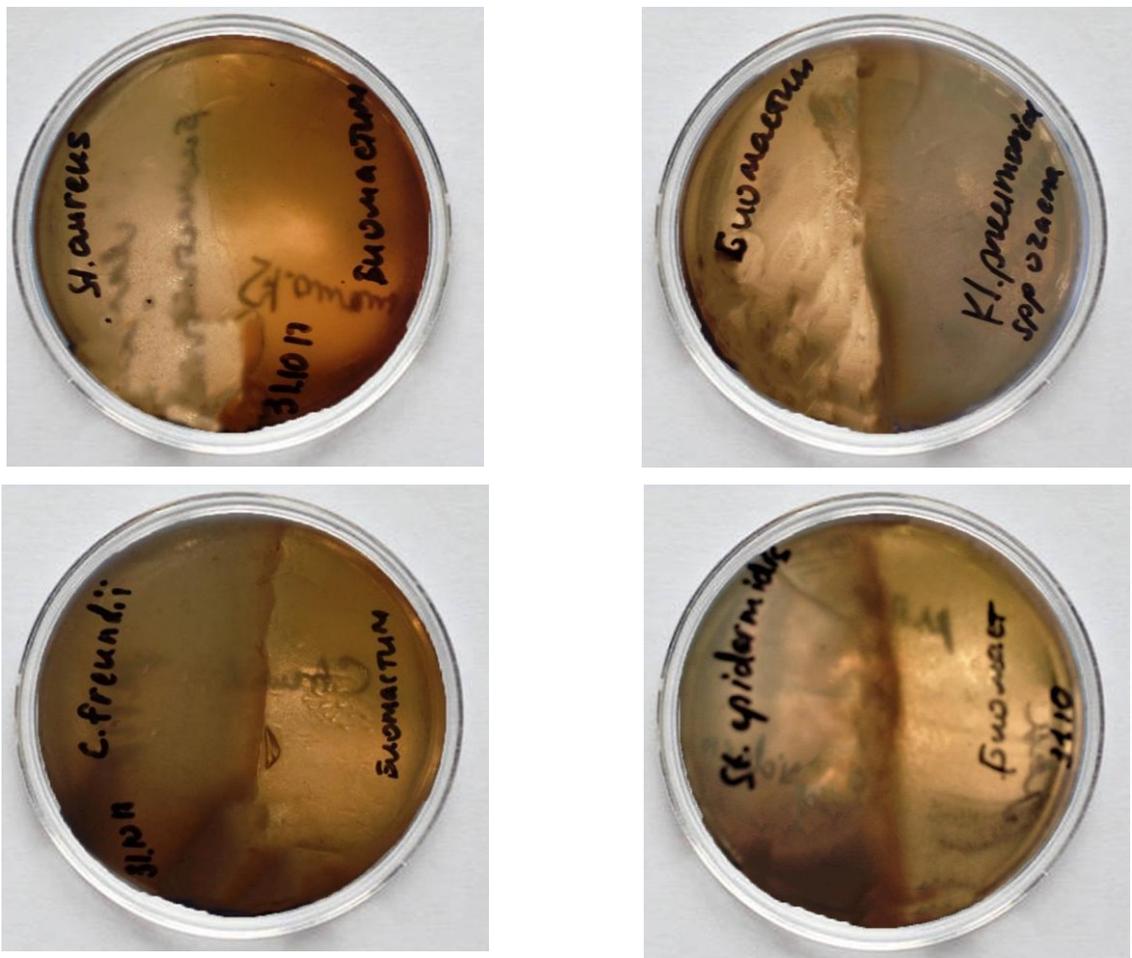


Рисунок 7 – Рост штаммов-пробионтов средства «Биомастим» при одновременном посеве с тест-культурами

Исследования, которые проводились во второй серии опыта, проводили по следующей схеме: предварительно на питательные среды высевали средство «Биомастим», а через 24 часа подсевали тест-культуру.

Подвергая анализу полученные результаты мы отмечаем, что ЗЗР между штаммами *Bacillus subtilis* и *Enterococcus faecium*, входящих в разрабатываемое средство «Биомастим», и тест-культурами округленно составляла 8,6 мм. Следует отметить, что максимальная ЗЗР регистрировалась между культурами-пробионтами и *Kl. Pneumoniaspp.Ozaenae*; *St. xylosus* – 11,6 мм. Наивысшая зона отсутствия роста между культурами-пробионтами и *S. freundii* составила 8 мм, культурами-пробионтами и *E. agglomerans* – 7,3 мм (рисунок 8).

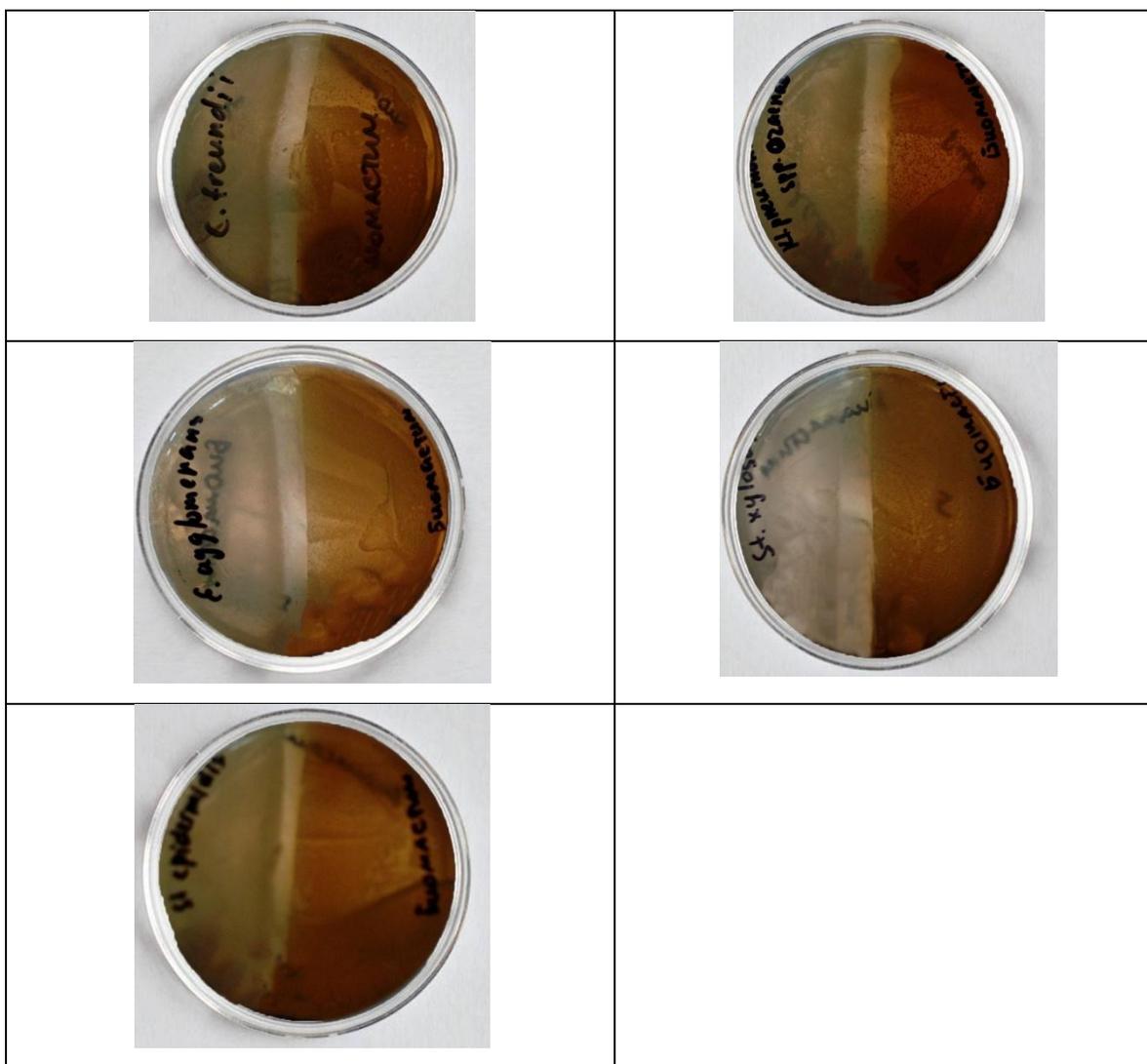


Рисунок 8 – Антагонистическая активность штаммов-пробионтов средства «Биомастим» при их предварительном посеве на среду сплошным газоном

Дальнейшие исследования антибактериальной активности разрабатываемого средства проводили при посеве «Биомастима» к тест-культурам перпендикулярным штрихом.

Минимальная зона отсутствия роста тестируемых культур микроорганизмов при перпендикулярном посеве штрихом составила 8 мм. При этом в одной из последовательностей роста *C. freundii* не регистрировали, во второй – не регистрировали роста у *St. xylosum*.

Зона задержки роста между *Kl. Pneumonia spp.* и средством «Биомастим» равнялась 11,8 мм, относительно *St. Epidermidis* и средства «Биомастим» – 12,6 мм., *E. coli*, и *St. aureus*, составила 8,4 мм (рисунок 9).

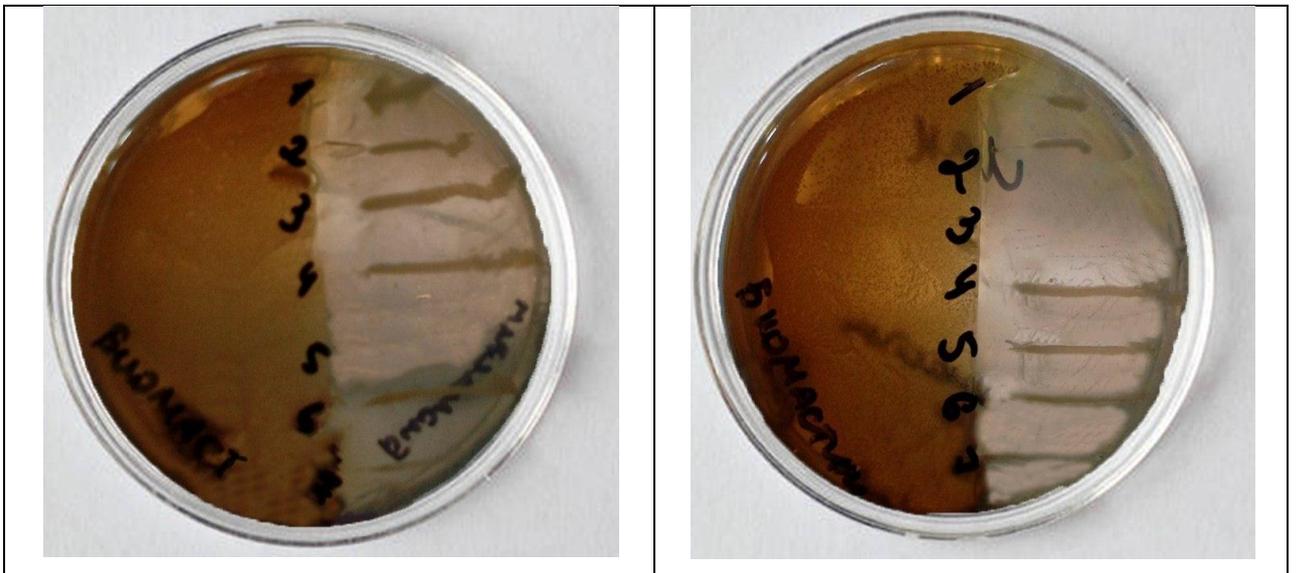


Рисунок 9 – Антагонистическая активность штаммов-пробионтов средства «Биомастим» при посеве тест-микробов перпендикулярным штрихом.

Дальнейшие исследования проводились отдельно по отношению к каждому штамму пробионту входящих в состав средства после доения.

При установлении антагонистических свойств *Bacillus subtilis* B-5225 зона отсутствия роста составила в среднем 7,6 мм. Следует отметить, что

наивысшая антагонистическая динамичность отмечалась по отношению к тест-культурам *Kl. pneumoniae spp. Ozaenae*, *C. freundii* и *St. Xylosus*, которая составляла 10,3 мм.

Следует отметить, что по отношению к культурам *E. coli* и *St. Aureus* ЗЗР была наименьшей и составляла 5,5 мм.

Анализируя активность штамма *Enterococcus faecium* СТФ 1/56 к вышеперечисленным тест-культурам, следует отметить, что в среднем она составляла 8,3 мм. Однако, наивысшая активность отмечалась в отношении культуры *St. xylosus* и *St. aureus* и составила 10 мм. Наименьшая антагонистическая активность наблюдалась в отношении штамма *C. freundii* и составила 6,1 мм.

Таким образом, нами установлено, что активность средства «Биомастим» по отношению к используемым тест-культурам выше по сравнению с отдельно взятыми штаммами – пробионтами.

В следующем опыте мы провели определение антагонистического действия средства «Биомастим» через 7, 14, 21 день, от даты производства средства.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что зона задержки роста по отношению к тест-культурам, используемым в предыдущем опыте, отличались в незначительных показателях на разных сроках хранения средства. Так, зона задержки роста *E. coli* на 7, 14 и 21 день хранения средства составляла 8,3, 7,0, 8,0 мм. К *S. aureus* – 7,9, 7,9 и 7,6 мм. К *K. pneumoniae* – в среднем 11,2 мм.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что средство «Биомастим» сохраняет свое антимикробное действие на протяжении всего срока хранения.

3.4 Определение острой и хронической токсичности средства «Биома- стим»

О токсическом действии средства судили по клиническому состоянию лабораторных животных; специфике их поведения; энергичности и характеру проявляемой активности; реакции на тактильные, шумовые и оптические раздражители; состоянию шерстного и кожного покрова; окраске слизистых оболочек; потреблению корма и воды.

Результаты опытов по изучению острой токсичности средства представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Результаты исследования острой токсичности средства «Биома-стим».

Группа	Вид животных	Количество животных	Объем введения, мл	Пало/выжило
1	мыши	10	0,4	0/10
2	мыши	10	0,6	0/10
3	мыши	10	0,8	0/10
4	мыши	10	1,0+0,7 мл (через 6 ч.)	0/10
Контроль	мыши	10	1,0	0/10

В результате проведенных исследований установлено, что применение средства «Биомастим» в определенных дозах, в организме лабораторных животных не вызывает клинических признаков интоксикации, а также их дальнейшей гибели. После применения средства клиническое состояние мышей оставалось удовлетворительным. Лабораторные животные в опытных группах вполне соответствующе реагировали на факторы внешней среды, аппетит не нарушался. Слизистые оболочки ротовой полости, конъюнктивы были розового цвета. Мыши обладали гладким, блестящим шерстным покровом, шерсть не слипалась и не взъерошивалась. Тургор кожи соответствовал физиологической норме. Ректальная температура тела была в референсных значениях, акт дефекации безболезнен.

Вводимая нами доза 1,0 мл для белых мышей, с массой тела в среднем 30 г, являются максимально допустимым объемом жидкости для однократного внутрижелудочного введения. В связи с этим четвертой опытной группе животных через 6 ч после первого введения добавки, дополнительно вводили 0,7 мл. В пересчете на (10 % медного хлорофиллина) вводимая доза составила более 5666 мг/кг массы тела для белых мышей. Введение более высоких доз не является целесообразным. Величины ЛД₅₀ и ЛД₁₀₀ не представилось возможным подсчитать.

Таким образом, при исследовании острой токсичности средства «Биомастим» установлено, что данное средство в соответствии с нормативами ГОСТ 12.1.007-76 (таблица 8), относится к 4-му классу опасности – вещества малоопасные.

Таблица 8 – Классификация химических веществ по степени опасности (по ГОСТ 12.1.007-76)

Показатель	1-й класс (чрезвычайно опасные)	2-й класс (высоко опасные)	3-й класс (умеренно опасные)	4-й класс (малоопасные)
Средняя смертельная доза при введении в желудок, мг/кг	Менее 15	15-150	151-5000	Более 5000

Основной задачей исследований по определению хронической токсичности средства «Биомастим» явилось определение уровней токсических доз для животных и изучение его возможного токсического действия на органы и ткани при многократном применении. Данные исследования проводили на крысах.

Для более точного определения поведенческих актов и поз лабораторных животных под воздействием тестируемого средства крыс опытных и контрольной групп по одиночке помещали в картонную коробку площадью 1 м², разделенную на 16 квадратов, с бортами высотой 20 см. и несколькими отверстиями в полу и регистрировали ее поведение (таблица 9).

Таблица 9 - Локомоторная активность беспородных крыс, находящихся под воздействием тестируемого средства

Показатель	Контрольная (n=10)	Опытная 1 (n=10)	Опытная 2 (n=10)
Количество центровых посещений	0,5±0,167	0,4±0,163	0,7±0,153
Мочеиспускание	0,2±0,133	0,1±0,1	0,4±0,163
Дефекация	0,6±0,163	0,7±0,153	0,6±0,163
Количество посещенных квадратов (M ± m)	22±0,298	21,9±0,458	21,9±0,458
Пристеночные стойки (M±m)	11,4±0,267	11,3±0,335	11,5±0,563
Свободные стойки (M±m)	6,1±0,18	6±0,298	5,8±0,327

Оценивая проведенные опыты можно резюмировать, что средство «Биомастим» в испытанных дозах не оказывает токсического действия на подопытных лабораторных животных. Во время проведения опыта мы не регистрировали у крыс изменений в их клиническом статусе, поведении и аппетите. Животные были динамичны, поведенческие реакции и рефлексy сохранены, они обладали гладким, блестящим шерстным покровом, шерсть не сплпалась и не взъерошивалась. На основании критериев, разработанных Hall C.S. (1934), мы можем утверждать об отсутствии изменений у крыс ориентировочных реакции и эмоциональной реактивности животных.

Нами не отмечено изменений со стороны пищеварительного тракта и системы мочеотделения.

Определены изменения массы тела лабораторных животных в эксперименте. Установлено, что у крыс, получавших средство, масса тела существенно не отличалась от животных контрольной группы (таблица 10).

Таблица 10 – Динамика изменения массы тела крыс при длительном применении средства «Биомастим» ($M \pm m$; $n=10$)

Группы	Масса тела в начале опыта, г	Масса тела в конце опыта, г	Клинические симптомы интоксикации	Выживаемость, %
Опытная 1	186,4±1,81	221,4±1,79	не выявлены	100
Опытная 2	184,1±1,22	216,2±1,70	не выявлены	100
Контроль	186,6±1,34	226,8±1,69	не выявлены	100

После окончания эксперимента 5 крыс из каждой группы были подвергнуты эвтаназии для получения крови и дальнейшего проведения гематологических и биохимических исследований, а также патологоанатомического изучения внутренних органов и тканей. Кроме того, в начале эксперимента был осуществлен забор крови для проведения фоновых исследований ($n=5$).

Анализ проведенных нами патоморфологических исследований дает возможность утверждать об отсутствии токсического воздействия тестируемого нами средства на органы и системы организма опытных крыс. Однако следует отметить цвет содержимого кишечника, который имел характерный для цвета средства «Биомастим» зеленый цвет (рисунок 10).



Рисунок 10 – Кишечник крысы на 28-е сутки после длительного введения средства «Биомастим» без видимых патологоанатомических изменений

Анализ веса внутренних органов крыс опытных групп указывает на отсутствие токсических явлений в организме животных в период применения средства «Биомастим», что отражено в таблице 11.

Таблица 11 – Влияние средства «Биомастим» на вес внутренних органов, М±m

Органы	Контроль	Опытная 1	Опытная 2
Сердце, г.	0,64±0,12	0,72±0,11	0,68±0,22
Печень, г.	6,62±0,21	7,1±0,14	7,18±0,14
Селезенка, г.	0,83±0,20	0,85±0,12	0,84±0,14
Желудок, г.	6,62±0,13	6,82±0,01	6,75±0,15

Изменения морфо-биохимических показателей крови при многократном применении средства «Биомастим» отражены в таблице 12.

Как видно из представленных данных, достоверных различий между гематологическими показателями у животных опытных и контрольной групп не отмечается. Таким образом, длительное введение в рацион исследуемого

образца средства «Биомастим» лабораторным животным не привело к развитию токсических явлений, и не позволило установить его негативное влияние на организм.

Таблица 12 – Влияние средства «Биомастим» на морфо-биохимические показатели крови крыс при длительном применении ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Фон	Контроль	Опытная 1	Опытная 2
RBC, $10^{12}/л$	5,9±0,32	6,3±0,81	7,1±0,72	6,8±0,52
WBC, $10^9/л$	7,0±0,79	6,6±0,69	7,6±0,63	6,9±0,53
HGB, г/л	127,0±5,01	132,0±5,08	122,2±4,66	140,8±5,58
LYM, $10^9/л$	6,2±0,86	7,0±0,79	6,8±0,53	7,8±0,49
Общий белок, г/л	72,4±5,74	76,4±6,95	68,2±4,05	78,1±4,36
Холестерин ммоль/л	1,3±0,18	1,4±0,77	0,9±0,16	1,1±0,11
ЩФ, Ед/л	1155,5±87,66	1082,2±63,69	1173,34±61,9 4	887,5±171,09
Глюкоза, ммоль/л	7,8±0,66	8,4±0,83	8,8±0,18	7,5±0,27
АлАт, Ед/л	90,4±4,25	86,2±5,39	93,8±8,061	91,1±4,31
АсАт, Ед/л	201,0±9,54	194,3±7,34	203,4±8,17	204,4±9,3
Мочевина, ммоль/л	6,1±0,55	6,4±0,48	5,7±0,27	6,0±0,32
Билирубин, общий мкмоль/л	6,5±0,54	6,6±0,86	6,7±0,53	5,9±0,41
Креатинин, мкмоль/л	79,9±5,98	83,5±3,49	86,3±6,63	77,0±2,16
Фосфор, ммоль/л	2,8±0,29	2,6±0,17	2,4±0,24	2,7±0,31
Кальций, ммоль/л	1,8±0,13	1,4±0,2	1,5±0,29	1,7±0,24

Исследование раздражающего действия средства «Биомастим» на слизистые оболочки проводили на 6-ти кроликах породы «Калифорнийский».

Для этого пальцем оттягивали нижнее веко левого глаза ближе к внутреннему углу конъюнктивального мешка и вводили несколько капель средства. «Биомастим» вводили с помощью пипетки в дозе 2 капли. В дальнейшем на протяжении 60 секунд прижимали слезно-носовой канал. Подобную процедуру проводили и с правым глазом тем же подопытным животным с одной лишь разницей, что для контроля вводили 0,9% раствор натрия хлорида.

Влияние изучаемого вещества на конъюнктиву глаза оценивали через 5 минут, 0,5, 1, 3, 6, 24, 48 часов. При этом обращали внимание на степень гиперемии, отечность склеры глаза, роговицу. Отслеживали сужение и расширение зрачка при воздействии света.

Проведенные тесты со средством «Биомастим» позволяют утверждать, что он не обладает раздражающим действием, так как нам не удалось обнаружить патологических изменений. Клиническое состояние животных находилось в физиологической норме. Температурный показатель тела, частота дыхания, пульса находились в референтных значениях. Сосуды конъюнктивы были не кровенаполнены, состояние роговицы и век были сопоставимы с контрольным глазом.

Нами также было проведено определение раздражающего действия средства «Биомастим» на кожные покровы. Так как данное средство будет ежедневно наноситься на кожу сосков вымени в течение нескольких месяцев, то, согласно методике исследования, в таком случае концентрация исследуемого вещества должна превышать концентрацию вещества, применяемую в практике.

Для этого производителем средства ООО «Биотехагро» нам была предоставлена партия средства (концентрата), в которой концентрация основных действующих веществ была превышена в 10 раз.

Опыты проводились на 5 кроликах
обоюго пола (2 самца 3 самки) весом не менее 2 кг.

Так как средство будет применяться в ветеринарной практике многократно, нами был применен метод многократной аппликации.

При многократном воздействии в течение 21 дня мы регистрировали состояние кожи в месте аппликации через 1 ч после удаления образца и непосредственно перед следующей аппликацией. После последней аппликации и снятия образцов регистрировали состояние участка через 1, 24, 48 и 72 ч.

При многократном воздействии определяли индекс суммарного раздражения, при этом для каждого животного складывают баллы раздражения, включая эритемы и отеки, в каждый интервал времени. Делят полученное число на общее число наблюдений и получают средний балл раздражения для каждого животного.

В результате проведенных исследований нами не было установлено специфических кожных реакций у опытных кроликов в течение всего периода проведения опыта.

В связи с этим мы констатируем тот факт, что средство «Биомастим» не обладает раздражающим действием как при применении на слизистые оболочки, так и при длительном использовании концентрата при накожных аппликациях.

3.5 Изучение ранозаживляющего действия средства «Биомастим»

Ранозаживляющее действие средства определяли на кролике породы «Калифорнийский», нанеся животному искусственное ранение в области правого подвздоха.

Параметры расчетов скорости ранозаживления отражены в таблице 13 и на рисунке 11.



Рисунок 11 – Опытная и контрольная группа животных с компьютерным наложением измерительной сетки

На основании проведенных опытов нами было установлено, что скорость заживления в сутки экспериментально нанесенной раны кролику составляет 24,37%, при использовании средства «Биомастим». В качестве препарата аналога нами использовалась мазь «Биосептин». Нами отмечалась более медленное заживление раневой поверхности, которое составило 21,42%. Таким образом, среднесуточная скорость заживления раневой поверхности у кролика при использовании опытного средства была выше на 2,94%. Следует отметить, что полное заживление обоих ранений произошло одновременно – на 14-е сутки после нанесения ран и заживление происходило по первичному натяжению.

Таблица 13 – Динамика заживления ран у кролика при использовании средств «Биомастим» и «Биосептин мазь»

День после нанесения раны	«Биомастим»		«Биосептин мазь»
	S, мм ²	ΔS , %	S, мм ²
2	210	--	147
4	102	25,71	92
6	49	25,98	60
8	28	21,43	27
14	0	--	0

Сохранность во время проведения опыта составила 100%.

3.6 Отработка метода нанесения средства на соски вымени коров

В настоящее время на ветеринарном фармацевтическом рынке имеется довольно большой выбор различных средств для обработки сосков вымени после доения. При этом различные фирмы предлагают не только отличающиеся по действующему составу средства, но по методу применения. В ос-

новном, предлагают метод окунания соска в стакан и метод обработки соска спреем.

Нами было апробировано два этих метода применения относительно разрабатываемого нами средства. Для этого нами было использовано 40 клинически здоровых коров по 20 животных в группе. Одним животным средство наносили методом окунания соска в стакан, а второй группе животных средство наносили на соски, используя распылитель «Росинка». Опыт проводился в течение 30 дней

Таблица 14 - Отработка метода применения «Биомастима».

Метод применения	Количество используемого средства на 1 обработку 1-го животного в среднем в мл.	Количество животных заболевших клиническим маститом	Количество животных заболевших скрытым маститом
Окунания соска в стакан	8,35±1,27	-	1
Распыление на сосок	5,01±1,02	-	1

Анализируя проведенный эксперимент, нами было отмечено, что при применении средства «Биомастим» методом окунания соска в стакан, мы отмечали, что обслуживающий персонал погружал сосок полностью в стакан, что приводило к перерасходу средства. Хотя на проведенном инструктаже персонала указывалось, что нужно обработать всего лишь 3/4 соска – зону работы доильного стакана, в основном, где воздействует вакуум.

Однако даже там где проводилась обработка соска правильно, перерасход средства был значительно выше, чем в группе, где применяли «Биомастим» методом распыления на сосок. Этот факт мы связываем с тем, что средство жидкое и быстро стекает с соска. Также при нанесении жидкого средства методом окунания соска в стакан, на сфинктере соска образуется капелька,

которая перекрывает доступ бактерий в канал соска. Она высыхает в течение 5 минут, что считается для подобных средств довольно быстро.

При использовании метода распыления, достаточно двух нажатий на рычаг, чтобы мелкодисперсная пыль средства полностью покрыла сосок. При этом нами отмечалось образование мелких капелек на соске, которые медленно стекали к основанию соска вымени, образуя долго висящую каплю на сфинктере соска, время высыхания которой составляло до 40-60 минут.

Если рассматривать эти два метода применения средства со стороны профилактической эффективности, то эффективность их была одинакова. Как в первом, так и во втором случае отмечали скрытый мастит у одной коровы. В первом случае у животного была поражена правая передняя доля вымени, а во втором правая задняя.

Таким образом, нами рекомендовано применение средства «Биомастим» методом распыления на сосок по соображениям более экономичного расхода средства.

3.7 Бактериальная обсемененность сосков вымени и молока до и после применения средства «Биомастим»

Как известно, кожный покров является биологическим барьером для проникновения вирулентных микроорганизмов, при этом кожа является их основным или временным местом обитания. Однако вирулентные и условно-патогенные микроорганизмы могут проникать через сосковый канал как после, так и во время доения.

Опираясь на проведенные нами исследования и описанные выше антимикробные свойства разрабатываемого средства после доения «Биомастим», мы провели бактериальный анализ загрязненности сосков вымени, а также и секрета молочных желез, как до, так и после применения «Биомастима». Полученные данные по микробной загрязненности кожи сосков вымени представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Общая микробная обсемененность кожи сосков вымени коров

Группа	Кол-во проб	Общая бактериологическая обсемененность Кожи сосков на1см ²	Бактерии рода <i>Bacillus</i>	Бактерии рода <i>Enterococcus</i> и <i>Lactobacillus</i>	Бактерии семейства <i>Enterobacteriaceae</i>
Опытная (до обмывания)	6	$1,6 \pm 1,4 \times 10^{15}$	$8,9 \pm 8,2 \times 10^5$	$6,1 \pm 0,5 \times 10^6$	$1,3 \pm 0,5 \times 10^8$
Опытная (после обмывания вымени)	6	$1,4 \pm 1,2 \times 10^7$	$2,1 \pm 0,3 \times 10^3$	$1,2 \pm 0,5 \times 10^4$	$1,1 \pm 0,6 \times 10^4$
Контрольная (до обмывания вымени)	6	$3,6 \pm 3,4 \times 10^{14}$	$1,0 \pm 0,6 \times 10^2$	$2,6 \pm 1,4 \times 10^2$	$3,9 \pm 3,4 \times 10^{10}$
Контрольная (после обмывания вымени)	6	$2,1 \pm 0,9 \times 10^6$	$1,4 \pm 0,8 \times 10^1$	$6,7 \pm 3,0 \times 10^1$	$5,4 \pm 3,1 \times 10^5$

Анализируя данные таблицы 14, мы можем с полной уверенностью утверждать, что в контрольной группе после обработки сосков вымени бактериальная обсемененность кожи снижается до $2,1 \pm 0,9 \times 10^6$ с $3,6 \pm 3,4 \times 10^{14}$ на 1 см², при этом в опытной группе после обработки бактериальная загрязненность была в 10 раз выше по сравнению с группой контроля и составляла $1,4 \pm 1,2 \times 10^7$, в то время как до обработки она составляла $1,6 \pm 1,4 \times 10^{15}$. Как видно из представленных данных в таблице в начале опыта бактериальная загрязненность сосков кожи вымени находилась практически на одном уровне, как у опытных животных, так и у контрольных.

Но в течение обработки вымени средством «Биомастим» мы отмечали увеличение бактериальной обсемененности кожи у этих коров. Бактериологический анализ подтвердит присутствие на коже сосков животных опытной группы бактерий рода *Bacillus* и *Enterococcus*. Однако, несмотря на увеличение общей обсемененности кожного покрова, у животных этой группы отмечалось снижение условно-патогенной микрофлоры.

Для наших исследований также представляло интерес, как отразится применение средства, содержащего в своем составе бактерий рода *Bacillus* и *Enterococcus*, на качестве молока. В связи с этим был проведен бактериологический анализ загрязненности молока у здоровых коров опытной и контрольной группы.

В результате мы констатируем факт снижения бактериальной загрязненности секрета вымени условно-патогенной микрофлорой относительно группы контроля (таблица 15).

Таблица 15– Общая микробная обсемененность секрета вымени

Группы	Бактериологическая обсемененность молока, КОЕ в 1мл		
	Энтеро- бактерии	стафилококки	лактобактерии
Опытная группа (средство «Био- мастим»)	–	$5,5 \pm 4,8 \times 10^3$	$9,0 \pm 4,3 \times 10^2$
Контрольная группа (препа- рат HD Udder Stabilizer)	–	$2,5 \pm 1,3 \times 10^5$	$1,8 \pm 0,8 \times 10^3$

Представленные данные подтверждают, что в группе, где применяли средство «Биомастим», число стафилококков в молоке находилось на уровне $5,5 \pm 4,8 \times 10^3$, а в контрольной группе (где использовали препарат HD Udder Stabilizer) стафилококки составляли $2,5 \pm 1,3 \times 10^5$. При этом количество лактобактерий в первой группе составило $9,0 \pm 4,3 \times 10^2$, а в контрольной $1,8 \pm 0,8 \times 10^3$. Следует отметить, что такая же тенденциозность отмечалась и по отношению общей бактериальной загрязненности молока, которая в группе, где применяли разрабатываемое средство, составляла $6,7 \pm 4,6 \times 10^4$, а в контроле она составляла $2,5 \pm 1,5 \times 10^5$. Следует отметить, что в молоке обеих групп микроорганизмы кишечной палочки отсутствовали.

Подводя итог проведенным исследованиям, мы отмечаем, что применение средства «Биомастим» увеличивает бактериальную обсемененность ко-

жи сосков вымени, однако мы отмечаем преобладание бактерий рода *Bacillus* и *Enterococcus* и снижение числа условно-патогенной микрофлоры по сравнению с группой контроля.

Нами отмечено, что средство после доения «Биомастим» понижает число общей бактериальной загрязненности молока в 10 раз в сравнении с группой контроля.

3.8 Оценка переносимости завышенных доз средства «Биомастим» после доения целевыми видами животных (коровы)

Так как производителем средства «Биомастим» ООО «Биотехагро», в виду экономической целесообразности, средство выпускается в качестве концентрата, который перед применением разводится в десять раз, нами было принято решение провести исследование переносимости животными завышенных и заниженных доз средства и определить их профилактическую эффективность.

Апробация была проведена на клинически здоровых коровах в фазе лактации. Было сформировано 3 группы животных по 10 голов в каждой (таблица 16). Средство «Биомастим» в различных концентрациях наносили на соски вымени методом распыления в течение 60 дней.

По результатам исследований выявлено, что наиболее оптимальной концентрацией микроорганизмов штаммов-пробионтов в средстве считается концентрация $1,0 \times 10^8$ КОЕ/мл, так как при обработке сосков средством с этой концентрацией клиническим маститом не заболело ни одно животное, а субклинический мастит был выявлен лишь у 1 коровы.

При обработке сосков средством с концентрацией $1,0 \times 10^5$ КОЕ/мл, клиническим маститом заболело 2 коровы, а субклиническим - 4. Следует отметить, что пораженных долей вымени было значительно больше, у трех животных отмечали поражение двух долей вымени.

Таблица 16. Заболеваемость коров маститом в зависимости от концентрации микроорганизмов в средстве «Биомастим»

Форма мастита		Субклинический мастит	Клинический мастит	
Концентрация микроорганизмов в «Биомастиме»	1×10^5	Заболело маститом животных	4	2
		Пораженных долей вымени	7	2
		% заболеваемости коров маститом	40	20
	1×10^8	Заболело маститом животных	1	0
		Пораженных долей вымени	1	0
		% заболеваемости коров маститом	10	0
	1×10^{10}	Заболело маститом животных	1	0
		Пораженных долей вымени	1	0
		% заболеваемости коров маститом	10	0

При обработке средством, содержащим $1,0 \times 10^{10}$ КОЕ/мл штаммов-пробионтов, профилактическая эффективность сохранялась на уровне 90%.

Ежедневный клинический осмотр кожи сосков вымени у коров 3-й группы не выявил поражений кожи. У животных отмечали хороший аппетит, животные адекватно реагировали на визуальные и звуковые раздражители. Также не отмечали изменения у здоровых животных в количественных показателях удоя.

3.9 Клинические испытания средства «Биомастим»

Исследование клинической эффективности средства «Биомастим» проводилось на базе хозяйства ООО АФ «им. Ильича» Выселковского района Краснодарского края, так как именно в этом районе на протяжении последних трех лет фиксировалось максимальное количество выявленных случаев мастита.

В хозяйстве применяется беспривязная система содержания, дойка производится два раза в день на аппарате типа «карусель».

Для проведения опыта было отобрано по принципу пар-аналогов 96 клинически здоровых коров голштинской породы – по 48 голов в опытную и контрольную группы. Перед проведением опыта все животные были исследованы на скрытый мастит, а также на наличие трещин сосков вымени.

Секрет вымени всех участвующих в опыте животных был предварительно проверен на 5 основных показателей качества (жир, белок, плотность, СОМО, количество соматических клеток) на приборе «Клевер».

Рабочие растворы средств приготавливали непосредственно перед применением путем разведения в теплой воде до получения соответствующей концентрации в соответствии с рекомендациями производителя – для средства «Биомастим» использовали 10%-ную концентрацию рабочего раствора, средство «HD Udder Stabilizer» первые 28 дней использовали в 7%-ной концентрации, затем использовали 3%-ный раствор средства.

Обработки проводили после доения, два раза в день на протяжении 45 дней с помощью пульверизатора. Животных опытной группы обрабатывали средством «Биомастим», животных контрольной группы – средством «HD Udder Stabilizer».

Клиническую эффективность средств оценивали по трем основным показателям: частота распространения клинических маститов, частота распространения скрытых маститов, частота распространения трещин сосков вымени на начало опыта, 14-й и 45-й дни исследования.

По результатам наблюдения за животными установлено, что к концу второй недели использования средства «Биомастим» количество коров, больных клиническим маститом, составило 6,3%, в то время как в контрольной группе оно составляло 8,3%. На 45 день опыта процент коров, больных маститом, в опытной и контрольной группе снизился до 4,2%.

Анализируя заболеваемость коров скрытым маститом, прослеживается явная тенденция к снижению заболеваемости в опытной группе, к 14 дню использования средства «Биомастим» заболеваемость коров составила 10,4%, а в контрольной группе 12,5%. К 45 дню опыта коров, больных скрытым маститом, в опытной группе было на 2,1% меньше, чем в контрольной и составило 8,3% и 10,4% соответственно. Проведенные исследования состояния сосков вымени на наличие трещин показало, что на протяжении всего опыта у коров опытной группы данное заболевание уменьшалось и в среднем составило 18,03%, в то время как в группе, где применяли «HD Udder Stabilizer», трещины сосков вымени встречались в 19,47% (таблица 17).

Таблица 17 - Сравнение профилактической эффективности средства «Биомастим» и средства-аналога «HD Udder Stabilizer»

Группы	День исследования	Клинический мастит		Скрытый мастит		Трещины сосков вымени	
		гол.	%	гол.	%	гол.	%
Опытная (n = 48)	перед началом опыта	0	0	0	0	12	25
	14-й	3	6,3	5	10,4	10	20,8
	45-й	2	4,2	4	8,3	4	8,3
	Среднее значение	1,67	3,5	3,0	6,23	8,67	18,03
Контрольная (n = 48)	перед началом опыта	0	0	0	0	14	29,2
	14-й	4	8,3	6	12,5	9	18,8
	45-й	2	4,2	5	10,4	5	10,4
	Среднее значение	2,0	4,17	3,67	7,63	9,33	19,47

В ходе апробации профилактической эффективности «Биомастима» была проведена проверка показателей качества молока и проведен подсчет соматических клеток в молоке животных обеих групп (таблица 18).

При подсчете соматических клеток в молоке было установлено, что на всем протяжении опыта они находились на физиологическом уровне и каких-либо достоверных отклонений в опытной и контрольной группе не наблюдалось. То есть за весь промежуток исследований число соматических клеток в опытной и контрольной группе находилось на уровне 230 – 300 клеток

В результате было обнаружено, что в пробах, отобранных от животных опытной группы, присутствуют микроорганизмы рода *Enterococcus*, входящие в состав средства «Биомастим», что подтверждает их жизнеспособность. Прочих стрептококков, стафилококков, синегнойной и патогенной кишечной палочки в пробах от животных обеих групп выделено не было, что свидетельствует о достаточной эффективности обоих средств (таблица 18).

Таблица 18 – Показатели качества молока в опытной и контрольной группе на начало и конец опыта, $M \pm m$

Показатели	Опытная группа		Контрольная группа	
	Начало опыта	Конец опыта	Начало опыта	Конец опыта
Массовая доля жира, %	3,218±0,198	3,324± 0,112	2,990±0,205	3,235±0,101
Массовая доля белка, %	3,341 0,09	3,469±0,097	3,175±0,065	3,31±0,087
Плотность, кг/м ³	28,423±0,694	29,413±0,423	28,988±0,487	30,002±0,265
СОМО	8,349±,108	8,507±0,177	8,344±0,100	8,39±0,074
Соматические клетки, тыс./см ³	298,1±7,583	233,6±5,70	300,5±7,800	258,1±7,583

Проведен производственный опыт по профилактической эффективности средства для обработки вымени «Биомастим» в условиях производства, на базе хозяйства ООО «АФ им. Ильича» Выселковского района Краснодар-

ского края. Для испытания было отобрано 300 голов коров голштинской породы чёрно-пёстрой масти. Животные содержались в корпусе с беспривязной системой содержания. Доеение осуществлялось 2 раза в день в доильном зале на аппарате типа «карусель». Животные были распределены на 2 группы по 150 голов

Обработку вымени коров проводили раствором средства «Биомастим» два раза в день после доения на протяжении 90 дней в опытной группе. И средством-аналогом «HD Udder Stabilizer» в контрольной группе. Эффективность применения средства «Биомастим» оценивали на 30-й, 60-й и 90-й день производственного испытания по следующим показателям: частота возникновения клинических форм мастита, частота возникновения субклинических форм мастита, частота образования трещин сосков вымени (табл. 19).

Таблица 19 - Профилактическая эффективность средства «Биомастим» в ходе производственного испытания (n = 300)

	День исследования	Клинический мастит		Скрытый мастит		Трещины сосков вымени	
		гол.	%	гол.	%	гол.	%
Опыт (150 гол)	перед началом опыта	0	0	0	0	20	13,6
	30-й	3	2	9	6	19	12,6
	60-й	2	1,3	8	5,3	17	11,3
	90-й	3	2	8	5,3	10	6,6
	Среднее значение	2	1,35	6,25	4,15	16,6	11,0
Контроль (150 гол)	перед началом опыта	0	0	0	0	18	12
	30-й	3	2	9	6	18	12
	60-й	3	2	11	7,3	16	10,6
	90-й	2	1,3	9	6	16	10,6
	Среднее значение	2	1,35	7,25	4,8	17	11,3

Анализируя полученные результаты мы видим, что профилактический эффект клинического мастита с использованием средства «Биомастим» составляет 94,6% за весь период опыта, как и средства-аналога «HD Udder Sta-

bilizer». Однако, профилактический эффект опытного средства относительно скрытого мастита составил 83,3% и был выше средства-аналога на 2,7%. Анализируя пораженность сосков трещинами у коров, мы отмечаем явную динамику снижения данного заболевания как в первой, так и во второй группе. Но стоит отметить, что в опытной группе к концу опыта больных коров данной патологией было на 4% меньше, чем в контрольной группе

Приведённые в таблице 19 данные, на наш взгляд, свидетельствуют о достаточно высокой профилактической эффективности средства «Биомастим» в условиях современной молочно-товарной фермы.

В начале и в конце производственного испытания у всех животных были отобраны и проанализированы на 5 основных показателей качества пробы молока (белок, жир, плотность, СОМО, количество соматических клеток). Усреднённые значения представлены в таблице 20.

Таблица 20 — Показатели качества молока на начало и конец производственного испытания

Показатель	Начало опыта	Конец опыта
Массовая доля жира, %	4,2±0,178	4,3± 0,122
Массовая доля белка, %	3,5±0,171	3,6±0,099
Плотность, кг/м ³	28,3±0,712	28,4±0,633
СОМО	8,1±0,107	8,2±0,108
Соматические клетки, тыс./см ³	286,1±2,583	211,6±4,70

Как видно из таблицы 20, применение средства «Биомастим» в условиях производственного испытания не привело к ухудшению товарных качеств молока.

Также нами был проведен широкий производственный опыт в Агрофирме «Россия» Тимашевского района Краснодарского края. В опыте бы-

ло задействовано 104 животных голшино-фризской породы с молочной продуктивностью на момент проведения опыта 8387кг молока. В задачу исследования входило определение профилактической эффективности средства «Биомастим» в сравнении со средством «Дипал», (производитель DeLaval - Швеция), предназначенного также для профилактики различных форм мастита и содержащем в своем составе в качестве действующих и вспомогательных веществ: йод; натрия йод, макроголь лаурил эфир, глицерол, сорбитол, моногидрат лимонной кислоты, натрия гидрохлорид, воду.

Следует отметить, что перед началом опыта было проведено обследование животных, которые будут участвовать в опыте. В результате было установлено, что скрытый мастит регистрировался у 17 животных, что составляет в среднем 16,3%. Однако, в разрезе пораженных долей вымени, этот процент составлял 35,2% (24 пораженных доли у 17 коров, больных скрытым маститом).

При анализе заболеваемости коров клиническим маститом, нами было установлено, что процент данной патологии составлял 1,9% - 2 коровы. Причем у одной коровы мастит регистрировали в 2-х долях вымени.

Трещины сосков вымени нами отмечались у 34,4 % коров – 36 животных.

Все животные были распределены на 2 группы по 52 коровы по принципу пар-аналогов. Первой группе животных применяли средство «Биомастим» по вышеописанной схеме, а второй группе применяли средство «Дипал» согласно инструкции по применению.

За животными вели наблюдение и отслеживали заболеваемость коров клиническим и скрытым маститом, а также обращали внимание на наличие трещин на сосках вымени.

Диагноз на скрытый мастит устанавливали на основании экспресс-теста «Кенотест» в двух повторностях с интервалом в 24 часа.

Больных животных лечили согласно схеме лечения, принятой в хозяйстве.

Таблица 21 Профилактическая эффективность средств «Биомастим» и «Dipal» предназначенных для обработки сосков вымени после доения

Группы	Время исследования	Клинический мастит		Скрытый мастит		Трещины сосков вымени	
		Жив./долей	%	жив./долей	%	жив.	%
«Биомастим» (n=52)	30 дней	3/4	5,7	4/6	7,7	14	26,9
	60 дней	1/1	1,9	3/4	5,7	8	15,4
	90 дней	0	0	6/7	11,5	8	15,4
	Среднее на одну проверку	1,33/1,66	2,5	5,0/5,6	9,6	10	19,2
«Dipal» (n=52)	30 дней	2/3	3,8	9/13	17,3	18	34,6
	60 дней	3/3	5,7	4/6	7,7	12	23,0
	90 дней	0	0	8/10	15,4	14	26,9
	Среднее на одну проверку	1,67/2,0	3,2	7/9,6	13,4	14,7	28,1

По результатам наблюдения за животными установлено, что в конце первого месяца использования средства «Биомастим» количество коров, больных клиническим маститом, составило 5,7%, в то время как в контрольной группе оно составляло 3,8%. На 60 день опыта процент коров, больных маститом, в первой группе снизился до 1,9%, а в контрольной поднялся до 5,7%. По итогам пятой недели животных, больных клиническим маститом, в опытной группе не выявлено.

При анализе заболеваемости коров скрытым маститом, прослеживается явная тенденция снижения заболеваемости в опытной группе. На 30 день использования средства «Биомастим» заболеваемость коров составила 7,7%. Однако стоит отметить, что поражено было 6 долей, а в контрольной группе 17,3% коров - 13 долей вымени. На 60 день опыта, коров, больных скрытым маститом, в опытной группе было на 2% мень-

ше, чем в контрольной - 5,7% и 7,7% соответственно. В конце третьего месяца в опытной группе количество животных, больных скрытым маститом, составило 6 коров, а в контрольной - 8 коров.

Проведенные исследования состояния сосков вымени на наличие трещин показало, что на протяжении всего опыта у коров опытной группы данное заболевание уменьшалось и в среднем составило 19,2%, в то время как в группе, где применяли «Дипал», трещины сосков вымени встречались в 28,1%.

Полученные результаты показали, что через 1 месяц применения пробиотических средств отмечается значительное улучшение состояния сосков вымени, а также снижается заболеваемость маститом коров.

Таким образом, применение средства «Биомастим» показано для профилактики мастита у крупного рогатого скота.

3.10 Экономическая эффективность средства «Биомастим»

Экономическую эффективность средства «Биомастим» в сравнении с средством «HD Udder Stabilizer» определяли по методике И. Н. Никитина (1997).

Экономический ущерб определяли по формуле:

$У = Мб * (Вдо - Впо) * Т * Ц$, где:

У1 – ущерб от снижения продуктивности в опытной группе;

У2 – ущерб от снижения продуктивности в контрольной группе;

Мб – количество больных животных, гол.;

Вдо – среднесуточная продуктивность здоровых животных, кг;

Впо – среднесуточная продуктивность больных животных за период их болезни, кг;

Т – продолжительность болезни, дни;

Ц – Цена сбыта 1 кг продукции, руб.

Учитывали также то обстоятельство, что молоко от больных коров полностью выбраковывалось.

$$У1 = 5 * (7 - 0) * 5 * 21 = 3675$$

$$У2 = 6 * (7 - 0) * 5 * 21 = 4410$$

Величину предотвращенного ущерба определяли по формуле:

$$Пу = М * Кз * Кпп * Ц - У, \text{ где:}$$

Пу – предотвращенный экономический ущерб при профилактике мастита у коров в опытной группе, руб;

Пу1 – предотвращенный экономический ущерб при профилактике мастита у коров в контрольной группе, руб;

М – число животных в группе;

Кз – коэффициент заболеваемости животных;

Кпп – коэффициент потери продукции на 1 заболевшее животное;

Ц – цена сбыта 1 кг продукции, руб.;

У – экономический ущерб, руб.

$$Пу = 48 * 0,21 * 24 * 21 - 3675 = 1405,32$$

$$Пу1 = 48 * 0,21 * 24 * 21 - 4410 = 670,32$$

Затраты на проведение ветеринарных мероприятий при профилактике маститов состоят, главным образом, из затрат на приобретение медикаментов и оплаты труда работников, производящих профилактические обработки (таблица 15).

Расчетная стоимость средства «Биомастим» составляет 50 рублей за 1 литр, при этом средство рекомендуется применять в 10% концентрации. Расход средства на одну головообработку составляет 5 мл, таким образом стоимость одной головообработки средством «Биомастим» составляет 0,25 рублей. За период проведения опыта средством «Биомастим» было обработано 48 голов животных два раза в день, таким образом затраты на приобретение средства равны:

$$Зв = (48 * 0,25) * 2 = 24$$

Стоимость 1 литра средства «HDUdderStabilizer» составила 600 рублей, при этом в соответствии с рекомендациями производителя первые 28 дней опыта препарат применяли в 7% концентрации, оставшиеся 17 дней опыта препарат применяли в 3% концентрации на 48 коровах два раза в день. Таким образом затраты на приобретение средства в контрольной группе (Зв1) составили:

$$\text{Зв1} = ((28 * 48 * 0,07) + (17 * 48 * 0,03)) / 45 = 17,92$$

Затраты на оплату труда операторов машинного доения в хозяйстве составляют 950 рублей в день при продолжительности рабочей смены 8 часов (480 минут), таким образом оплата труда за одну минуту рабочего времени составляет 1,98 рублей. Требуемое количество времени на проведение обработки одной коровы средствами «Биомастим» и «HD Udder Stabilizer» равны и составляют 1 минуту. Таким образом затраты на профилактические мероприятия в опытной группе равны затратам на проведение профилактических мероприятий в контрольной группе ($\text{Звт} = \text{Звт1}$) и составляют:

$$\text{Звт} = \text{Звт1} = 1,98 * 2 * 48 = 190,08$$

Сумма затрат на все профилактические мероприятия в опытной группе складывается из суммы затрат на приобретение медикаментов и суммы затрат на оплату труда работников, тогда в опытной группе:

$$\text{Зп} = 24 + 190,08 = 214,08$$

В контрольной группе:

$$\text{Зп1} = 17,92 + 190,08 = 208$$

Экономический эффект определяется по формуле:

$$\text{Эв} = \text{Пу} - \text{Зп}, \text{ где:}$$

Эв – экономический эффект в опытной группе;

Эв1 – экономический эффект в контрольной группе;

Пу – сумма предотвращенного ущерба в опытной группе

Пу1 – сумма предотвращенного ущерба в контрольной группе

Зп – сумма затрат на проведение профилактических мероприятий в опытной группе;

$Z_{п1}$ – сумма затрат на проведение профилактических мероприятий в контрольной группе

$$\mathcal{E}_в = 1405,32 - 214,08 = 1191,21$$

$$\mathcal{E}_{в1} = 670,32 - 208 = 462,32$$

Экономическую эффективность на 1 рубль затрат определяли по формуле:

$$\mathcal{E}_р = \mathcal{E}_в / Z_{п} , \text{ где:}$$

$\mathcal{E}_р$ – эффективность ветеринарных мероприятий на рубль затрат в опытной группе;

$\mathcal{E}_в$ – величина экономического эффекта от профилактики мастита в опытной группе, руб.;

$Z_{п}$ – затраты на все профилактические мероприятия в опытной группе, руб.

$$\mathcal{E}_р = 1191,21 / 214,08 = 5,56 \text{ руб.}$$

Таким образом при использовании средства для обработки сосков вымени после доения «Биомастим» на каждый рубль затрат в хозяйстве сохраняется 5,56 рублей.

Обсуждение результатов исследований

Одной из главных задач развития молочного животноводства в нашей стране является обеспечение продовольственного рынка России качественной, натуральной и безопасной молочной продукцией.

Колоссальные убытки от потери молочной продукции, ухудшения товарных качеств молока и сокращения сроков хозяйственного использования молочных коров обусловлены именно проблемой маститов.

Проведёнными нами исследованиями установлено, что из 844 случаев клинического мастита, диагностированных в хозяйствах Краснодарского края в течение 2018-2020 годов, имело место следующее распределение клинических форм заболевания: 314 случаев (37,20%) приходилось на серозный мастит, в 419 (49,64%) случаях диагностировали катарально-гнойный мастит и в

111 случаях (13,15%) был диагностирован геморрагический мастит. В зависимости от физиологического состояния животных, наиболее часто маститы диагностировали на 4-17 сутки после отела (652 случая или 77,25%), реже – в период запуска (147 случаев или 17,42%) и наиболее редко в период сухостоя (45 случаев или 5,33%). Таким образом, наивысший процент заболеваемости маститом коров отмечается у животных в период лактации. Причем в период лактации мастит диагностируют достаточно быстро, в результате чего назначается определенное лечение, чего нельзя сказать о животных находящихся в сухостойном периоде.

Данные исследования согласуются с данными кубанских ученых Турченко А.Н. (2011), Родина И.А. (2001), Решетка М.Б. (2013) и др.

Следует отметить, что диагностика животных на мастит в период сухостоя проводится редко, а зачастую и вовсе не проводится, вследствие чего животные болеют маститом на протяжении всего периода, что впоследствии отражается на качестве и количестве молока, а также ведет к атрофии долей вымени.

Бессистемное использование антибиотиков, входящих в основном в комплексные противомаститные препараты, приводит к образованию большого количества устойчивых штаммов микроорганизмов, что в значительной степени снижает терапевтический эффект антимикробных средств, а также способствует проявлению у людей и животных токсико-аллергических реакций, которые сопровождаются тяжелыми поражениями паренхиматозных органов и нервной системы (А.Ф. Колчина, А.С. Баркова, 2012).

Как утверждал В. И. Слободник с соавт. (2013), последние достижения микробиологов и ветеринарных специалистов позволяют устранить катастрофическое положение после повсеместного применения антибиотиков, в том числе и кормовых. В связи с этим, необходимо больше внимания уделять изысканию новых высокоэффективных лекарственных средств, к числу которых относятся пробиотики.

В виду этого цель настоящих исследований состояла в разработке нового пробиотического эффективного средства для профилактики мастита у коров путем обработки вымени после доения.

Принимая во внимание особую важность контроля бактериальной обсеменённости кожи при применении пробиотических средств, мы провели экспертизу смывов с кожи вымени участвующих в опыте коров. Проведёнными нами исследованиями установлено, что в контрольной группе до обмывания вымени общая бактериальная обсемененность кожи сосков вымени составляет $3,4 \pm 3,4 \times 10^{14}$ на 1 см^2 , а после обмывания вымени – $2,0 \pm 0,8 \times 10^6$. В опытной группе до обмывания вымени общая бактериальная обсемененность кожи сосков вымени составила $1,5 \pm 1,5 \times 10^{15}$, а после – $1,3 \pm 1,1 \times 10^7$, что в 10 раз больше, чем в контрольной группе. Следует отметить, что до начала опыта общая бактериальная обсемененность кожи сосков вымени была примерно одинакова с контрольной группой, но после обработки «Биомастимом» она выросла в 10 раз.

По результатам микробиологических исследований установлено, что возрастание общей бактериальной обсемененности кожи сосков вымени в опытной группе происходило за счет преобладания бактерий рода *Bacillus* и *Enterococcus*. Также отмечено, что в опытной группе уменьшалось количество условно-патогенной микрофлоры по сравнению с контролем.

Проведенный анализ бактериологической обсемененности молока у здоровых коров в опытной группе снижалась по сравнению с контролем.

В целях разностороннего исследования свойств средства, мы также изучили его ранозаживляющие свойства в сравнении со специально предназначенным пробиотическим средством для лечения ран. В результате проведенных измерений установлено, что среднесуточная скорость заживления раны при использовании средства «Биомастим» составила 24,37%, тогда как для средства «Биосептин мазь» это значение составило 21,42%. Полное заживление обоих ранений произошло одновременно – на 14-е сутки после нанесения ран.

Клиническими исследованиями, проведёнными в ООО АФ «им. Ильича», установлено, что к концу второй недели использования средства «Биомастим» количество коров, больных клиническим маститом, составило 6,3%, в то время как в контрольной группе оно составляло 8,3%. На 45 день опыта процент коров, больных маститом, в опытной и контрольной группе снизился до 4,2%.

При анализе заболеваемости коров скрытым маститом, прослеживается явная тенденция к снижению заболеваемости в опытной группе, к 14 дню использования средства «Биомастим» заболеваемость коров составила 10,4%, а в контрольной группе 12,5%. К 45 дню опыта коров, больных скрытым маститом, в опытной группе было на 2,1% меньше, чем в контрольной и составило 8,3% и 10,4% соответственно. Проведенные исследования состояния сосков вымени на наличие трещин показало, что на протяжении всего опыта у коров опытной группы данное заболевание уменьшалось и в среднем составило 18,03%, в то время как в группе, где применяли HD Udder Stabilizer, трещины сосков вымени встречались в 19,47%.

При подсчете соматических клеток в молоке было установлено, что на всем протяжении опыта они находились на физиологическом уровне и каких-либо достоверных отклонений в опытной и контрольной группе не наблюдалось. То есть за весь промежуток исследований число соматических клеток в опытной и контрольной группе не превышало физиологической нормы.

Таким образом, «Биомастим» является эффективным пробиотическим средством для профилактики развития мастита у коров. Его применение не способствует формированию резистентности у штаммов патогенной и условно-патогенной микрофлоры, а производство и утилизация средства не оказывает негативного влияния на окружающую среду. Применение средства не ухудшает товарных качеств производимого молока и позволяет хозяйствам производить экологически чистый, свободный от химиотерапевтических средств, продукт.

ВЫВОДЫ

1. Мастит у коров в хозяйствах Краснодарского края регистрируется в среднем от 1,25 до 19,6% от дойного стада в зависимости от сезона года. Субклинический мастит регистрируется от 7,5% – 12,5% коров, больных маститом.

При этом серозный мастит составляет 37,20%, катарально-гнойный мастит – 49,64% и в 3,15% случаях был диагностирован геморрагический мастит.

Наиболее часто маститы диагностировали в период лактации – в 77,25%, в период запуска – в 17,42%, а в период сухостоя – в 5,33% случаев.

2. «Биомастим» представляет собой суспензию темно-зеленого цвета с кисловатым запахом. В состав входят пробиотические культуры штаммов *Bacillus subtilis* – В-5225 и *Enterococcus faecium* СТФ 1/56, а в качестве красителя - комплекс Хлорофиллина Е-141

3. В результате полученных данных нами установлено, что зона задержки роста между штаммами *Bacillus subtilis* и *Enterococcus faecium* средства «Биомастим» и тест-микробами в среднем составила 8,6 мм. При этом наибольшая зона задержки роста наблюдалась между культурами-пробионтами и *K1. Pneumoniaspp. Ozaenae*, а также между культурами-пробионтами и *St. xylosus* – 11 мм. Зона задержки роста между культурами-пробионтами и *S. freundii* составила 8 мм, культурами-пробионтами и *E. agglomerans* – 7 мм

4. «Биомастим» по степени воздействия на организм в соответствии с нормативами ГОСТ 12.1.007-76, средство относится к 4-му классу опасности – вещества малоопасные. Безвреден в терапевтической дозе для животных.

5. «Биомастим» не оказывает раздражающего воздействия на слизистые оболочки и обладает ранозаживляющим действием. Скорость заживления раны составляет 24,37%,

6. При применении средства «Биомастим» в течение 14, дней количество коров заболевших клиническим маститом, составило 6,3%, в то время как в контрольной группе оно составляло 8,3%. На 45 день опыта

процент коров, больных маститом, в опытной и контрольной группе снизился до 4,2%. Анализ заболеваемости коров скрытым маститом указывает на тенденцию к снижению заболеваемости к 14 дню использования средства «Биомастим» – заболеваемость коров составила 10,4%, а в контрольной группе 12,5%. К 45 дню опыта коров, больных скрытым маститом, в опытной группе было на 2,1% меньше, чем в контрольной и составило 8,3% и 10,4% соответственно. Наличие трещин на сосках вымени у коров которым применяли «Биомастим» составило 18,03%, в то время как в группе, где применяли «HD Udder Stabilizer», трещины сосков вымени встречались в 19,47%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для профилактики мастита, проводить средством «Биомастим» обработку сосков вымени коров после каждого доения методом орошения;
2. Сократить использование химиотерапевтических средств в схемах профилактики мастита;
3. Научно-практические результаты рекомендуется использовать в учебном процессе студентов по специальности ветеринария, при проведении научно-исследовательских работ в НИИ и ВУЗах ветеринарного профиля, при написании монографий, учебников, учебных пособий.

Список литературы

1. Алесандровская О.В., Радостина Т.Н., Козлов Н.А. Цитология, гистология и эмбриология: учебное пособие. — М.: Агропромиздат, 1987. — С. 434-436.
2. Архангельский И.И. Из опыта профилактики мастита у коров / И.И. Архангельский, И.И. Балковой, В.И. Рубцов // Ветеринария.- 1973. №9 с. 74.
3. Архипов А.А. Адекватное лечение при острых маститах залог благополучия стада /А.А. Архипов, А.Т. Сголляр //Ветеринария.- 2008.-№11.- С.15-17.
4. Архипов А.А. Комплекс препаратов для лечения и профилактики маститов // Ветеринария Кубани. 2012. № 1. С. 19–20.
5. Багманов, М.А. Этиологические факторы мастита / М.А. Багманов, Ю.Б. Никулина // Вестник РАСХН. – 2003. - №6 – С. 40-43.
6. Баязитова, К. Факторы, влияющие на заболеваемость коров маститом / к. Баязитова, Т. Баязитов, Б. Кулатаева // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2010. - № 10.
7. Багманов М.А., Терентьева Н.Ю., Сафиуллов Р.Н. Терапия и профилактика патологии органов размножения и молочной железы у коров:Монография. Казань, 2012. 187 с.
8. Баймишева, Д.Ш. Факторы, обуславливающие возникновение маститов / Д.Ш. Баймишева, Л.А. Коростелёва, С.В. Котенков // Зоотехния. - 2007. - № 8. - С. 22 - 24.
9. Балковой И.И., Иноземцев В.П и др. Влияние лазерного излучения на время проявления иммунного ответа в организме коров при заболевании маститом // Теоретич. и практ. аспекты возникновения и развития болезней животных и защиты здоровья в современных условиях / Матер. междуна-род. конф. – Воронеж, 2000. – Т.1 – С. 137-139.

10. Баркова А.С., Колчина А., Елесин А. Болезни сосков молочной железы коров. Этиология, патогенез, диагностика, лечение и профилактика. Германия : LAMBERT Academic Publishing, 2012. 222 с.
11. Баркова А.С., Шурманова Е.И., Липчинская А.К., Баранова А.Г. Заболеваемость коров маститом и качество молока // Аграрный вестник Урала. 2010. № 11-2 (77). С. 10.
12. Баркова А.С., Колчина А.Ф., Барашкин М.И., Шурманова Е.И. Современные средства в программе профилактики заболеваний молочной железы у коров и оценка их эффективности // Аграрный вестник Урала. — 2013. — № 10 (116). — С. 18-21.
13. Баркова А.С. Эффективность использования пробиотических средств для профилактики заболеваний молочной железы у коров // Ветеринария. 2014. № 4. С. 40– 44.
14. Барашкин М.И. Эффективность комплексного применения средств на основе пробиотических бактерий в профилактике маститов и повышении качества молока // Ветеринария Кубани. 2012. № 6. С. 24– 25.
15. Барашкин М. И., Баркова А.С. Новый подход в охране здоровья вымени и повышении качества молока // Аграрный вестник Урала. 2012. Т. 2. № 10 (105). С. 9–11.
16. Батраков, А. Комплексные мероприятия, направленные на профилактику мастита у коров / А. Батраков, А. Костяков, С. Ещенко // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2010. - № 12. – С. 10-12.
17. Белкин, Б.Л. Мастит коров: этиология, патогенез, диагностика, лечение и профилактика / Б.Л. Белкин, Л.А. Черепахина, В.М. Сотникова, Т.В. Попкова, Е.Н. Скребнева – Орел: ОрелГАУ, 2007. – 216 с.
18. Белкин, Б.Л. Мастит коров / Б.Л. Белкин, Л.А. Черепахина, Т.В. Попкова, Е.Н. Скребнева, В.Б. Андреев. – Орел : изд-во ОрелГАУ, 2011. – 88 с.

19. Береснева А.П. Распространение и этиология мастита у коров.- // Акушерство, гинекология, искусственное осеменение и болезни молочной железы с-х животных. М. 1976. с. 121-122.
20. Бовкун Г.Ф., Нигманов А.Н. Профилактическое действие бифинома при желудочно-кишечных болезнях цыплят // Ветеринария, 1998. - № 12. - С. 44-47.
21. Богатырева Г.А., Богатырев И. Влияние эффективных микроорганизмов на продуктивные качества молочного скота // Пища. Экология. Качество: Сб. мат. 2 межд. науч. практ. конф. / НГАУ - Новосибирск, 2000. - С. 236-239.
22. Боженков С.Е. Распространение и причины возникновения острого мастита у коров / С.Е. Боженков, Э.Н. Грига, О.Э. Грига // Ветеринарная патология. – 2013. – № 1 (43). – С. 5–7.
23. Буланкин А.Л. Разработка и применение новых лечебных препаратов при эндометритах, маститах коров и желудочно-кишечных заболеваниях телят. автореф. дисс...докт.вет.наук. Краснодар, 1996 – С. 23.
24. Васильев В.Г. Терапия коров, больных маститом в сухостойный период // Ветеринария. – 1998. - № 1. - С. 38-40.
25. Васильева С.А., Родионова Т.Н., Мариничева М.П., Савина С.В., Фокин А.И. Раздражающее, аллергенное и кожно-резорбтивное действие антисептического средства ветеринарного назначения «Смейк-Хувс» // Аграрный научный журнал, 2017. № 4. С. 7 - 11.
26. Веллесте Ю.И. Влияние маститов на продукцию молока и вызываемый ими экономический ущерб. Скотоводство: сб. научных трудов. Таллин. 1980. №50. с. 92-97.
27. Висьневски Е. Гигиена машинного доения и профилактика маститов у коров. / Е. Висьневски // Ветеринарно-санитарные и зоогигиенические проблемы промышленного животноводства. М.: «Колос». 1979. с. 234-248.

28. Вракин, В.Ф. Морфология сельскохозяйственных животных / В.Ф. Вракин, М.В. Сидорова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 2000. – С. 326-330.
29. Гамалея, Н.Ф. Механизмы биологического действия излучения лазеров/Н.Ф. Гамалея // Лазеры в клинической практике. – М.: Медицина, 1981. –81с.
30. Голубкина, А.Ф. Маститы, диагностика и лечение / А.Ф. Голубкина //Ветеринария. – 2007. - №3. – С. 50-52.
31. ГОСТ Р 52054-2003. Молоко натуральное коровье-сырье. Технические условия. — М.: Изд-во стандартов, 2003. — 6 с
32. ГОСТ Р 53951-2010. Продукты молочные, молочные составные и молокосодержащие. Определение массовой доли белка методом Кьельдаля. — М.: Изд-во стандартов, 2010. — 12 с.
33. ГОСТ Р 54077-2010. Молоко. Методы определения количества соматических клеток по изменению вязкости. - М.: Изд-во стандартов, 2010. - 6 с.
34. ГОСТ Р ИСО 707-2010. Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб. - М.: Изд-во стандартов, 2009. - 8 с.
35. Горбатова К.К. Химия и физика молока. - СПб.: ГИОРД, 2004. - 288 с
36. Грязнева, Т.Н. Определение видового состава и антибиотикочувствительности микрофлоры, выделенной из молока коров, больных маститом / Т. Грязева, Р. Родионова, А. Балышев // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2008. - № 9. – С. 40-41.
37. Данилевская Н.В, Коробов А.В., Старченков С.В., Щербаков Г.Г.; Справочник ветеринарного терапевта. 4-е изд., СПб, Лань, 2005,- С. 226-230.
38. Демидова Л.Д. Применение лазерного ветеринарного препарата «Вега-МВ» при мастите коров // Ветеринария .-1996.- №5. 9 с. 1. Данкверт А. Пути улучшения качества молока /А. Данкверт, Л. Зернаева // Молочное и мясное скотоводство.- 2003.- №8 С. 2-7.

39. Демидова Л.Д.: Ветеринарно-санитарные основы борьбы с маститом коров и повышение санитарного качества молока: Автореф. дис. д-ра вет. наук/Л.Д. Демидова.- М., 1997.- 49 с.
40. Демидова Л.Д. Применение лазерного ветеринарного препарата «Вега-МВ» при мастите коров // Ветеринария .-1996.- №5. 9 с.
41. Дильбарханов Р.Д., Устенова Г.О., Бердибеков М.А., Кожанова К.К., Амантаева М.Е. Лекарственные препараты на основе пихтового масла. Сообщение 2 // Фармация Казахстана. — 2005. — № 2. — С. 26-27.
42. Дойтц А., Обритцхаузер В. Здоровье вымени и качество молока. К. : ООО «Аграр Медиен Украина», 2010. 174 с.
43. Донник И. М., Шкуратова И. А. Динамика накопления тяжелых металлов у крупного рогатого скота // Ветеринария. 2008. № 4. С. 37–40.
44. Евглевский, Д.А. Повышение бактерицидного, вирусного и фунгицидного действия антибиотиков с помощью глутарового альдегида и этония / Д.А. Евглевский// Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. - 2011. -№6.- С.73-74.
45. Жирков И.Н., Братухин И.И. Применение пробиотика РАС для коррекции дисбактериозов для телят //Ветеринария, 1999.-№4.-С. 40-42.
46. Жданов А. Санитарная обработка вымени коров. / Жданов А., Соловьев И. //Журн. Животноводство России.- 2001. - № 11. - С.26-27.
47. Забелин Ю.А. Профилактика мастита у коров в сухостойный период на фермах промышленного типа. //Автореф. дис канд.вет. наук. М., 1982. с. 20.
48. Зверева Г.В., Олескив В.Н., Качур Д.Н. Профилактика мастита у коров в период запуска и сухостоя при паточно-цеховой системе производства молока //Научные советы профилактики и лечения патологии воспроизвод. функции с-х животных: тез.докл. Всесоюз. научн. конф., 26-28 октября 1988 г. Воронеж, 1988. - С. 197-198.

49. Зеленецкий, Н.В., Щивакин, М.В., Зеленецкий, К. Н. Анатомия и физиология животных / Под.общ. ред. Н. В. Зеленского. – СПб.: «Лань», 2019. – С. 141- 149.

50. Ивановский А.А. Влияние фитокомплекса с левзеей, биоинфузина и бактоцеллолактина на показатели естественной резистентности и биохимии крови поросят // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2012. – № 4. – С. 51-54.

51. Ильинский Е.В., Синилов С.В. О некоторых аспектах этиопатогенеза, лечения и профилактики мастита у коров //Е.В. Ильинский, С.В. Синилов /Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных. Междунар науч.-практ. конф. Воронеж, 5-7 октября 2005г. мат. конф. – Воронеж: Европолиграфия, 2005 - С. 412-415.

52. Ильинский Е.В., Назаров М.В., Кавунник А.М., Коваль А.Н., Гаврилов Б.В. Маститы у животных // Учебно-методическое пособие – Краснодар, 2001 – 34 с.

53. Ильинский Е.В., Синилов С.В. О некоторых аспектах этиопатогенеза, лечения и профилактики мастита у коров //Е.В. Ильинский, С.В. Синилов /Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных. Междунар науч.-практ. конф. Воронеж, 5-7 октября 2005г. мат. конф. – Воронеж: Европолиграфия, 2005 - С. 412-415.

54. Информационные и коммуникационные технологии в образовании: учеб.-метод. пособие для педагогических вузов / И.В. Роберт [и др.]; под ред. И.В. Роберт. — М.: ИИО РАО, 2006. — 372 с.

55. Ильинский, Е.В. Генетические и иммунологические аспекты мастита у коров / Е.В. Трошин // Мат. Международной научно-произвд. Конф. По акушерству, гинекологии и биотехнологии репродукции животных. – Санкт-Петербург, 2001. – С. 67-68.

56. Кабардиев С.Ш., Амаев К.Г, Иммиев Я.И., Рашилов А.А. Токсикологическая оценка новых дезинфицирующих препаратов // Ветеринария, 2005. № 12. С. 36 - 38.

57. Кабардиев С.Ш., Амаев К.Г, Карпущенко К.А., Сайпуллаев М.С. Токсичность новых дезинфицирующих препаратов Аминбен и Аммобен для лабораторных животных // Ветеринария, 2010. № 10. С. 39 - 41.
58. Климов Н.Т., Першин С.С. Современный взгляд на проблему мастита у коров// Материалы Международной научнопрактической конференции. - Воронеж, 2012. - С. 237-242.
59. Климов, А.Ф., Акаевский, А.И. Анатомия домашних животных / А.Ф. Климов, А.И.Акаевский – СПб.: Издательство "Лань", 2003. –С. 511-520.
60. Коба И.С., Что бы антибиотики в молоко не попадали... // Животные России. Спецвыпуск, 2016. -. С. 66-67.
61. Коба И.С., Лысенко А.А., Бурменская Г.А., Дятлов Н.В. Доклинические исследования препарата «Биомастим» // Ветеринария Кубани, 2018. - № 6. С. 15-17.
62. Коба И. С., Новикова Е. Н., Бурменская Г. А, Дялов Н. В. Результаты микробиологических испытаний нового средства для обработки сосков вымени коров на основе штаммов-пробионтов «Биомастим» / И. С. Коба, Г.А. Бурменская, Н.В. Дятлов, Е.Н. Новикова // Вестник АПК Ставрополя. – 2018 - № 1(29). – С. 39-42.
63. Коба И.С. Распространение и этиология мастита у коров в Краснодарском крае / И.С. Коба, Е.Н. Новикова // В сб.: Научное обеспечение агропромышленного комплекса сборник статей по материалам 72-й научнопрактической конференции преподавателей по итогам НИР за 2016 г.– 2017. – С. 179–180.
64. Коба И. С., Новикова Е.Н., Бурменская Г.А, Дялов Н.В. Распространение мастита у коров в двух климатических поясах Краснодарского края / И.С. Коба, Г.А. Бурменская, Н.В. Дятлов, Е.Н. Новикова // Краснодар: КубГАУ. – 2018.-С. 159-160.
65. Коган Г.Ф. Лечебная эффективность сульфанамида при мастите у коров в сухостойный период. / Г.Ф. Коган, Л.К. Семенова. //Вопросы ветеринарной фармакологии и фармакотерапии: Тез.докл. Всесоюз. научно-практ. конф. Рига. 1982. с. 78-79.

66. Колчина А.Ф., Баркова А.С., Барашкин М.И. Современные методы в диагностике патологии молочной железы высокопродуктивных коров // Аграрный вестник Урала. — 2012. — № 12 (104). — С. 12-14.
67. Кондрахин И.П. и др. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии. - Москва, 1983. - С.63.
68. Коренник И.В. Современные аспекты гигиены в молочном животноводстве // Ветеринария Кубани. 2012. № 2. С. 21–22.
69. Копытин, В.К. Мастит коров [Текст] / В.К. Копытин, О.Г. Новиков // Ветеринария. – 1999. – № 2. – С. 12-14.
70. Кузьмин, Г.Н., Условно-патогенная кокковая микрофлора и её роль в этиологии мастита у коров [Текст] / Г. Н. Кузьмин // Состояние, проблем и перспективы развития вет. науки России. – М., 1999. – Т. 2. – С. 183.
71. Кузьмич Р.Г. Клиническое акушерство и гинекология живонных / Р.Г. Кузьмич // Виебск. – 2002. – 313 с.
72. Кондрахин И.П. и др. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии. – Москва, 1983. – С.63.
73. Колчина А.Ф. Ветеринарные аспекты снижения соматических клеток в молоке коров //Аграрный вестник Урала. - 2008. -№ 11. - С.40-41.
74. Кузьмич Р.Г. Клиническое акушерство и гинекология живонных / Р.Г. Кузьмич // Виебск. – 2002. – 313 с.
75. Крусь Г.Н., Шалыгина А.М., Волокитина З.В. Методы исследования молока и молочных продуктов. - М.: Колос, 2000. -368 с.
76. Крюков Н.И. Разработка и применение метаоксафура для лечения больных маститом коров. // Автореферат диссертации ... кандидата ветеринарных наук – Воронеж, 1999 – 22 с
77. Ли. В. Имагро-естественная защита здоровья животных // Животноводство, 2003.-№2.-С. 36-37.
78. Литусов Н.В., Поберий И.А., Садовой Н.В. Перспективные направления использования эубиотиков // Перспективы использования эубио-

тика «Биоспорин» в практике здравоохранения и военно-медицинской службы: сборник материалов конференции. Екатеринбург, 1997. С. 6–15.

79. Логвинов Д.Д. Физиология и патология вымени у коров [Текст] / Д. Д. Логвинов, д-р вет. наук, Т. А. Чумакова, канд. биол. наук. - Киев : Урожай, 1971. – С. 154-158.

80. Лоретц О.Г., Барашкин М.И. Состояние здоровья и молочная продуктивность коров в промышленных регионах // Вете-3. ринарная патология. – 2012. – № 2. – С. 113-115.

81. Мальцев, С.А. Комплексная программа по контролю мастита в молочном животноводстве / С.А. Мальцев // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2010. - №11.

82. Миролубов М.Г.Комплекс лечения коров больных маститом //Ветеринария.- 1991.- № 10.- С.49-51.

83. Мисайлов В.Д., Нежданов А.Г., Париков В.А., Притыкин Н.В., Климов Н.Т., Мещеряков Н.П., Востроилова Г.А., Жаркой Б.Л., Демидова Л.Д. Методические рекомендации по диагностике, терапии и профилактике субклинического мастита у коров в сухостойный период/ГНУ «Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии», ГНУ «Всероссийский НИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии»// Воронеж, 2005 - 11 с.

84. Морев М.В. Лечение маститов коров в сухостойный период. / М.В. Морев, А.П. Береснева, А.Р. Корягина. // мат. респ. научно-произ. конф. по проблемам воспроизводства с-х животных. Казань. 1984. с. 50-51.

85. Морфофункциональная характеристика молочной железы у коров при субклиническом мастите / В.Н. Василенко, С.М. Сулейманов, О.Б. Павленко [и др.] // Ветеринарная патология. 2014. № 2(48). С. 14–20.

86. Науменко И. Как победить мастит: передовой опыт в профилактике и лечении / И. Науменко // Новое сельское хозяйство. - 2007. - № 3. - С. 82 - 85.

87. «Наставления по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров» от (№ 13-5-2/1948 от 30.,03.2005 г. Утв. ДВ МСХ и П РФ).

88. Нежданов А.Г. Морфо-физиологические основы лактации и болезни молочной железы сельскохозяйственных животных: учеб.пособие. /А.Г. Нежданов, В.И. Слободяник, А.В. Ходаков; Воронеж: ВГАУ. 1996 - 66 с.

89. Новый подход к лечению коров с хроническим маститом / А.А. Дробышевская, Л.Г. Войтенко, Т.И. Лапина, С.С. Гнидин // Ветеринарная патология. 2014. № 3–4 (49–50). С. 58–62.

90. Орлова Э.П. Сравнительная оценка терапевтической эффективности мастисана А, мастисана Б и дифурола А. / Э.П. Орлова // сб. научн. тр. ЛВИ.- 1982.- Вып. 70. с. 53-55.

91. Парахин А.В., Корягина Ю.В. Субклинический мастит у коров в хозяйствах орловской области и эффективность электропунктурной терапии/А.В. Парахин, Ю.В. Корягина//Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных. Междунар науч.-практ. конф. Воронеж, 5-7 октября 2005г. мат. конф. – Воронеж: Европолиграфия, 2005 - С. 285-287. Пат. №2377013 Российская Федерация. Способ получения стафилококковой анатоксин-вакцины / Евглевский Д.А.

92. Париков В.А., Климов Н.Т., Романенко А.И., Новиков О.Г., Пониткин Д.Н., Игнатов И.В., Почкун В.И. Мастит у коров (профилактика и терапия) //Ветеринария. 2000. - № 11. - С. 34-37.

93. Париков В.А., Мисайлов В.Д., Нежданов А.Г. Состояние и перспективы научных исследований по борьбе с маститом у коров/ В.А. Париков, В.Д. Мисайлов, А.Г. Нежданов//Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных. Междунар науч.-практ. конф. Воронеж, 5-7 октября 2005г. мат. конф. – Воронеж: Европолиграфия, 2005 - С. 3-8.

94. Париков В.А., Климов Н.Т., Притыкин Н.В., Михалёв В.И., Грязнов В.М., Петров А.Я., Пониткин Д.М. Мастит коров (диагностика, профилактика и терапия) //В.А. Париков, Н.Т. Климов, Н.В. Притыкин, В.И. Михалёв, В.М. Грязнов, А.Я. Петров, Д.М. Пониткин /Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных. Междунар на-

уч.-практ. конф. Воронеж, 5-7 октября 2005г. мат. конф. – Воронеж: Европолиграфия, 2005 - С. 367-371.

95. Пат. №2400218 Российская Федерация. Способ повышения эффективности антибиотиков / Евглевский А.А., Евглевский Д.А.

96. Пат. №2392003 Российская Федерация. Способ получения сальмонеллезной вакцины/ Евглевский А.А., Евглевский Д.А.

97. Пермякова И.Н. Биоинфузин для профилактики послеродовых осложнений у коров // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. - 2010. - № 2. - С. 49-51.

98. Плохинский Н.А. Биометрия. – М.: Изд-во Московского ун-та, 1970. – С. 4-14.

99. Подчалимов М.И. Использование пробиотиков в животноводстве/ М.И. Подчалимов, О.Н. Мирошниченко, И.Я. Пигорев // Вестник Курской Государственноу сельскохозяйственной академии. – 2008. № 3. - С. 18-20.

100. Полянцев Н.И. Диагностика и терапия маститов / Н.И. Полянцев // Сельские зори. - 1981. - № 10. - С 37.

101. Полянцев Н.И. Лечение субклинического мастита. / Н.И. Полянцев. // Ветеринария. 1997.- №12. с. 37-39.

102. Полянцев Ю.Н. Диагностика и терапия маститов у коров в сухостойном периоде //Ветеринария. 1982. №11. - С. 48-49.

103. Полянцев Ю.Н. Особенности этиопатогенеза диагностики, терапии и профилактики клинических маститов сухостойных коров. / А.Ю. Полянцев.// Автореф. дис. канд. вет.наук. Воронеж. 1985. с. 21.

104. Понамарев В.К. Взаимосвязь маститов и гинекологических болезней у коров. / В.К. Понамарев.// Материалы междн. научно-практ. конф. ВНИВИПФиТ.- Воронеж. 2002. с. 496-497.

105. Попов Л.К., Чернышева Н.А., Тимофеев А.Н. Фитотерапия и гирудотерапия в ветеринарном акушерстве //Л.К. Попов, Н.А. Чернышева, А.Н. Тимофеев /Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: Мат. междунар. науч.-практ. конф., посвящ.

85-летию со дня рождения Г.А. Черемисова и 50-летию созд. Воронежской школы вет. акушер. 18-19 октября 2012 г., Воронеж: изд. "Истоки", 2012. - С. 388-402.

106. Попов Ю.И. Разработка и применение ветеринарных кремов для профилактики и терапии мастита у коров. // Автореферат диссертации ... кандидата ветеринарных наук – Краснодар, 2004 – 25 с

107. Профилактика мастита у коров посредством обработки сосков вымени / И.С. Коба, А.Н. Турченко, В. Е. Тарасов, А.С. Перемышцев // Ветеринария Кубани. 2011. № 2. С. 67–68.

108. Решетка М.Б. Распространение мастита у коров и разработка средства профилактики мастита в период сухостоя // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. — 2013. — № 88. — С. 898-912.

109. Рахматуллин Э.К., Головин И. А., Разумкова М.С. Токсикологическая характеристика эмульсии СВК // Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии, 2017. № 1 (37). С. 134 - 139.

110. Решетка М.Б. Профилактика маститов у дойных коров на промышленных фермах / М.Б. Решетка, И.С. Коба // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2015. № 10 (132). С. 58-62.

111. Роберт И.В. Теория и методика информатизации образования (психолого-педагогический и технологический аспекты). — 3-е изд. / И.В. Роберт. — М: ИИО РАО, 2010. — 356 с.

112. Рогожин В.В. Биохимия молока и молочных продуктов. - СПб.: ГИОРД, 2006. -320 с.

113. Родин И.А., Перебора А.В., Аксёненко С.А. Усовершенствование специфических лечебно-профилактических методов борьбы с маститом у коров/ Кубанский государственный аграрный университет.Труды. Выпуск 387(415). Профилактика и лечение болезней животных/ Краснодар, 2001.

114. Рубцов В.И. Предупреждение мастита у коров в период запуска. / В.И. Рубцов.// Доклады ТСХА.-М., 1979. -Вып. 255. с. 28-32.

115. Савостин А.П. Применение фурахина для лечения и профилактики субклинического мастита у коров в сухостойном периоде. / А.Н. Савостин.// Автореф. дис. канд. вет.наук. Воронеж . 1988. с. 22.
116. Сидоркин Е.А. Мастомицин для профилактики маститов у коров в сухостойный период /Е.А. Сидоркин, М.А. Улизко. О.С. Грицай. Е.А. Копцев, Е.Е. Гостев //Ветеринария.- 2009. №2.- С. 20-21.
117. Селянский В.М. Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных: учебное пособие. — М.: Колос,1987. — С. 255-270.
118. Семькин И. Антибиотики завели нас в тупик, но выход есть // Алтайская правда, 2001, 16 июня.
119. Симецкий О.А. Ветеринарно-санитарные и лечебно-профилактические аспекты борьбы с маститами коров./ О.А. Симецкий.// Автореф. дис. док.вет. наук. М., 1980. с. 50.
120. Скребнева, Е.Н. Инновационный подход к профилактике инфекционного мастита коров / Е.Н. Скребнева, Л.А. Черепяхина, Б.Л. Белкин, С.А. Скребнев – ОрелГАУ, 2009. – 80 с.
121. Слободяник В.И. Опыт применения иммунокорректоров // Ветеринария. - 2013. - № 1. - С. 42-45.
122. Слободяник В.И., Зверев Е.В., Жуков С.П., Ширяев С.И., Слободяник М.В. Иммуномодуляторы в ветеринарном акушерстве // Международный вестник ветеринарии: Тематический выпуск «Новые аспекты биотехнологии репродукции животных». -2008. - № 3. - С. 23-26.
123. Слободяник В.И. Иммунологические аспекты решения проблемы мастита у коров // Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных: Матер. междунар. науч.-практич. конференции. – Воронеж, 2005. С.189-194.
124. Слободяник, В.И., Микробная контаминация молочной железы первотелок [Текст] / В.И. Слободяник, Н.А. Сапожникова // Проблемы вет. санитарии, гигиены и экологии: сб. науч. тр. Всерос. НИИ вет. санитарии, гигиены и экологии. – М., 2004. – Т. 116. – С. 427-428.

125. Студенцов А.П. Акушерство, гинекология и биотехника репродукции животных / А.П. Студенцов, В.С. Шипилов, В.Я. Никитин и др.; Под ред. В.Я. Никитина. — М.: КолосС, 2011. — С. 319 – 330.

126. Тараканов Б.В. Механизм действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животного // Ветеринария, 2000. - № 1. - С. 47-54.

127. Тараканов Б.В., Николичева Т.А. Новые биопрепараты для ветеринарии // Ветеринария, 2000. - № 7. - С. 45-50. Л.Я. Черемнякова, И.Н. Пleshакова

128. Татарчук О. Мастит: новое решение старой проблемы / О. Татарчук, О. Зуев // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2009. – С. 49-51.

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

130. Твердохлеб Г.В., Раманаускас Р.И. Химия и физика молока и молочных продуктов.- М.: ДеЛи принт, 2006. - 360 с.

131. Турченко А.Н., Коба И.С., Новикова Е.Н., Решетка М.Б. Пробиотики в животноводстве и ветеринарии Краснодарского края // Труды Кубанского государственного аграрного университета. — 2012. — № 34. — С. 184-186.

132. Трайнев, В.А. Новые информационные коммуникационные технологии в образовании / В.А. Трайнев, В.Ю. Теплышев, И.В. Трайнев. — М.: Дашков и К, 2009. — 320 с.

133. Трошин А.Н. Усовершенствование лечебных и профилактических мероприятий при мастите у коров. Дисс. ...канд. вет. наук. Воронеж, 1996 – с .54.

134. Трошин А.Н. Фармакотерапия коров при мастите с использованием комплексного препарата уберцид. \ Автореф. дисс. ... канд. вет. наук. Краснодар, 2003 – С . 18.

135. Черепахина, Л.А. Мастит коров кокковой этиологии как факторная инфекция и рациональные способы ее терапии / Л.А. Черепахина – Орел: ОрелГАУ, 2007. – 156 с.
136. Филиппова О.В. Нетрадиционные способы лечения мастита у коров. Дисс...канд.вет.наук. Оренбург, 2000 - 122 с
137. Хилькевич Н.М. Опыт диагностики и лечения мастита. / Н.М. Хилькевич, С.Х. Икаев. // Ветеринария. -1982. -№4. с. 44-45.
138. Хоменко В., Роговской П. Ветеринарная медицина Украины. - 2003. - № 8. - С.42-44.
139. Черепахина, Л.А. Эпизоотические аспекты мастита у коров. Учебное пособие / Л.А. Черепахина, Г.Н. Кузьмин. – Орел Изд-во Орел ГАУ. – 2008. -71 с.
140. Ширяев С.И. Разработка и эффективность комплексного метода фармакопрофилактики мастита и послеродовых болезней у коров. Дисс. ... канд. вет. наук. Воронеж, 2010 - 130 с.
141. Шахов А.Г. Неотложные задачи профилактики мастита у коров / А.Г. Шахов, В.Д. Масайлов, А.Г. Нежданов, В.А. Париков // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2007. - №4. – С. 3-7.
142. Шехватов, А.Г. Отчет о НИР «Клиническая апробация препарата Пульсовита в ветеринарной практике» [Текст] / А.Г. Шехватов. – Волгоград, 2010. – С. 12.
143. Юдичев, Ю.Ф. Анатомия животных/ Ю.Ф. Юдичев, В.В. Дегтярев, Г.А. Хонин; под редакцией проф. В.В. Дегтярева. – Оренбург: Издательский центр ОГАУ, 2013 – С. 94-99.
144. Anderson D., Hill B. & Pugh D. Diseases of the mammary gland // Sheep and Goat Medicine, W. B. Saunders. — Philadelphia, 2002. — P. 341-35.
145. Artem'eva O.A., Pereselkova D.A., Fomichev Yu.P. Dihydroquercetin, the bio-active substance, to be used against pathogenic microorganisms as an alternative to antibiotics. Agricultural Biology, 2015, 50(4): 513-519 (doi: 10.15389/agrobiology.2015.4.513eng).

146. Artem'eva O.A., Pereselkova D.A., Vinogradova I.V., Kotkovskaya E.N., Gladyr'E.A., Sivkin N.V., Zinovieva N.A. Screening of dairy cows' herd for presence in milk of hemolytic microorganisms in relation to somatic cell content. *Agricultural Biology*, 2015, 50(6): 810-816 (doi: 10.15389/agrobiology.2015.6.810eng).
147. Al-Ashmony A.L., Al-Sawy A.A.F., Torky H.A. Genotypic molecular detection of certain genes encoding virulence determinates and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from mastitis cows. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences (AJVS)*, 2016, 49(2): 9098 (doi: 10.5455/ajvs.230403).
148. Anueyiagu K.N., Isiyaku A.W. Isolation, identification of *Staphylococcus aureus* from bovine milk and its antibiotics susceptibility. *International Journal of Livestock Production*, 2015, 6(6): 74-77 (doi: 10.5897/IJLP2015.0248).
149. Abeer A.M., Zakia A.M., Muna E.A., Sabiel Y.A. Bacteriological and pathological studies of mammary glands affections in camels (*Camelus dromedarius*) at Tumboul Abattoir, Sudan. *British Microbiology Research Journal*, 2016, 15(5): 1-8 (doi: 10.9734/BMRJ/2016/25966).
150. Ashfaq M., Razzaq A., Shamsheer-ul-Haq, Muhammad G. Economic analysis of dairy animal diseases in Punjab: a case study of Faisalabad district. *J. Anim. Plant Sci.*, 2015, 25(5): 1482-1495.
151. Akineden O., Annemuller C, Hassa A.A., Lamler C., Wolter W., Zschock M.: Toxingenes and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cow with mastitis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol*, 2001,8, 959-964.
152. Bannermann D.D., Chockalingam A., Paape M.J., Hope J.C.: The bovine innate response during experimentally- induced *Pseudomonas aeruginosa* mastitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2005,107,201-215.
153. Blowey R., Edmondson P. *Mastitis Control in Dairy Herds*, 2nd edn, CAB International, Oxfordshire, — 2010. — P. 1-4.
154. Bystron J., Kosek-Paszkowska K., Molenda J.: Występowanie gronkowców enterotoksycznych w mleku surowym. *Medycyna Wet.* 2001, 57,645648.

155. Farnsworth R.J.: Significance of fungal mastitis. *J. Am. Vet. Ass.* 170, 1173-1174, 1977.
156. Krzyzanowski J., Sielicka B.: The characteristics of anascogenic yeasts isolated from the clinical cases of mastitis in cows. *Annales UMCS, Sec. DD* 1996, 51, 59-64.
157. Lorraine M., Sordillo L.M. Mammary gland immunity and susceptibility / M. Lorraine, L.M. Sordillo, K.L. Streicher // *Journal of Mammary Gland and Neoplasia*. - 2002. - Vol. 7. - N. 2. - P. 135-147.
158. Malinowski E.: Znaczenie i profilaktyka mastitis - perspektywy. *Zycie Wet.* 76, 467-471, 2001.
159. Malinowski E., Lassa H., Klossowska A., Smulski S., Markiewicz H., Kaczmarowski M.: Etiological agents of dairy cows' mastitis in western part of Poland. *Pol. J. Vet. Sei.* 2006,9, 191-194
160. Malinowski E., Lassa H., Klossowska A., Markiewicz H., Kaczmarowski M., Smulski S.: Relationship between mastitis agents and somatic cell count in foremilk samples. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2006, 50, 349—352.
161. Malinowski E., Lassa H., Klossowska A.: Isolation of *Prototheca zopfii* from inflamed secretion of udders. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2002,46, 295-299.
162. Niewitecki W., Malinowski E., Kaczmarowski M.: Skuteczność konwencjonalnego i skojarzonego leczenia klinicznych postaci mastitis. *Mat. XXXV Konferencji Naukowej Sekcji Fizjologii i Patologii oraz Sztucznego Unasienniania Zwierząt PTNW*. Wenecja, 1-2. X, 113, 2001.
163. Oliver S.P., Jayaiao B.M., Almeida R.A.: Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathog. Dis.* 2005, 2, 115-129.
164. Oliver S.P., Layarao B.M., Almeida A.A.: Foodborne pathogens, mastitis, milk quality, and dairy food safety. *Proc. National Mastitis Council Annual Meeting*. Orlando, Florida 2005c, s. 3-27.
165. Oliver S.P., Murinda S.E., Nguyen L.T., Nam H.M., Almeida R.A., Haendrick S.J.: On- farm sources of foodborne pathogens: isolation from the dairy

environment. Mastitis in dairy production. Wageningen Academic Publishers 2005, s. 665-670.

166. Hogan J., Smith K.L.: Coliform mastitis. *Vet. Res.* 2003, 34, 507-519.

167. Sankar P. New therapeutic strategies to control and treatment of bovine mastitis. *Vet. Med. Open J.*, 2016, 1(2): e7-e8 (doi: 10.17140/VM0J-1-e004).

168. Sun H., Xue F., Qian K., Zhang X., Yin Z. Intramammary expression and therapeutic effect of a human lysozyme-expressing vector for treating bovine mastitis. *J. Zhejiang Univ. — Sci. B*, 2006, 7: 324-330 (doi: 10.1631/jzus.2006.B0324).

169. Sayed R.H., Salama S.S., Soliman R.T. Bacteriological evaluation of present situation of mastitis in dairy cows. *Global Veterinaria*, 2014, 13(5): 690-695.

170. Sankar P. New therapeutic strategies to control and treatment of bovine mastitis. *Vet. Med. Open J.*, 2016, 1(2): e7-e8 (doi: 10.17140/VM0J-1-e004).

171. Sun H., Xue F., Qian K., Zhang X., Yin Z. Intramammary expression and therapeutic effect of a human lysozyme-expressing vector for treating bovine mastitis. *J. Zhejiang Univ. — Sci. B*, 2006, 7: 324-330 (doi: 10.1631/jzus.2006.B0324).

172. Wenz J.R., Barrington G.M., Garry F.B., McSweeney K.D., Dinsmore R.P., Goodell G., Callan R.J.: Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2001, 219, 976-981.

173. Wawron W., Szczubial M.: Leczenie grzybiczych zapalen wymion u krow. *Medycyna Wet.* 57, 863-866, 2001.

АКТ

Мы, нижеподписавшиеся, – ведущий ветеринарный врач предприятия «Крупское» АФ «Агрокомплекс им. Н.И. Ткачева» Краснодарского края Сысоев А. В., заведующий МТФ № 1 Юдина Н. П., ветеринарный врач МТФ № 1 Зуева М. Н., аспирант кафедры терапии и фармакологии Кубанского государственного аграрного университета имени И. Т. Трубилина Дятлов Н. В., – составили настоящий акт в том, что нами была проведена проверка профилактической эффективности пробиотического средства для обработки сосков вымени после доения «Биомастим».

Профилактический эффект проверяли на 208 коровах голштинской породы в период с января 2019 года по июнь 2019 года.

Препарат «Биомастим» применяли коровам в 10% концентрации ежедневно, трехкратно, с интервалом 6 часов непосредственно после доения.

Комиссия отмечает, что заболеваемость коров клиническим маститом в период применения препарата «Биомастим» в данной группе за указанный период исследования составила 9,62% (20 голов), скрытым маститом – 12,98% (27 голов).

Также отмечалось, что количество соматических клеток в молоке, полученном от данных коров, в течение опыта снизилось в среднем на 4,17% (среднее значение на начало опыта составляло $240 \pm 9,269$ тыс./мл, на конец опыта - $230 \pm 8,900$ тыс./мл), при этом прочие показатели качества молока (массовая доля жира, массовая доля белка, СОМО, плотность, общая бактериальная обсемененность) на протяжении всего опыта оставались в пределах нормальных физиологических значений.

Считаем, что пробиотическое средство для обработки сосков вымени после доения «Биомастим» является эффективным средством для профилактики возникновения клинических и скрытых маститов коров.

Подписи:

Ведущий ветеринарный врач

Заведующий МТФ № 1

Ветеринарный врач МТФ № 1

Аспирант кафедры терапии и фармакологии Кубанского государственного аграрного университета имени И. Т. Трубилина



А. В. Сысоев

Н. П. Юдина

М. Н. Зуева

Н. В. Дятлов

АКТ

Мы, нижеподписавшиеся, – главный ветеринарный врач ООО «АФ им. Ильича» Однолько В. В., заведующий МТФ № 5 Лихота А. И., ветеринарный врач МТФ № 5 Кабаненко И. И., аспирант кафедры терапии и фармакологии Кубанского государственного аграрного университета имени И. Т. Трубилина Дятлов Н. В., – составили настоящий акт в том, что нами была проведена проверка профилактической эффективности пробиотического средства для обработки сосков вымени после доения «Биомастим».

Профилактический эффект проверяли на 230 коровах голштинской породы в период с января 2019 года по июнь 2019 года.

Препарат «Биомастим» применяли коровам в 10% концентрации ежедневно, трехкратно, с интервалом 6 часов непосредственно после доения.

Комиссия отмечает, что заболеваемость коров клиническим маститом в период применения препарата «Биомастим» в данной группе за указанный период исследования составила 3,91% (9 голов), скрытым маститом – 5,65% (13 голов).

Также отмечалось, что количество соматических клеток в молоке, полученном от данных коров, в течение опыта снизилось в среднем на 4,17% (среднее значение на начало опыта составляло $140 \pm 4,100$ тыс./мл, на конец опыта - $110 \pm 3,910$ тыс./мл), при этом прочие показатели качества молока (массовая доля жира, массовая доля белка, СОМО, плотность, общая бактериальная обсемененность) на протяжении всего опыта оставались в пределах нормальных физиологических значений.

Считаем, что пробиотическое средство для обработки сосков вымени после доения «Биомастим» является эффективным средством для профилактики возникновения клинических и скрытых маститов коров.

Подписи:

Главный ветеринарный врач



В. В. Однолько

Заведующий МТФ № 5

А. И. Лихота

Ветеринарный врач МТФ № 5

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'I. I. Kabanenko', written over a horizontal line.

И. И. Кабаненко

Аспирант кафедры терапии и фармакологии Кубанского государственного аграрного университета имени И. Т. Трубилина

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'N. V. Dyatlov', written over a horizontal line.

Н. В. Дятлов

АКТ

Мы, нижеподписавшиеся, – ведущий ветеринарный врач предприятия «Газырское» АФ «Агрокомплекс им. Н.И. Ткачева» Краснодарского края Сысоев А. В., заведующий МТФ № 1 Римкус С. Н., ветеринарный врач МТФ № 1 Савченко А. Е., аспирант кафедры терапии и фармакологии Кубанского государственного аграрного университета имени И. Т. Трубилина Дятлов Н. В., – составили настоящий акт в том, что нами была проведена проверка профилактической эффективности пробиотического средства для обработки сосков вымени после доения «Биомастим».

Профилактический эффект проверяли на 192 коровах голштинской породы в период с января 2019 года по июнь 2019 года.

Препарат «Биомастим» применяли коровам в 10% концентрации ежедневно, трехкратно, с интервалом 6 часов непосредственно после доения.

Комиссия отмечает, что заболеваемость коров клиническим маститом в период применения препарата «Биомастим» в данной группе в указанный период исследования составила 7,92% (19 голов), скрытым маститом – 10,42% (25 голов).

Также можно отметить, что количество соматических клеток в молоке, полученном от данных коров, в течение опыта снизилось в среднем на 13,64% (среднее значение на начало опыта составляло $220 \pm 7,800$ тыс./мл, на конец опыта - $190 \pm 5,474$ тыс./мл), при этом прочие показатели качества молока (массовая доля жира, массовая доля белка, СОМО, плотность, общая бактериальная обсемененность) на протяжении всего опыта оставались в пределах нормальных физиологических значений.

Считаем, что пробиотическое средство для обработки сосков вымени после доения «Биомастим» является эффективным средством для профилактики возникновения клинических и скрытых маститов коров.

Подписи:

Ведущий ветеринарный врач

Заведующий МТФ № 1

Ветеринарный врач МТФ № 1

Аспирант кафедры терапии и фармакологии Кубанского государственного аграрного университета имени И. Т. Трубилина



А. В. Сысоев

С. Н. Римкус

А. Е. Савченко

Н. В. Дятлов

АКТ

Мы, нижеподписавшиеся, – ведущий ветеринарный врач предприятия «Родина» АФ «Агрокомплекс им. Н.И. Ткачева» Краснодарского края Сысоев А. В., заведующий МТФ № 2 Бибик Н. И., ветеринарный врач МТФ № 2 Филатова А. В., аспирант кафедры терапии и фармакологии Кубанского государственного аграрного университета имени И. Т. Трубилина Дятлов Н. В., – составили настоящий акт в том, что нами была проведена проверка профилактической эффективности пробиотического средства для обработки сосков вымени после доения «Биомастим».

Профилактический эффект проверяли на 204 коровах голштинской породы в период с января 2019 года по июнь 2019 года.

Препарат «Биомастим» применяли коровам в 10% концентрации ежедневно, трехкратно, с интервалом 6 часов непосредственно после доения.

Комиссия отмечает, что заболеваемость коров клиническим маститом в период применения препарата «Биомастим» в данной группе за указанный период исследования составила 10,78% (22 голов), скрытым маститом – 11,27% (23 голов).

Также отмечалось, что количество соматических клеток в молоке, полученном от данных коров, в течение опыта снизилось в среднем на 12% (среднее значение на начало опыта составляло $250 \pm 8,484$ тыс./мл, на конец опыта - $220 \pm 6,474$ тыс./мл), при этом прочие показатели качества молока (массовая доля жира, массовая доля белка, СОМО, плотность, общая бактериальная обсемененность) на протяжении всего опыта оставались в пределах нормальных физиологических значений.

Считаем, что пробиотическое средство для обработки сосков вымени после доения «Биомастим» является эффективным средством для профилактики возникновения клинических и скрытых маститов коров.

Подписи:

Ведущий ветеринарный врач

Заведующий МТФ № 2

Ветеринарный врач МТФ № 2

Аспирант кафедры терапии и фармакологии Кубанского государственного аграрного университета имени И. Т. Трубилина



А. В. Сысоев

Н. И. Бибик

А. В. Филатова

Н. В. Дятлов

ФГБОУ ВО «КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Т. ТРУБИЛИНА»

УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по научной работе,
д-р биол. наук профессор



А. Г. Коцаев

«21» 01 2020 г.

БИОМАСТИМ

Технические условия

ТУ 002.006.70.223-20

(в порядке широкого производственного испытания в течение 2019-2020 гг.)

Дата введения в действие

«21» 01 2020 г.

РАЗРАБОТАНО:

Зав. кафедрой терапии и
фармакологии

 И.С. Коба

Аспирант кафедры терапии и
фармакологии

 Н. В. Дятлов

Краснодар, 2020 г.