

На правах рукописи



НОВИКОВА ЕЛЕНА НИКОЛАЕВНА

**ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО
ПОСЛЕРОДОВОГО ЭНДОМЕТРИТА И РАЗРАБОТКА
СИСТЕМЫ ЕГО ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ У КОРОВ**

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

06.02.06 - ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук

Краснодар – 2020

Работа выполнена в Краснодарском научно-исследовательском ветеринарном институте – обособленном структурном подразделении федерального государственного бюджетного научного учреждения «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии»

Научный консультант: доктор ветеринарных наук
Коба Игорь Сергеевич

Официальные оппоненты: **Конопельцев Игорь Геннадьевич**, доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры терапии, хирургии, акушерства и заразных болезней ФГБОУ ВО «Вятская государственная сельскохозяйственная академия»

Бондаренко Владимир Олегович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией контроля качества лекарственных средств ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ ВГНКИ).

Михалёв Виталий Иванович, доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией болезней органов воспроизводства, молочной железы и молодняка сельскохозяйственных животных ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» ФГБОУ ВО СПбГУВМ

Защита диссертации состоится «24» февраля 2021 г., в 10 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 220.038.07 на базе ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» по адресу: 350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13, корпус факультета ветеринарной медицины.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке университета и на сайтах: ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» – <http://www.kubsau.ru> и ВАК – <http://vak.ed.gov.ru>.

Автореферат разослан «_____» _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Диана Петровна Винокурова

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В связи с увеличением концентрации поголовья крупного рогатого скота на небольших территориях из-за интенсификации молочного скотоводства, создаются неблагоприятные условия для маточного стада, способствующие снижению устойчивости к различным патогенным агентам. Особенно ярко это бывает выражено в послеродовой период и сопровождается снижением воспроизводительной способности у коров. Из-за низкого воспроизводства стада хозяйства несут огромные экономические потери, что не позволяет им вовремя не только осуществлять продажу племенных животных, но и проводить качественный ремонт стада (И. А. Родин, 2002; Н. И. Полянцев, В. В. Подберезный; 2004; Е. И. Нижельская, 2010; К. В. Племяшов, 2010; Е. П. Агринская, 2011; В. А. Антипов, А. Н. Турченко, Е. В. Громыко, М. В. Назаров, 2011; В. Я. Никитин, Н. В. Белугин, 2016; И. С. Коба, 2018 и др.). Снижение воспроизводительной способности и продуктивности коров, рождение нежизнеспособного приплода, его высокая заболеваемость и отход обуславливаются различными негативными факторами внешней среды, включающими нарушения в кормлении, содержании, эксплуатации животных и др. (В. В. Горчаков, З. Я. Косорлукова, Р. Е. Ким, 2003). Также снижению темпов репродукции в животноводстве способствует широкое распространение симптоматического бесплодия коров, одной из основных причин которого являются острые послеродовые эндометриты (А. Г. Нежданов и др. 2016; В. Я. Никитин, 2003; Е. В. Громыко, М. В. Назаров, 2011; P. J. H. Ball, A. R. Peters 2004; С. В. Федотов 2008; L. Des Côtiaux, J. Colloton, G. Gnemmi, 2010; M. R. Amos, G. D. Healey, R. J. Goldstone, 2014; R. Armengol, L. Fraile, 2015; В. С. Авдеенко, 2015). Удельный вес острого послеродового эндометрита продолжает оставаться высоким во всех странах мира и регистрируется у 20-60 % коров (В. Я. Никитин, 2016; В. И. Михалев, 2011; О. Э. Грига, С. Е. Боженков, Э. Н. Грига, 2013; А. Г. Нежданова, 2016; В. С. Авдеенко, 2015 и других исследователей).

Основу профилактических мероприятий воспалительных процессов в репродуктивных органах составляет использование противомикробных препаратов, в качестве которых используют антибиотики, сульфаниламиды, нитрофураны и др. (Т. Е. Григорьева, 1988; Н. И. Полянцев, 1989; А. Н. Турченко, С. П. Кудимова, 2005). Однако, по данным исследований ученых (В. П. Гончаров с соавт., 1981; И. Н. Зюбин, М. Ф. Зюбина, 1988 и др.) длительное применение антибиотиков ведет к образованию резистентных штаммов микроорганизмов. Многие авторы в качестве альтернативы применения антибиотиков предлагают использовать пробиотики для профилактики послеродовых эндометритов у коров (С. С. Татарина, 2007; М. В. Ряпосова, И. А. Шкуратова, 2012), в связи с тем, что микрофлора влагалища в норме характеризуется большим количеством лактобактерий, которое достигает 70-98 % от общего числа микроорганизмов, отличающихся

высокой метаболической активностью (Е. Ф. Кира, 2001). При этом наличие достаточного количества на слизистой оболочке лактобактерий – важный фактор, обеспечивающий адекватный уровень местных иммунных механизмов. Кроме того, выделяемая в процессе обмена веществ этих микроорганизмов молочная кислота поддерживает рН влагалищной среды в пределах 3,8-4,4, что обуславливает защиту от колонизации слизистой оболочки различными условно-патогенными и патогенными микроорганизмами (М. В. Ряпосова, И. А. Шкуратова, 2012). Поэтому разработка пробиотических препаратов для профилактики острых послеродовых эндометритов у коров является актуальной задачей современной ветеринарной науки как наиболее экологических и естественных конкурентов патогенной микрофлоры в родополовых путях самок.

При этом, в связи с полиэтиологичностью острых послеродовых эндометритов у коров и установленным фактом, что воспалительные процессы в половых органах самок обусловлены условно-патогенной микрофлорой лечение больных животных требует комплексного подхода, включающего нормализацию обмена веществ в организме животных и в поражённом органе, а также подавление жизнедеятельности патогенных микроорганизмов путём обязательного применения антимикробных средств (И. С. Коба, 2009; В. И. Михалёв и др., 2011; А. Г. Нежданов и др., 2016; А. В. Филатов и др., 2017, Л. В. Ческидова, 2017).

Разработанные и широко используемые в практике ветеринарной гинекологии антимикробные препараты, содержат активнодействующие вещества самого разного направления: антибиотики, сульфаниламиды, нитрофураны, четвертичные аммонийные соли, краски, как в чистоте, так и в различных сочетаниях и т.д. (А. Н. Турченко, 2011; И. С. Коба, 2009; В. И. Михалёв и др., 2011; А. Г. Нежданов и др., 2016; А. В. Филатов и др., 2017). Установлено, что микрофлора рано или поздно вырабатывает устойчивость к большинству антибиотиков, и даже к некоторым их сочетаниям, что снижает их эффективность и побуждает к дальнейшему изучению этиопатогенеза неспецифического острого послеродового эндометрита смешанной этиологии у коров, разработке, научному обоснованию и испытанию новых более эффективных пробиотических, антибактериальных и фунгицидных препаратов комплексного лечебного действия.

С учетом изложенного очевидна необходимость усовершенствования организации профилактики острых послеродовых неспецифических эндометритов у коров, а при их возникновении – своевременного выявления больных животных и их рациональное лечение, обеспечивающее недопущение перехода острого воспалительного процесса в хроническое воспаление, при котором возможны необратимые структурные изменения в эндометрии. При этом стоит отметить, что около 15 % эндометритов вызвано ассоциациями бактерий и грибов, при этом данная патология протекает тяжелее с большим процентом перехода в хроническую форму. Поэтому при этиотропной терапии

необходимо учитывать этот фактор и применять средства, включающие как антибиотики, так и фунгицидные препараты.

Степень разработанности темы. Мониторинг распространения острых послеродовых эндометритов у коров ежегодно проводят специалисты и ученые во всех регионах Российской Федерации и за рубежом (С. Ф. Чучалин, 2004; К. В. Леонов, 2006; Е. И. Нижельская, 2010; Л. В. Бледных, 2011; В. И. Михалев, А. Г. Нежданов и др., 2014; И. Г. Конопельцев, С. В. Николаев, А. Л. Мухамадьярова, 2015; Т. Goshen, N. Y. Shpigel, 2006; Р. Г. Кузьмича, 2000, 2012; N. Zeron et al., 2010 А. Р. Mc. Naughton, R. D. Murray, 2009 и др.). Полиэтиологичность возникновения эндометритов у коров доказали В. И. Ильинский, 1972; А. Н. Турченко, 1999; В. Я. Нежданов, 1987; С. С. Дегтярева, 2008; И. С. Коба, 2009; В. Я. Никитин и др., 2011; М. А. Багманов, 2005; Э. Н. Грига, 2000; К. В. Леонов, 2006. При этом ведущими компонентами в этиопатогенезе неспецифического воспаления эндометрия у коров являются травмирование, ослабление естественной резистентности организма (В. В. Винников, 1999; М. А. Багманов, И. Н. Хайрулин, 1996; А. Н. Турченко, А. А. Лимаренко; 1996; А. В. Иванов с соавт., 2003; Г. К. Дашукаева, Н. А. Каширина, 2000; А. Н. Турченко, 2001; А. Г. Нежданов, А. Г. Шахов, 2005; П. Б. Должанова, 2004; И. С. Коба, 2006; А. В. Воробьев с соавт., 2009). По данным многочисленных исследователей (Т. Е. Григорьева, 1988, 2012; А. Н. Турченко, 1999; Э. Н. Грига, 2003; С. С. Дегтярева, 2008; И. С. Коба, 2009; А. В. Воробьева, 2009; Т. П. Брехов, В. В. Филин и др., 2011, R. S. Youngquist, M. D. Shore, 1997; I. Biksi et al., 2002; O. I. Azawi, 2010, S. J. LeBlanc, 2014; A. M. Ledgard et al., 2015; B. A. Clemmons, S. T. Reese, F. G. Dantas et al., 2017 и др.). ведущая роль в этиологии послеродового эндометрита у коров принадлежит патогенным и условно-патогенным микроорганизмам, спектр которых непрерывно расширяется, а их вирулентность и антибактериальная устойчивость усиливаются. Поэтому необходимость изучения и уточнения этиологических факторов и патогенеза послеродового эндометрита остается актуальной задачей ветеринарной науки.

В качестве этиотропных средств для профилактики эндометритов одни ученые предлагают применять антибиотики (И. С. Коба, 2009; В. И. Михалев и др., 2011; А. Г. Нежданов и др., 2016; А. В. Филатов и др., 2017), другие останавливают свой выбор на пробиотиках (В. В. Подберезный, 1995; Б. М. Венцовский, В. А. Товстановская и др., 2002, 2009; Г. А. Ноздрин, О. Ю. Леденева и др., 2003; Б. Т. Стегний, Т. Ю. Трусьюкова, 2004; Б. Т. Стегний, С. А. Гужвинская, 2005; А. В. Воробьева, Ю. В. Лимонова и др., 2009). При этом очевидны положительные стороны обоих подходов к профилактике данной патологии.

Лечение коров, больных эндометритом, основано на местной этиотропной терапии. Применяют препараты, которые обладают пролонгированным противомикробным действием, обеспечивают полную санацию матки, повышают тонус и сократительную способность матки, стимулируют регенеративные процессы в эндометрии и повышают

резистентность организма (Д. П. Зенкина, 2018). Наиболее эффективными при болезнях половых органов сельскохозяйственных животных являются антимикробные средства, применяемые внутриматочно. В ветеринарном акушерстве для этих целей чаще всего используются лекарственные препараты в форме растворов, суппозиториев и таблеток, состоящих из активнодействующих веществ и основы, которая влияет на фармакодинамику и фармакокинетику препарата, и, следовательно, на его эффективность (А. И. Тихонов и др., 2003).

Так как обеспечение животноводства эффективными лекарственными средствами является важной задачей ветеринарной фармакологии, то разработка методологических подходов к профилактике и лечению острых послеродовых эндометритов у коров, а также создание новых лекарственных препаратов может расширить перечень лекарственных средств для лечения сельскохозяйственных животных, а системный подход к лечению и профилактике данной патологии приведет к повышению профилактической и терапевтической эффективности, а также сокращению экономических затрат.

Цели и задачи. Была поставлена следующая **цель**: определить основные факторы этиологии и патогенеза неспецифического послеродового эндометрита у коров в современных условиях ведения молочного скотоводства и разработать комплексную систему его профилактики и терапии.

Для достижения цели определены к изучению следующие **задачи**:

1. Определить распространение акушерско-гинекологических патологий у коров на территории Краснодарского края.

2. Установить основные этиологические факторы возникновения острых послеродовых эндометритов у коров.

3. Определить особенности патогенеза неспецифического острого послеродового эндометрита у коров на современных молочно-товарных комплексах.

4. Разработать методы ранней диагностики острых послеродовых эндометритов у коров.

5. Разработать эффективный пробиотический препарат для профилактики острых послеродовых эндометритов у коров.

6. Разработать новый комплексный антимикробный и фунгицидный препарат для профилактики и лечения послеродовых эндометритов у коров.

7. Провести токсико-фармакологическую оценку этих препаратов.

8. Дать клиническую оценку профилактической и терапевтической эффективности разработанных препаратов при неспецифическом остром эндометрите у коров.

9. Разработать комплексную систему профилактики и лечения неспецифического острого послеродового эндометрита у коров.

Научная новизна работы. Определена степень распространения неспецифического острого послеродового эндометрита у коров в Краснодарском крае, уточнены этиологические факторы и особенности этиопатогенеза в условиях современного ведения молочного скотоводства.

Впервые разработан способ экспресс-диагностики скрытых воспалительных процессов репродуктивных органов коров. Разработаны пробиотический препарат для профилактики острых послеродовых эндометритов у коров, а также комплексный антимикробный и анимикозный препарат широкого спектра действия, с подтвержденной высокой профилактической и терапевтической эффективностью. Дана фармако-токсикологическая и клиническая оценка терапевтической эффективности этих препаратов. На разработанные препараты утверждена необходимая нормативно-техническая документация (технические условия, инструкции по изготовлению и контролю препаратов, наставления по их применению). Впервые на основе разработанных препаратов предложено две новые системы профилактики и лечения острых послеродовых эндометритов крупного рогатого скота.

Научная новизна подтверждена патентами РФ на изобретение: № 2538804 Способ профилактики послеродового эндометрита у коров; № 2613141 Средство для лечения острого и хронического эндометрита у коров; № 2518732 Способ лечения эндометритов у высокопродуктивных коров; № 2497534 Способ получения бактериального препарата для профилактики послеродового эндометрита у крупного рогатого скота; № 2629273 Способ экспресс-диагностики скрытых воспалительных процессов молочной железы и репродуктивных органов коров.

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведены научные исследования по уточнению этиологии, клинической картины, патогенеза и диагностики неспецифического острого послеродового эндометрита смешанной этиологии у коров в современных условиях ведения молочного скотоводства. Предложены новые препараты, которые обеспечивают высокую эффективность профилактики и лечения коров с неспецифическим острым послеродовым эндометритом, что может способствовать снижению уровня симптоматического бесплодия крупного рогатого скота, наносимого экономического ущерба и повышения рентабельности молочного скотоводства. Разработаны мероприятия по профилактике и лечению неспецифического острого послеродового эндометрита у коров. Материалы проведенных исследований были использованы при разработке системы комплексной фармако-профилактики и терапии акушерско-гинекологических патологий у коров, регистрируемых в родовой и послеродовой период. Это позволило разработать и утвердить в установленном порядке РФ следующие разработки: Методические рекомендации «Профилактика и терапия эндометритов у коров».

В Российской Федерации проведена регистрация пробиотического препарата Гипролам (Регистрационное удостоверение лекарственного препарата для ветеринарного применения 02-3-10.16-3345 №ПРВ-1-35.13/02987).

Результаты исследований используются в учебном процессе ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет».

Методы и методология исследования. Методологический подход к выполнению диссертационных исследований основан на комплексном системном изучении объектов исследования, математической обработке, анализе и синтезировании полученных результатов.

Объектом исследований служили лабораторные животные (белые мыши, белые крысы, морские свинки, кролики) и крупный рогатый скот (коровы) хозяйств Выселковского, Кореновского, Гулькевического, Северского, Тимашевского, Брюховецкого, Ейского районов и территориального округа города Краснодара Краснодарского края.

Исследования проводились с использованием химико-фармацевтических, фармако-токсикологических, клинических, акушерско-гинекологических, микробиологических, гематологических, биохимических, иммунологических, патологоанатомических и статистических методов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Распространение, особенности этиологии, патогенеза и проявления неспецифического острого послеродового эндометрита в условиях современных молочно-товарных комплексов Краснодарского края.

2. Физико-химические свойства разработанных препаратов Гипролам и Флориназол для профилактики и терапии неспецифических острых послеродовых эндометритов у коров.

3. Оценка параметров токсичности препаратов.

4. Фармакологические свойства препаратов и их биологическое влияние на организм коров.

5. Обоснование лечебно-профилактической эффективности применения препаратов при неспецифических острых послеродовых эндометритах у коров.

6. Результаты внедрения препаратов в ветеринарию и экономическая эффективность их применения в сельскохозяйственном производстве.

7. Комплексная система мероприятий по предупреждению и терапии неспецифического острого послеродового эндометрита смешанной этиологии у коров.

Степень достоверности полученных результатов. Степень достоверности подтверждается повторяемостью, воспроизводимостью и статистической обработкой экспериментальных данных, полученных в результате опытов, а также результатами лабораторных и производственных исследований. Для экспериментальных работ использовано сертифицированное оборудование, позволяющее получать воспроизводимые результаты. Используются современные методы сбора и обработки исходной информации, в том числе с применением методов математической статистики.

Математическая обработка полученных результатов исследований выполнена с помощью программ Windows 2010, Microsoft Office 2010, степень достоверности «Р» устанавливали по распределению Стьюдента.

Апробация работы. Основные результаты диссертационного исследования доложены и одобрены на конференциях и симпозиумах: научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня образования

Кубанского государственного аграрного университета «Опыт международного сотрудничества в области экологии, лесного хозяйства, ветеринарной медицины и охотоведения» (Летняя школа, Кубань, 2011); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной ветеринарии», посвященной 65-летию ветеринарной науки Кубани (Краснодар, 2012); Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию со дня рождения и 50-летию научно-практической деятельности д.в.н., профессора Г. Ф. Медведева (Горки: БГСХА, 2013 г); Региональной научно-практической межвузовской конференции «Актуальные задачи ветеринарии, медицины и биотехнологии в современных условиях и способы их решения» (ГНУ Самарская НИВС РАСХН, Самара, 2013); Международной научно-практической конференции, посвященной 45-летию ГНУ ВНИВИПФиТ Россельхозакадемии (Воронеж, 2015); Всероссийской научно-практической конференции «Наилучшие доступные технологии» (пос. Персиановский, 2016); XI Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 95-летию Кубанского ГАУ и 80-летию со дня образования Краснодарского края «Научное обеспечение агропромышленного комплекса» (Краснодар, 2017); Международной научно-практической конференции «Современное состояние животноводства: проблемы и пути их решения» (Краснодар, 2018); XI Всероссийской конференции молодых ученых «Научное обеспечение агропромышленного комплекса», посвященной 95-летию Кубанского ГАУ и 80-летию со дня образования Краснодарского края (Краснодар, 2017); 73-й научно-практической конференции преподавателей (Краснодар, 2017); Международной научно-практической конференции «Перспективы и актуальные проблемы развития высокопродуктивного молочного и мясного скотоводства» (Витебск, 2017); Международной научно-практической конференции «Современное состояние животноводства: проблемы и пути их решения» (Саратов, 2018); Юбилейной Международной научно-практической конференции «Научные основы повышения продуктивности и здоровья сельскохозяйственных животных», посвященной 50-летию учреждения (Краснодар, 2019); на конкурсе Российской агропромышленной выставки «Золотая осень» (Москва, 2016, 2019 гг.).

Личное участие автора в получении научных результатов.

Диссертация выполнена автором самостоятельно и является результатом многолетних научных исследований. Автором лично сформулирована проблема, определены цель и задачи исследований, пути их реализации, проведены постановка и выполнение эксперимента, обработка и интерпретация результатов.

В проведении ряда исследований принимали участие И. С. Коба, Н. Ю. Басова, М. С. Дубовикова, М. Б. Решетка, Н. И. Крюков и другие, которым автор выражает огромную благодарность за оказанную помощь и плодотворное сотрудничество.

Все авторы не имеют возражений при использовании в диссертации совместных данных, на что дано их письменное разрешение.

Ценность научных работ соискателя. На основании материалов исследований разработано два этиотропных препарата для профилактики и лечения острых послеродовых эндометритов у коров, а также нормативно-техническая документация к ним.

Для специалистов ветеринарной службы, а также реализации образовательных программ по профильным специальностям в коллективном соавторстве разработаны и изданы: две монографии и одна методическая рекомендация.

Публикации. Результаты диссертационных исследований опубликованы в 36 научных работах, из них 11 в рецензируемых научных изданиях, входящих в Перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций (рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ) и одна статья, входящая в международную библиографическую и реферативную базу данных «Scopus», 18 статей в базе данных РИНЦ, 6 публикаций в сборниках статей по материалам конференций.

Соответствие содержания диссертации специальности. Вопросы, освещенные в диссертационной работе «Этиология и патогенез неспецифического послеродового эндометрита и разработка системы его профилактики и терапии у коров» соответствуют специальностям 06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией и 06.02.06 - ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных.

Объем и структура диссертации. Объем диссертации составляет 329 страницы компьютерной верстки и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, заключение, выводы, практические предложения и приложение. Библиографический список включает 530 источник, в том числе 100 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 57 таблицами, 31 рисунками, из них 16 фотографических снимков.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 2010-2019 гг. в отделе терапии и акушерства Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института – обособленного подразделения ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» в соответствии с планом научно-исследовательских работ по заданию НИР с 2011 г. по 2019 г. № 08.04.02.01 (2011-2014 гг.), № 0688-2014-0054 (2015-2018 гг.), № 0688-2019-0007.

В работе использованы данные отчетности Департамента ветеринарии Краснодарского края, данные годовой отчетности хозяйств Краснодарского края за 5 лет, а также данные годовой и текущей отчетности отдела терапии и акушерства Краснодарского НИВИ.

Опыты на сельскохозяйственных животных были проведены на коровах голштино-фризской, айрширской пород и помесей в условиях сельхозпредприятий Краснодарского края. Опыты проводились в 8-ми

хозяйствах Краснодарского края. Всего в опытах участвовало 1122 коровы, было исследовано 285 проб цервикально-маточной слизи, определена чувствительность выделенных микроорганизмов к 27 антибактериальным и к четырем фунгицидным препаратам разных фармакологических групп, а также антагонистическая активность штаммов-пробионтов по отношению к полевым культурам.

В проведении экспериментальных исследований использовали самцов и самок беспородных белых мышей массой 20-22 г, половозрелых беспородных белых крыс массой 150-200 г, кроликов-альбиносов, морских свинок массой 300-330 г. Всего 160 белых беспородных крыс, 142 беспородные белые мыши, 6 кроликов-альбиносов, 30 морских свинок.

Экспериментальные животные содержались в виварии согласно ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». Перед постановкой опыта животных выдерживали в карантине 12 дней.

Лабораторному анализу было подвергнуто 534 образца крови. Гематологические исследования проводили на гематологическом анализаторе Mythic 18 (Швейцария), СОЭ определяли методом Панченкова. Биохимические показатели крови: концентрацию общего белка, липидов и билирубина, активность аспартат- и аланинаминотрансфераз, щелочной фосфатазы, концентрацию мочевины, креатинина, глюкозы, кальция, фосфора, холестерина определяли на анализаторе Metrolab 1600 (Аргентина) с использованием наборов «ДиаВетТест» (Россия). Фракции белка определяли электрофорезом в агарозном геле. Для определения факторов неспецифической резистентности использовали тест бактериального фагоцитоза нейтрофилов с учетом степени его завершенности по отношению к бактериям *Staphylococcus aureus* (№209 Р) по И. В. Нестеровой с соавт. (1996). Бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК) определяли по О. В. Смирновой и Т. А. Кузьминой (1966), лизоцимную (ЛАСК) – по Д. Г. Дорофейчук, Т-, В-, НК-лимфоциты методом Пирса в модификации Н. Н. Гугушвили с соавт. (2000) с прочным синим и α -нафтилацетатом.

Отбор проб маточных выделений и влагалищных смывов от больных эндометритом и здоровых коров проводили по методике Н. Н. Михайлова, М. А. Лучко и З. С. Коновой (1967). Видовой состав микрофлоры половых путей был определён у 285 коров, больных послеродовым эндометритом и в динамике у 120 коров в 1, 7, 14 дни после отела.

С целью определения состава микрофлоры матки осуществляли посев полученного материала на МПБ, МПА, МПА с 5 % дефибрированной крови барана, МПА с 7,5 % натрия хлорида, МПА с 1 % глюкозой, среды Эндо, Сабуро. Посевы инкубировали при +38 °С в течение 24 ч. Культуральные свойства выделенных культур определяли по внешнему виду колоний микроорганизмов, характеру роста на питательных средах. Для биохимической идентификации бактерий использовали пластины биохимические дифференцирующие энтеробактерии и стафилококки научно-

производственного объединения «Диагностические системы», г. Нижний Новгород, углеводные среды Гисса. Видовую принадлежность бактерий устанавливали, руководствуясь «Определителем бактерий» Берги (1980) и рекомендациями Н. Н. Михайлова (1983), В. М. Карташовой с соавт. (1988), а грибов – «Определителем патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов» (1979) и также «Атласом грибов патогенных для сельскохозяйственных животных и птиц» (1953). Идентификацию проводили с учетом морфологических, культуральных и биохимических свойств микробов по общепринятым методикам (М. А. Сидоров, 1982). Патогенность изучали при внутрибрюшинном заражении белых мышей 1 млрд/мл взвесью смывов суточных агаровых культур. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводили на среде АГВ методом диффузии в агар с использованием стандартных дисков с антибиотиками, луночным методом и методом последовательных серийных разведений в МПБ.

Для изучения механизма заражения и развития эндометрита бактериально-микозной этиологии были проведены острые опыты *in vivo* на лабораторных животных. В первой серии опыта отобрали 2 группы крыс. Первую группу заражали ассоциацией *S. aureus*+ *E. coli*+ *A. fumigatus* за 2-3 дня до родов, а вторую той же ассоциацией микроорганизмов и грибов сразу после родов. Для заражения использовали 1 млрд. взвесь суточных культур в физиологическом растворе и 150 тыс. спор грибов рода *Aspergillus fumigatus*, которые вводили крысам внутривлагалищно в объеме 0,2 мл каждой.

Во второй серии опытов проводили заражение крыс ассоциацией культур *S. aureus*+ *E. coli*+ *C. albicans*. Было отобрано 2 группы крыс по 5 животных в каждой группе и заражено по схеме, аналогичной первой серии опыта.

Гистологические исследования выполнялись в отделе патоморфологии Краснодарской МВЛ. Отбор, фиксацию, проводку и заливку материала осуществляли общепринятыми в патоморфологии методами (Г. А. Меркулов, 1969). Фотографирование осуществляли с помощью микрофотонасадки МФН-12.

Постановку диагноза острый послеродовой эндометрит у коров осуществляли с использованием наружных, вагинальных, ректальных и ультразвукового исследований. Вагинальное исследование проводили при помощи влагалищного зеркала и модифицированного прибора «Циклоп М». УЗИ исследование проводили УЗИ-сканером Hitachi Aloka.

Определение прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови коров проводили методом иммуноферментного анализа на анализаторе Униплан, с использованием реактивов Алькор Био.

Экспериментальная оценка разработанных нами препаратов предусматривала следующие исследования: а) изучение физико-химических свойств; б) определение стабильности и срока годности; в) изучение специфического действия; г) определение безвредности.

Для выявления оптимального соотношения компонентов пробиотического препарата были проведены исследования антагонистической,

кислотообразующей способности штаммов-пробионтов из коллекции ООО «Биотехагро».

Стабильность препарата Гипролам изучали согласно ГОСТ Р 57129-2016 «Лекарственные средства для медицинского применения. Изучение стабильности новых фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» Часть 1 и СТО 74267440-0005-2015.

Внешний вид и цвет Гипролама определяли визуально при дневном рассеянном свете, при освещении лампами накаливания или люминесцентными лампами. Запах – органолептически.

Для определения кислотности использовали спиртовой раствор индикатора фенолфталеина массовой концентрации 10г/дм³, приготовленный по ГОСТ 4919.1-77 «Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления растворов индикаторов».

Определение количества жизнеспособных микроорганизмов проводили по методике, предложенной производителем (п.7.3 СТО 74267440-0005-2015), путем подсчета КОЕ *Lactobacillus fermentum B-2940* и *Lactococcus lactis subsp.lactis 57₄ B-3145*. За конечный результат принимали среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допустимое расхождение, между которыми не превышало 10,0 %.

Подлинность препарата Гипролам определяли методом бактериологического контроля в мазках, окрашенных по Граму в соответствии с ГОСТ Р 54065-2010 «Средства лекарственные для животных пробиотические. Методы определения пробиотических микроорганизмов».

Определение микробиологической чистоты проводили в соответствии с ГОСТ Р 55291-2012 «Средства лекарственные пробиотические для ветеринарного применения. Методы микробиологического анализа».

Для изучения антагонистической активности штаммов *Lactobacillus fermentum 44/1* и *Lactococcus lactis subsp. Lactis 57₄* использовали «чашечный» метод М. Литвинова (1947) в модификации Н. С. Егорова (1965).

Исследование качественного и количественного состава кислот в препарате Гипролам проводили на аппарате Капель методом капиллярного зонного электрофореза.

Исследование антибактериальной и антимикотической активности различных композиций препарата Флориназол и входящих в его состав компонентов проводили методом диффузии с применением лунок с антибиотиком на среде АГВ и методом последовательных серийных разведений в МПБ в сравнении с другими антибактериальными и антимикотическими препаратами.

Сроки развития резистентности у микроорганизмов к Флориназолу изучали путем последовательных пассажей на жидких питательных средах с суббактерицидными концентрациями препарата и контрольными посевами на плотные питательные среды.

Изучение стабильности препарата Флориназол и срока годности проводили в соответствии с ГОСТ 42-2-72, на основании предложенной инструкции по проведению работ с целью определения срока годности

лекарственных средств на основе метода ускоренного «старения». По результатам, полученным в процессе «ускоренного старения» лекарственных средств определяли температуру хранения Флориназола.

Острую и хроническую токсичность Гипролама и Флориназола, раздражающее действие на слизистую оболочку глаза и кожно-резорбтивное действие определяли согласно методическим рекомендациям по изучению общетоксического действия фармакологических средств, методическим указаниям по токсикологической оценке новых препаратов для лечения и профилактики незаразных болезней животных; ГОСТу Р 54063-2010 «Средства лекарственные для животных. Методы определения безвредности»; методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических средств.

Оценку острой токсичности препарата Гипролам и Флориназола изучали в двух сериях опытов. Животные подбирались и распределялись по группам по принципу парных аналогов.

Всего в первой серии опыта использовалось 64 беспородные белые мыши (32 самки и 32 самца) массой 20-25 г (возраст 2-2,5 мес.) и 48 половозрелых беспородных белых крыс (24 самок и 24 самцов) массой 150-200 г (возраст 2,5-3,0 мес.).

Животные при исследовании каждого опытного препарата были распределены на 4 группы по 8 мышей и 6 крыс в каждой группе.

Препарат вводили подопытным животным перорально путем однократного внутрижелудочного введения с помощью шприца и иглы с наплавленной оливой. Концентрация действующих веществ в 1 см³ препарата Флориназол была согласно прописи. Концентрация бактериальных клеток в препарате Гипролам составляла 1×10^8 КОЕ/мл. В контрольной группе мышам и крысам вводили физиологический раствор.

Препараты Флориназол и Гипролам крысам первой группы вводили внутрижелудочно в дозе 4 см³. Крысам второй группы в дозе 6 см³, третьей группе 8 см³. Крысы четвертой группы служили контролем, животным этой группы вводили физ. раствор в объеме тестируемого препарата, вводимого животным третьей группы. Мышам первой группы препараты вводили в дозе 0,5 см³, второй группы – 0,7 см³, третьей группы – 1,0 см³. Мыши четвертой группы служили контролем, им вводили физиологический раствор в дозе 1,0 см³.

Во второй серии опыта было использовано 24 мыши (12 самцов и 12 самок) и 24 крысы (12 самцов и 12 самок), при исследовании препарата Флориназол и 18 половозрелых беспородных белых крыс (9 самцов и 9 самок) и 18 половозрелых беспородных белых мышей (9 самцов и 9 самок) при исследовании препарата Гипролам, Препараты вводили внутривентрально. Живая масса мышей составляла 20-25 г, масса крыс 180-220 г. Мышей и крыс в опытах с Флориназолом разделяли на 3 группы по 8 мышей и 8 крыс в каждой группе, а в опыте с Гипроламом в каждой группе было по 6 животных.

Мышам первых групп испытуемый препарат вводили внутрибрюшинно в дозе 0,5 см³ однократно. Крысам первых групп испытуемый препарат вводили внутрибрюшинно в дозе 2,5 см³ однократно.

Мышам вторых групп испытуемый препарат вводили внутрибрюшинно в дозе 1 см³ однократно. Крысам вторых групп испытуемый препарат вводили внутрибрюшинно в дозе 5 см³ однократно.

Мыши и крысы третьих групп служили контролем, животным этих групп препарат не вводили.

Хроническую токсичность препаратов изучали на белых мышах и крысах согласно ГОСТа Р 54063-2010.

В опыте участвовало 40 беспородных половозрелых белых мышей по 20 самцов и 20 самок в опыте с Гипроламом, и 20 самцов и 20 самок в опыте с Флориназолом, масса мышей 20-25 г и 24 половозрелых беспородных белых крыс по 12 самцов и 12 самок массой 150-200 г для исследования каждого препарата.

Мышам испытуемых групп препараты вводили в желудок, при помощи шприца и иглы с наплавленной оливой, в дозе 0,3 см³ на одно введение в течение 30 дней. За животными вели пристальное наблюдение, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит.

По истечении 7 дней после последнего введения препарата 5 мышей из каждой группы было подвергнуто эвтаназии и вскрыто, было изучено состояние внутренних органов. За остальными 5 мышами продолжали вести наблюдение в течение 3 недель, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит.

Крысам первой группы препараты Гипролам и Флориназол вводили в желудок, при помощи шприца и зонда, в дозе 2 см³ на одно введение в течение 30 дней. За животными вели пристальное наблюдение, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит.

По истечении 7 дней после последнего введения препарата 3 крысы из каждой группы было подвергнуто эвтаназии и вскрыто, было изучено патологическое состояние внутренних органов. За остальными крысами продолжали вести наблюдение в течение 3 недель, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит. Мыши и крысы второй группы служили контролем, вместо препаратов им вводили стерильный физиологический раствор в тех же дозах.

Изучение раздражающего действия на слизистые оболочки глаз препаратов Гипролам и Флориназол проводилось на трёх кроликах альбиносах на каждый препарат согласно ГОСТ Р ИСО 10993.10-99. Обследование животных проводили через 10, 30, 60 минут, а в дальнейшем через 24, 48 и 72 часа после внесения препарата. При этом оценивали состояние роговицы, радужной оболочки, конъюнктивы, хематоз и наличие выделений.

Кожно-резорбтивное действие для тестируемых препаратов также проводили на 6-ти кроликах-альбиносах, по 3 кролика на препарат. На предварительно подготовленные участки тела (5-8 % поверхности тела

животного) накладывали марлевый тампон, смоченный в тестируемых препаратах и фиксировали его с 4-х-часовой экспозицией. Оценка местного действия оценивалась сразу после окончания экспозиции, а также через 24, 48 и 72 часа. Опыты проводили не одновременно.

Изучение сенсibiliзирующего действия препаратов проводили на 30 морских свинок, по 15 морских свинок-альбиносов массой 300-330 г на каждый препарат в соответствии с «Оценкой биологического действия медицинских изделий. Исследование раздражающего и сенсibiliзирующего действия». Часть 10. (Утвержденной и введенной в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 6 августа 2009 г. ГОСТ Р ИСО 10993-10-2009). За день до начала исследования подготавливали животных. Доза, вводимая внутрикожно в каждый подопытный участок, составляла 0,1 см³. Для аппликаций использовали фильтровальную бумагу, пропитанную исследуемым материалом, которую фиксировали бинтом вокруг тела животного. Предварительно всем животным вводили полный адьювант Фрейнда. Затем каждому животному в выстриженные участки кожи делали парные внутрикожные инъекции по 0,1 см³ растворов. Через 7 дней после внутрикожных инъекций начинали накожные аппликации препарата на спину в области лопаток каждого животного, используя для этого пропитанные препаратом кусочки фильтровальной бумаги. Затем через 14 дней проводили провокационную пробу препарата с подопытными и контрольными животными. Поверхность участков осматривали через 24, 48 и 72 часа после снятия повязки. Описывали и оценивали степень кожной реакции.

Для определения фармакокинетики препарата Флориназол у коров после однократного введения препарата отбирали образцы крови в пробирки для получения плазмы. Взятие образцов крови осуществлялось в дискретные интервалы времени: через 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 12,0 и 24,0 часа. Анализ проводили на жидкостном хроматографе «Agilent 1100» с УФ-детектором и компьютером с соответствующим пакетом программ для обсчета хроматограмм.

Определение оптимальной профилактической дозы препарата Гипролам проводили на 120 коровах-аналогах, разделенных на 4 группы по 30 животных в каждой группе. Испытуемая доза препарата в первой группе составила 50 см³, во второй – 100 см³, в третьей – 150 см³. Препарат вводили внутриматочно в первые 12 часов после отела, затем повторяли введение препарата через 24 часа после первого введения. В четвертой группе коров препарат вводили однократно в первые 12 часов после отела в дозе 150 см³ (с последующим клиническим наблюдением).

Профилактическую эффективность препарата Гипролам изучали в двух сериях опыта. В первой серии опыта было задействовано 158 животных, которых разделили на две группы. Животным опытной группы препарат Гипролам вводили внутрицервикально в дозе 100 см³ двукратно: в первые 12 часов после отела, а затем введение повторяли через 24 часа. Во второй (контрольной группе) – животным проводили профилактику послеродового

эндометрита согласно схемы, используемой в хозяйстве, которая включала в себя применение внутриматочного антибиотического препарата Рихометрин. Препарат вводили однократно в первый день после отела внутрицервикально в дозе 50 см³.

За животными вели постоянное наблюдение до их плодотворного осеменения, учитывая кратность введения профилактических средств, время отеления последа, профилактическую эффективность и количество дней бесплодия.

Во второй серии опыта сравнивали препарат Гипролам с пробиотическим препаратом Моноспорин. В опыте участвовало 119 животных. Животным опытной группы вводили препарат Гипролам внутрицервикально двукратно в первый и второй день после отела в дозе 100 см³. Коровам контрольной группы после отела внутрицервикально вводили препарат Моноспорин в дозе 40 см³ в течение 3-х дней подряд.

За коровами обеих групп вели наблюдение и учитывали их клиническое состояние, консистенцию и количество истечений, на 13-15 день проводили ректальные исследования, определяли величину, ригидность матки, степень ретракции мышечных волокон.

Для сравнения терапевтического эффекта химиотерапевтических препаратов после проведения профилактических мероприятий препаратом Гипролам, Рихометрин и Моноспорин, проводилась курация животных, заболевших острым послеродовым эндометритом. Было отобрано три группы. В первую опытную группу (9 коров) вошли животные, которым для профилактики применяли Гипролам, в 1 контрольную (28 животных) – коровы, которым вводили Рихометрин, и во 2 контрольную (23 коровы) – Моноспорин. Всех животных опытной и контрольной групп лечили по одной схеме, наиболее часто применяемой в хозяйствах. Для лечения использовались внутриматочный антибактериальный препарат Эндометромаг-К, который вводили через каждые 48 часов до клинического выздоровления; тканевый препарат, изготовленный из плаценты денатурированной ПДЭ. Препарат применяли подкожно в дозе 20 см³ через каждые 48 часов 5-7 раз; Утеротон – для стимуляции сокращения матки. Препарат вводили трехкратно с интервалом 24 ч внутримышечно, в дозе 10 см³.

За животными вели наблюдение, отмечая количество дней лечения, кратность введения препаратов, терапевтическую эффективность применяемой схемы лечения и количество дней бесплодия животных.

Определение оптимальной профилактической дозы препарата Флориназол проводили на 30 коровах-аналогах, разделенных на 3 группы по 10 животных в каждой группе. Испытуемая доза препарата в первой группе составила 50 см³, во второй – 100 см³, в третьей – 150 см³. Препарат вводили внутриматочно животным больным хроническим эндометритом, затем повторяли введение препарата через 48 часов до полного выздоровления.

Разработку системы профилактики и лечения острых послеродовых эндометритов с применением препарата Флориназол проводили в трех

хозяйствах Краснодарского края на поголовье 340 голов. Коров в каждом хозяйстве делили на опытную и контрольную группы по принципу пар-аналогов.

После отделения последа, коровам опытной группы внутриматочно вводили препарат Флориназол в дозе 100 см³. В первый день после применяли Эстрадиол-дипропионат в/м в дозе 4,0-8,0 см³, а на 2, 4, 6 дни после отела для стимулирования сокращения мускулатуры матки внутримышечно Утеротон в дозе 10 см³. Ихглюковит вводили парентерально в передне-верхний угол прямокишечной ямки справа и слева от анального отверстия в дозе 50 см³. Коровам контрольной группы в первый день после отела внутриматочно вводили препарат Ниокситил Форте, после отделения последа в дозе 75 см³. Препараты патогенетической терапии, а также миотропные средства вводились аналогично опытной группе.

Коров, заболевших острым послеродовым эндометритом, в обеих группах подвергли лечению по следующей схеме: Утеротон по 10 см³ внутримышечно, трехкратно с интервалом 24 часа; Ихглюковит – парентерально в передне-верхний угол прямокишечной ямки в объеме 50 см³ четырехкратно, с интервалом 48 ч; Элеовит – внутримышечно, в дозе 10 см³ двукратно с интервалом 10 дней. В качестве этиотропной терапии в опытной группе применяли Флориназол внутриматочно по 100 см³ с интервалом 48 часов, 4-7 раз до клинического выздоровления. В контрольной группе коровам внутриматочно вводили Ниокситил Форте в дозе 75 см³ с интервалом 48 часов до выздоровления.

Систему профилактических и терапевтических мероприятий с применением препарат Гипролам и Флориназол разрабатывали на поголовье 520 коров.

Новотельные коровы были разделены на 2 группы по принципу пар-аналогов по 50 гол в каждой. Коров в группы делили по мере прохождения отелов. Коровам опытной группы применяли подогретый до 38-40 °С препарат Гипролам внутрицервикально в дозе 100 мл двукратно: в первые 12 часов после отела и повторяли через 24 часа ч. Также в первый день после отела внутримышечно вводили эстрадиол-дипропионат в дозе 4,0-8,0 см³. В контрольной группе коров применяли антимикробный препарат Ниокситил Форте в дозе 10 мл на 100 кг живой массы внутриматочно однократно.

В случае заболевания животных острым послеродовым эндометритом лечение коров проводили по следующей схеме: Флориназол внутриматочно 4-7 кратно по 100 см³ с интервалом 48 ч, Утеротон по 10 см³ внутримышечно, трехкратно с интервалом 24 часа, Мелоксикам 0,5 % по 0,4 мл на 10 кг живой массы, один раз в сутки, в течение 3 дней.

У коров контрольной группы этиотропную терапию проводили с применением препарата-аналога Ниокситил Форте. Препарат вводили коровам в дозе 15 см³ на 100 кг живой массы внутриматочно с интервалом 48 ч. Утеротон и Мелоксикам применяли аналогично схеме в опытной группе.

Расчеты экономической эффективности систем профилактики и лечения производили согласно «Методика определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий» М., 1997.

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

3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Распространение, этиология и патогенез эндометритов у коров в хозяйствах Краснодарского края

В период с 2014 г. по 2018 г. в хозяйствах Краснодарского края по причине необратимого бесплодия было выбраковано 41403 коровы. В 2018 г. было отправлено на убой 9491 голов, что составляет 7,8 % поголовья коров на начало 2018 года. Поголовье дойных коров за это промежуток времени сократилось на 7749 голов (с 128740 коров в 2014 г. до 120991 коров – в 2018 г., т.е. на 6 % от данных 2014 г. (рис. 1).

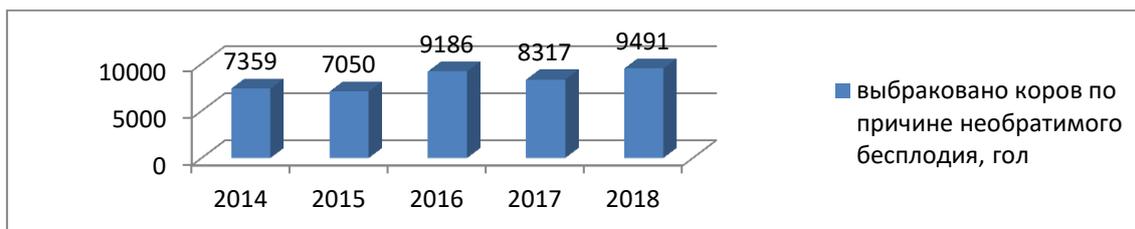


Рисунок 1 – Динамика выбраковки коров по причине необратимого бесплодия

Ежегодно в среднем 40 % бесплодных животных имеют акушерско-гинекологические патологии, среди которых наиболее распространены острые послеродовые эндометриты (от 37,8 % до 41 %). Большой процент занимают также функциональные нарушения яичников, в форме гипофункций, кист, персистентных желтых тел. На данные патологии приходится от 18 % до 24 % всех гинекологических заболеваний. Еще одной широко распространенной родовой патологией является задержание последа, на которую приходится от 16 % до 18 %. Большой процент заболевания животных острыми послеродовыми эндометритами наблюдается у животных с тяжелыми родами и задержанием последа (рис 2).

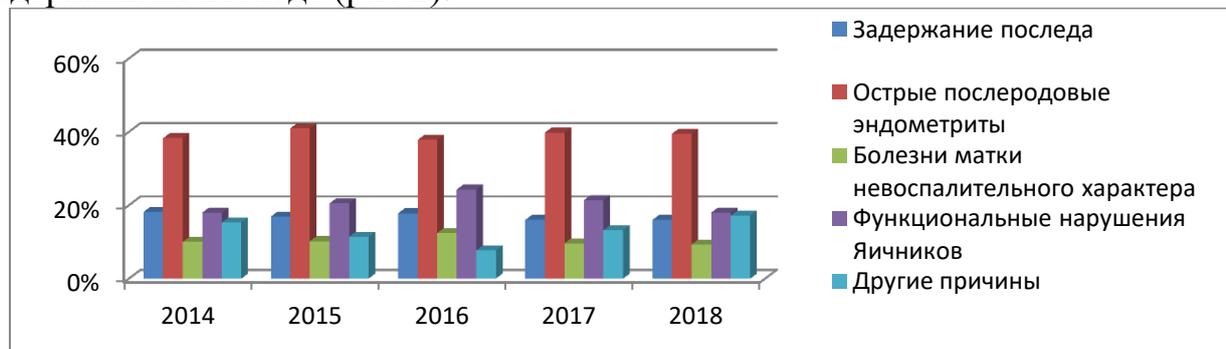


Рисунок 2 – Распространение акушерско-гинекологической патологии в Краснодарском крае в период 2014-2018 гг.

В результате проведенной акушерско-гинекологической диспансеризации в хозяйствах: ООО «Смоленское» Северского района, УОХ «Кубань» г. Краснодар, ОАО «Агрофирма им. Ильича» Выселковского района; ОАО «Родина» Ейского района, установлено, что среди акушерско-гинекологической патологии, регистрируемой в исследованных хозяйствах, в ОАО «Агрофирме им. Ильича», ОАО «Родина», ООО Филиал «Смоленское», УОХ «Кубань» наиболее часто регистрируют острые послеродовые эндометриты, которые составляют в среднем за последние 3 года от 66 % до 35 %, при этом в ООО «Хуторок» эндометриты составляют 22,2 %, однако в данном хозяйстве функциональные нарушения яичников являются основной причиной бесплодия у коров. Стоит отметить, что задержание последа регистрируется во всех обследованных хозяйствах и составляет от 9 % в УОХ «Кубань» до 25 % в ООО Филиал «Смоленское». Основной причиной заболевания острыми послеродовыми эндометритами в исследованных хозяйствах является несоблюдение правил асептики и антисептики в родильных боксах, неполноценное кормление стельных коров, кормление недоброкачественными кормами и вследствие гиподинамии.

Заболеваемости коров эндометритом бактериальной этиологии регистрируется в осенний период в 35,5 %, зимой он увеличивается до 56 %. Заболеваемость коров острым бактериально-микозным эндометритом в зимний период составляет – 16 %, в летний до 35 %.

При проведении микробиологических и микологических исследований содержимого матки больных эндометритом коров за исследуемый период (285 проб), было установлено, что монокультуры были выделены в 61,7 % проб, ассоциации микроорганизмов – в 39,3 % проб. При этом ассоциации микроорганизмов с грибами были выделены в 24,6 % всех проб. Стоит отметить, что у животных с первично выявленным эндометритом, чаще выделялись специфические патогенные микроорганизмы в виде монокультур, такие как *E. coli* (30 %), α и β гемолитические стрептококки (15 %), *S. aureus* (10,4 %) и процесс протекал остро и начинался на более раннем сроке после отела. У первотелок регистрировали ассоциации специфических патогенов с условно-патогенными микроорганизмами и грибами, что приводило к более тяжелому течению эндометрита. В пробах же коров после 2-го или 3-го отела ранее переболевших эндометритом, чаще регистрировали ассоциации условно-патогенных микроорганизмов и грибов, при этом процент выделения патогенной микрофлоры в этих ассоциациях был заметно ниже, чем у первично заболевших эндометритом животных.

Среди ассоциаций микроорганизмов, выделенных из экссудата родополовых путей больных эндометритом коров наиболее часто регистрировали *E. coli* + *K. pneumonia* + *S. aureus*, *E. coli* + *K. cryocrescens* + *E. agglomerans*, *P. mirabilis* + *K. cryocrescens*, *E. coli* + *C. albicans*, *K. pneumonia* + *C. albicans*, *E. coli* + *S. aureus*, *S. aureus* + *C. albicans*, *E. coli* + *P. mirabilis*, *E. coli* + *M. ramosus*, *St. aureus* + *S. piogenes*, *S. aureus* + *S. faecalis*, *S. aureus* +

M. ramosus, *S. aureus* + *S. faecalis* + *E.coli*, *E.coli* + *P. aeruginosa* – 8,3 %, *E.coli* + *P. mirabilis* + *K. cryocrescens* и др.

Для изучения бактериальной обсемененности родополовых путей коров были проведены микробиологические и микологические исследования проб маточного содержимого, взятых на 1-й и 7-й и 14-й дни после отела (рис. 3).

Сразу после отела у 44 % коров условно-патогенная, патогенная и грибная микрофлора не выделялась. Через 7 дней количество таких животных уменьшалось на 20 %, а через 14 дней условно-патогенная, патогенная и грибная микрофлора не выделялась у 40 % коров (10 гол), что на 4 % меньше, чем в первый день после отела.

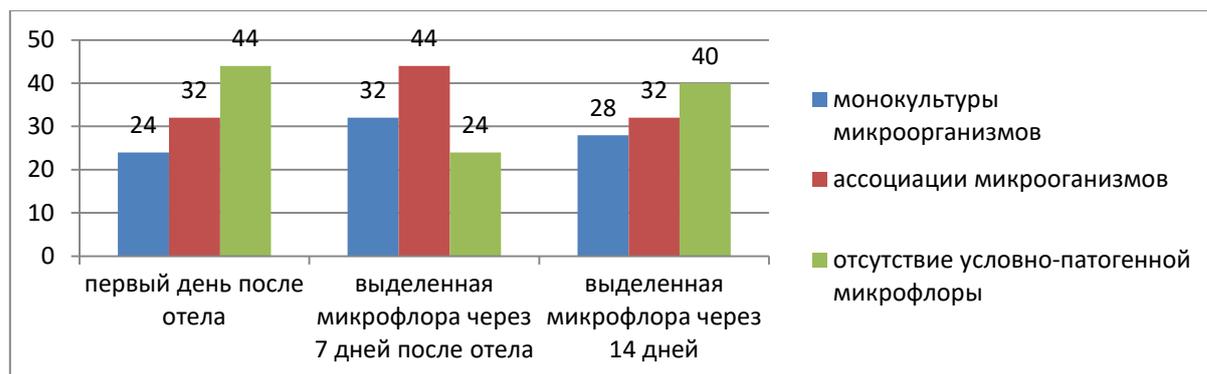


Рисунок 3 – Процентное соотношение микрофлоры в матке коров через 1-14 дней после отела

Для изучения механизма заражения и развития эндометрита бактериально-микозной этиологии нами были поставлены острые опыты *in vivo* на лабораторных животных. В первой серии опыта мы отобрали 2 группы крыс. Первую группу лабораторных животных заражали ассоциацией *S. aureus* + *E. coli* + *A. fumigatus* за 2-3 дня до родов, а вторую той же ассоциацией микроорганизмов и грибов сразу после родов.

У крыс, находящихся в первой опытной группе воспалительный процесс отсутствовал, в материале из половых органов микрофлора не выделена.

Во второй, опытной группе на 7 день после заражения наблюдали клинические признаки воспалительного процесса в половых органах у 30 % животных. У больных крыс отмечали потерю аппетита, угнетение общего состояния, гиперемия слизистой оболочки наружных половых органов, гнойно-катаральные выделения из половой щели. При проведении микробиологического исследования.

Проведенные гистологические исследования выявили у одной крысы в полости матки среди крови, фибрина и немногочисленных нейтрофилов вегетативные формы *Aspergillus fumigatus*.

Во второй серии опыта проводили заражение крыс ассоциацией *S. aureus* + *E. coli* + *C. albicans*. Заражение проводили аналогично с животными первой серии опыта. В результате в первой группе животных, воспалительный процесс в родополовом аппарате отсутствовал, в материале из половых органов микрофлора не выделена.

У крыс второй группы, сразу после родов, на 7–8 день после заражения наблюдали воспалительный процесс – у 80 % животных. У больных крыс отмечали потерю аппетита, угнетение общего состояния, гнойно-катаральные выделения из половой щели. При проведении микроскопии мазков из полости матки у больных крыс выделяли культуры: *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*.

Таким образом, было установлено, что *Aspergillus fumigatus* и *Candida albicans* в сочетании с различной бактериальной микрофлорой способны вызвать воспаление в репродуктивной системе у крыс, если заражение происходит сразу после родов.

Дальнейшими исследованиями нами было изучено клиническое проявление эндометрита у коров с учетом выделенной микрофлоры.

В результате было установлено, что у животных, больных катарально-гнойным эндометритом бактериально-микозной этиологии, наблюдаются красно-белые или белые с примесью гноя выделения. Экссудат обильно выделяется при дефекации, мочеиспускании и, особенно, после ночного отдыха животного. При вагинальном обследовании установлено: слизистая оболочка отечная, ярко-красного цвета, наблюдались полосчатые или массово точечные кровоизлияния. На нижней стенке влагалища слизисто-гнойный экссудат, чаще в виде белых рыхлых пленок. Шейка матки увеличена до 6-8 см в диаметре, отечная, гиперемирована, матка увеличена, опущена в брюшную полость, стенка матки дряблая, отечная, тестоватая, не отвечает сокращением на ректальный массаж. Температура тела у этих коров, превышала верхнюю границу нормы на 0,5-1 °С, пульс учащен на 10-15 уд/мин. У этих животных регистрировали снижение аппетита.

Проведенные гематологические и биохимические исследования показали, что у коров, больных эндометритом бактериально-микозной этиологии, отмечается эритропения, гипопротейнемия, что характерно для экссудативного процесса. Наблюдается выраженная нейтрофилия с резким регенеративным сдвигом, характеризующаяся появлением в периферической крови юных, уменьшением процента палочкоядерных нейтрофилов, а также лимфоцитопенией, гипозоинофилией, сопровождающиеся снижением альбуминов до нижней границы нормы, понижением α - и β -глобулинов и увеличением γ -глобулиновых фракций, а также понижением АСТ, щелочной фосфатазы.

Таким образом, развитию условно-патогенной микрофлоры и грибов в полости матки способствует, в первую очередь, общее ослабление организма животного. Патогенные бактерии и грибы могут проникать в полость матки экзогенным путем и вызывать воспалительный процесс при наличии соответствующих условий, вызывающих нарушение барьерных функций слизистой оболочки влагалища и матки. При проникновении патогенных микроорганизмов в матку, патологические изменения начинаются с ее тела, затем процесс переходит на рога, стенки матки воспаляются и утолщаются, слизистая оболочка набухает. В ее полости скапливается густой или жидкий гнойный экссудат.

В группе коров, отобранных по принципу пар-аналогов, в сухостойном периоде брали кровь для исследования на гематологические, биохимические, иммунологические показатели и гормоны, которых разделили на 2 группы в зависимости от результатов анализа крови. 1-я группа «Условно здоровые», 2-я группа «Группа риска».

Установлено, что у коров, находящихся в группе риска иммунологические показатели крови достоверно не отличались от показателей условно-здоровых животных. Фагоцитарная активность нейтрофилов была снижена и составила 25,4 % за 30 мин. Однако, показатели завершенности фагоцитоза и СЦИ находились на довольно высоком уровне. Поэтому результаты данных исследований для ранней диагностики эндометритов смешанной этиологии не информативны. При рассмотрении данных общего и биохимического анализа крови коров группы риска было установлено, что количество лейкоцитов у этих животных составляет $10,4 \cdot 10^9$ л, а количество сегментоядерных нейтрофилов – 41,3 %, что в обоих случаях является верхней границей нормы. Нами установлено, что у животных из группы риска был повышен процент γ -глобулинов – 41,7 % и снижен процент β -глобулинов несколько ниже нижней границы нормы, что может свидетельствовать о наличии воспалительного процесса в организме этих животных. При этом в группе условно здоровых животных все эти показатели находились в пределах нормы для сухостойного периода. Снижение глюкозы в сыворотке крови сухостойных коров группы риска до 1,85 моль/л может свидетельствовать не только о несбалансированном питании по углеводам, но и о недостаточном запасе гликогена в печени и мышцах, что является явным признаком нарушения углеводного обмена. При этом у животных группы «условно здоровые» глюкоза в сыворотке крови находится в пределах нормы.

Следует отметить, повышение ЩФ во 2-ой фазе сухостоя на 39 ЕД выше нормы в группе риска и снижение уровня кальция на 28 % ниже нормы, при этом фосфор находился на нижней границе нормы. Повышение щелочной фосфатазы и снижение кальция в крови животных свидетельствует о нарушении минерального обмена и эвакуации макроэлементов из костной ткани. Механизмы поддержания гомеостаза кальция успевают быстро компенсировать его потери с молозивом, что приводит к развитию пареза, вызывает расстройство нервной системы и кровообращения, нарушение функционирования скелетных и сердечных мышц.

Снижение уровня каротина в крови коров обеих групп влияет на развитие устойчивости организма к заболеваниям, так как каротин является природным антиоксидантом, участвует в регулировании иммунной системы и влияет на развитие устойчивости организма к заболеваниям.

Гормональный фон у условно здоровых коров характеризовался ростом концентрации прогестерона с 7 по 9 месяцы беременности соответственно с 3,7 до 5,8 нмоль/л (табл. 1), что обусловлено обратной связью возрастающей роли плода на функциональную систему материнского организма при угасающей функции, как желтого тела, так и плаценты.

Таблица 1 – Динамика содержания гормонов в крови сухостойных коров (n=20; M±m)

Показатели	Условно здоровые		Группа риска	
	7 мес. стельности 199-217 дни	9 мес. стельности 267-279 дни	7 мес. стельности 199-217 дни	9 мес. стельности 267-279 дни
Прогестерон нмоль/л	3,7±1,2**	5,8±0,6*	10,7±1,0*	8,6*±0,7
Эстрадиол нмоль/л	4,7±1,8*	7,9±0,76*	0,66±0,01	4,30±1,80

* - P ≤ 0,05; ** - P ≤ 0,01

У животных, находящихся в группе риска наоборот, концентрация прогестерона уменьшалась с 10,7 нмоль/л в 7 мес. стельности до 8,6 нмоль/л к моменту отела и превышала в этот период значение показателей здоровых животных на 48,3 %. Что мы связываем с более медленным угасанием генеративной функции желтого тела беременности и возможной фетоплацентарной недостаточностью, а также, начинающимся воспалительным процессом в матке и, как следствие, недостаточным продуцированием ПГФ-2 альфа (простогландин Ф-2 альфа).

Анализируя динамику концентрации эстрадиола в крови установили, что у коров группы риска за 2 мес. до отела его концентрация была на 90,7 % ниже, чем у условно здоровых животных и к отелу повысилась в 4,5 раза, а у здоровых – на 68 %. Таким образом, по динамике содержания гормонов в крови глубокостельных коров можно с высокой долей вероятности прогнозировать развитие острого послеродового эндометрита.

При проведении акушерско-гинекологической диспансеризации коров опытных групп установили, что заболеваемость после отела животных группы риска была в 1,9 раз выше, чем в группе условно-здоровые: 85 % против 45 %.

3.2 Разработка нового пробиотического препарата для профилактики эндометритов у коров

Получение и физико-химические свойства пробиотика

В результате анализа соответствующих литературных данных и разносторонних исследований при подборе компонентов, мы определили следующий состав пробиотического препарата – Гипролам.

В 1 см³ препарата содержится не менее 1x10⁸ КОЕ (колониеобразующих единиц) живых микроорганизмов *Lactobacillus fermentum* 44/1 и *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* 57₄. (табл. 2).

Таблица 2 – Состав пробиотического препарата

№ п/п	Компоненты	Количество на 100 см ³ не менее
1	<i>Lactobacillus fermentum</i> 44/1	1,0x10 ⁸
2	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> 57 ₄	1,0x10 ⁸
3	Среда для лактобактерий	100 см ³

Гипролам представляет собой жидкость светло-коричневого цвета сероватым осадком на дне флакона. Осадок легко разбивается при встряхивании. Полученный препарат расфасовывают по 100,0 см³ в стерильную герметичную тару, изготовленную из стекла либо полимерных материалов. Препарат храниться в морозильной камере при температуре минус 18 °С в течение 7,5 месяцев от даты изготовления. В случае разморозки препарата в период срока хранения, допускается его хранение в чистом, сухом, защищенном от света помещении при температуре от +2 °С до +10 °С в течение 45 дней от даты разморозки. Срок годности препарата 7,5 месяцев от даты изготовления. Допускается однократное размораживание препарата для транспортировки и хранения при температуре от +2 °С до +10 °С в течение 9 дней с последующей заморозкой и хранением до истечения срока годности.

Определение жизнеспособности микроорганизмов, входящих в состав препарата Гипролам.

При анализе полученных нами данных мы установили, что препарат Гипролам обладает свойством сохранять количество жизнеспособных клеток *Lactobacillus fermentum* 44/1 (ВКПМ В-2940) и *Lactococcus lactis subsp.lactis* 574 (ВКПМ В-3145) и физико-химические свойства) при хранении в течение 7,5 месяцев при температуре хранения препарата минус 18 °С, а так же после разморозки и хранения препарата в течение 45 дней при температуре +2, +6 и +10 °С, а так же в случае его однократной разморозки и хранения при температуре от +2 °С до +10 °С в течение 9 дней с последующей заморозкой и хранением при температуре минус 18 °С и повторной разморозки, во всех видах упаковки (контейнеры полимерные, стеклянные флаконы, тубы из полимерных препаратов). При хранении более установленного срока количество живых клеток падало и препарат не оказывал необходимого профилактического эффекта.

Проведенные исследования кислотообразующих свойств микроорганизмов, входящих в состав Гипролама показали, что кислотность по Тернеру готового препарата Гипролам изменяется в течение срока хранения.

Также нами было определено, что молочнокислые бактерии, входящие в состав препарата, вырабатывают несколько видов органических кислот - молочная кислота – 3856,8 мг/л, пропионовая кислота – 49,82 мг/л.

3.3 Изучение антагонистической активности препарата Гипролам

Для изучения антагонистической активности штаммов *Lactobacillus fermentum* 44/1 и *Lactococcus lactis subsp. Lactis* 57₄ использовали «чашечный» метод М. Литвинова (1947) в модификации Егорова Н.С. (1965). Результат учитывали по зоне задержки роста между пробионтом и тест-микробом (табл. 3).

Таблица 3 – Определение антагонистической активности препарата Гипролам

Тест-микробы	Зона задержки роста, мм		
	<i>Lactobacillus fermentum</i> 44/1	<i>Lactococcus lactis subsp. Lactis</i> 57 ₄	Гипролам
1	2	3	4
<i>E.coli</i>	8,3	12,4	16,4
<i>S. aureus</i>	13,3	11,3	19,4

1	2	3	4
<i>K.pneumoniae</i>	8,4	10,3	15,4
<i>P.mirabilis</i>	9,2	9,3	10,1
<i>P.vulgaris</i>	7,5	7,2	9,6
<i>P.aeruginosa</i>	11,3	11,5	14,3
<i>S.epidermidis</i>	12,4	11,7	15,5
<i>S.boudi</i>	11,3	10,4	16,6
<i>S. piogenes</i>	9,3	8,4	15,4

По представленным, в таблице 3 данным, каждый из штаммов, входящих в состав данного препарата обладает достаточно высокой антагонистической активностью по отношению тест-культурам, однако нами установлено, что при совмещении двух изучаемых штаммов их антагонистическая активность увеличивается.

3.4 Разработка препарата Флориназол

В результате проведенного поиска, нами были выбраны 2 антибиотика, которые относятся к одной группе: «Антибиотики быстрого действия с бактериостатическим типом действия, которые в высоких концентрациях действуют бактерицидно»: Рифампицин и Флорфеникол, а в качестве антимикозного компонента – Флуконазол. В прописи мы учитывали, что одновременное применение Флуконазола и рифампицина приводит к снижению значения АУС и длительности T1/2 Флуконазола на 25 и 20 % соответственно, поэтому в комплексном препарате доза Флуконазола была увеличена.

Целью дальнейших исследований было определение приобретенной лекарственной устойчивости микроорганизмов при применении препарата Флориназол. Определение проводили луночковым методом диффузии в агар путем пассажирования (табл 4).

Таблица 4 – Формирование резистентности бактерий к препарату Флориназол

Микрофлора	Зона задержки роста в мм								
	Пассажи								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>E. intermedium</i>	20,4± 1,3	13,1± 0,9	17,3± 1,4	13,6± 0,2	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	25,6± 0,2	25,3± 0,5	20,1± 1,2	21,5± 1,7	17,8±0,2	-	-	-	-
<i>K. ozaenae</i>	46,3± 1,1	35,3± 0,23	33,7± 1,2	35,3± 0,23	33,7±1,2	32,2±0,1	31,1±1,1	31,2±1,1	30,2±1,3
<i>St. aureus</i>	45,1± 0,2	30,1± 0,9	20,7± 1,3	17,6± 1,2	13,5±1,2	12±0,1	-	-	-

n=4-кол-во изолятов микроорганизмов

Приобретение лекарственной устойчивости *K. pneumoniae spp. ozaenae* при применении препарата Флориназол не наступало в течение проведенного опыта, и микроорганизм был восприимчив к Флориназолу 9 пассажей. Образование резистентности *St. aureus* происходило на 7 пассаже. *E. coli* приобретала лекарственную устойчивость на 6 пассаже, а *E. intermedium* на 5 пассаже. Стоит отметить, что *K. pneumoniae spp. ozaenae* была высоко

чувствительна к Флориназолу 9 пассажей, *E. coli* 4 – пассажа, *St. aureus* – 3 пассажа, а *E. intermedium* – 1 пассаж.

Полученный препарат Флориназол представляет собой комплексное средство темно-красного цвета, со специфическим запахом мыла, рН 6,5-7,0, проявляет антимикробное и антимикозное действие, при встряхивании образуется пена. Не горюч, не пожароопасен.

Изучение стабильности препарата Флориназол

На протяжении шести месяцев исследования Флориназол сохранял свои свойства и первоначальный вид. Антибактериальные свойства в отношении *K. pneumonia*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* были стабильны и препарат обладал высокой бактерицидной активностью в течение 6 месяцев при хранении при температуре 40 °С. Фунгицидная активность по отношению к *C. albicans*, *C. glabrata*, *A. fumigatus*, *M. racemosus*, *A. sydowii*, *P. Citrinum*, также сохранялась в течение 6 месяцев при хранении в экстремальных условиях, а при дальнейшем хранении уменьшалась и исчезала.

Таким образом, согласно данным, представленным в государственном стандарте качества лекарственных средств ОФС 42-0075-07 срок годности Флориназола составляет 2 года, что соответствует 183-м дням при ускоренном старении.

3. 5 Изучение антибактериальных свойств препарата Флориназол

Антибактериальные свойства полученного препарата устанавливали *in vitro* методом диффузии в агар с использованием лунок и стандартизированных дисков с антибиотиками. В качестве тест-культур использовали суточные полевые очищенные изоляты микроорганизмов, выделенные от коров, больных эндометритом. Результаты проведенных исследований отражены в таблице 5. Таблица 5 – Антибактериальная активность исследуемого препарата к микрофлоре, выделенной от больных эндометритом коров (в мм)

Препарат	Выделенная микрофлора				
	<i>K. pneumonia</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
1. Флориназол	27,8 ± 1,3	32,5 ± 0,7	22,0 ± 1,2	25,6 ± 0,4	27 ± 1,3
2. Рихометрин	15,3 ± 1,8	26,8 ± 1,7	–	22,2 ± 0,6	16,5 ± 1,0
3. Флорфеникол	17 ± 3,2	14,3 ± 1,7	11,2 ± 1,2	–	11,7 ± 1,2
4. Рифампицин	17,5 ± 1,6	22 ± 0,9	39,7 ± 0,8	26,5 ± 1,3	23,7 ± 0,3
5. Флуконазол	–	12 ± 0,4	–	–	–

n = 4 – кол-во изолятов

Таким образом, нами установлено, что препарат Флориназол обладает высокой антимикробной и антимикозной активностью и широким спектром действия.

3.6 Токсикологические свойства Гипролама и Флориназола

3.6.1. Изучение токсикологических, сенсibiliзирующих и раздражающих свойств Гипролама

Оценку острой токсичности изучали в двух сериях опытов. О токсическом действии добавки судили по картине физиологического состояния, поведению животных, поедаемости корма.

В первой серии опыта Гипролам вводили подопытным животным перорально в дозе 0,1, 0,2, 0,5 мл – мышам и 1, 2, 3 мл - крысам. Концентрация бактериальных клеток в препарате составляла 1×10^8 КОЕ/мл. В контрольной группе мышам вводили физиологический раствор.

Во второй серии опыта препарат вводили внутрибрюшинно в дозе 0,5-1 мл – мышам и 2,5-5 мл - крысам. Концентрация бактериальных клеток в препарате составляла 1×10^8 КОЕ/мл.

В результате проведенных исследований установлено, что Гипролам при пероральном и внутрибрюшинном введении в указанных дозах за весь период наблюдения не вызвал гибели и острой интоксикации животных, не влиял отрицательно на их общее состояние и поведение. Рефлексы оставались сохраненными, животные были подвижны с хорошо выраженным аппетитом. При этом нарушений функциональной активности органов пищеварения и мочеотделения не наблюдали.

Таким образом, на основании проведенных исследований нельзя определить ЛД₅₀ (средне смертельную дозу), а также пороговую дозу (минимальную дозу, при введении которой в организме возникает небольшой, но статистически достоверный сдвиг какого-либо чувствительного интегрального или специфического показателя).

Хроническую токсичность изучали на 40 беспородных половозрелых белых мышей (20 самцов и 20 самок) массой 20-25 г., 24 половозрелых беспородных белых крыс (12 самцов и 12 самок) массой 150-200 г. Мышам первой группы испытуемый препарат вводили в желудок, в дозе 0,3 мл на 1 введение в течение 30 дней. Крысам первой группы в дозе 2 мл на 1 введение в течение 30 дней. Мыши и крысы второй группы служили контролем, им препарат не вводили.

По истечении 7 дней после последнего введения препарата 5 мышей и 3 крысы было подвергнуто эвтаназии и вскрыто, было изучено патологоанатомическое состояние внутренних органов. За остальными 5 мышами продолжали вести наблюдение в течение 3 недель, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит.

При патологическом изучении внутренних органов белых мышей первой группы каких-либо изменений в их структуре не наблюдалось. На протяжении всего срока эксперимента гибели животных не наблюдалось. Вес мышей и крыс в конце опыта в исследуемых группах существенно не отличался, вес опытных животных незначительно превышал вес контрольных.

Изучение раздражающего действия препарат Гипролам проводили в двух сериях опыта.

В ходе исследования были получены следующие результаты: инсоляция препарата Гипролам в нижний отдел конъюнктивального мешка вызывает небольшое покраснение конъюнктивы сразу после введения, которое исчезало через 10 мин. При дальнейшем наблюдении за животными нами не отмечалось помутнения роговицы глаза, радужная оболочка была без видимых изменений, также не отмечали хематоз (отек конъюнктивы) и выделений из глаз. Во второй серии опыта раздражающее действие Гипролама определяли методом кожных аппликаций. В ходе исследования не отмечалось у подопытных

животных образование эритемы и отека кожи, в результате чего индекс первичного раздражения равен нулю.

Изучение сенсibilизирующего действия препарат Гипролам определяли методом максимального сенсibilизирующего воздействия. Нами было отмечено, что спустя 24, 48 и 72 часа после провокационной пробы и снятия повязки положительных реакций кожи (отек, эритема, пузырь) не выявлено.

Таким образом, препарат Гипролам не обладает раздражающим и сенсibilизирующим воздействием на ткани в зоне его применения.

3.6.2. Изучение токсикологических, сенсibilизирующих и раздражающих свойств Флориназола

Изучение острой токсичности

Оценку острой токсичности Флориназола изучали в двух сериях опытов. Животные подбирались и распределялись по группам по принципу парных аналогов, содержались в идентичных условиях кормления и содержания. О токсическом действии добавки судили по картине физиологического состояния, поведению животных, поедаемости корма.

В **первой серии опыта** Флориназол вводили подопытным животным перорально путем однократного внутрижелудочного введения в дозе 0,1, 0,2, 0,5 мл – мышам и 1, 2, 3 мл - крысам. В контрольной группе мышам вводили физиологический раствор.

Во **второй серии опыта** препарат вводили внутривентриально в дозе 0,5-1 мл – мышам и 2,5-5 мл – крысам.

В результате проведенных исследований установлено, что Флориназол при пероральном и внутривентриальном введении в указанных дозах за весь период наблюдения не вызвал гибели и острой интоксикации животных, не влиял отрицательно на их общее состояние и поведение. Рефлексы оставались сохраненными, животные были подвижны с хорошо выраженным аппетитом. При этом нарушений функциональной активности органов пищеварения и мочеотделения не наблюдали.

Таким образом, на основании проведенных исследований нельзя определить ЛД₅₀ (средне смертельную дозу), а также пороговую дозу (минимальную дозу, при введении которой в организме возникает небольшой, но статистически достоверный сдвиг какого-либо чувствительного интегрального или специфического показателя).

Изучение хронической токсичности препарата Флориназол

Хроническую токсичность изучали на белых мышах, в опыте участвовало 40 беспородных половозрелых белых мышей (20 самцов и 20 самок) массой 18-24 г и крысах (24 половозрелых беспородных белых крыс (12 самцов и 12 самок) массой 180-200 г. Животные были распределены на 2 группы по 20 мышей и 12 крыс в каждой группе.

По истечении 7 дней после последнего введения препарата 5 мышей и 3 крысы было подвергнуто эвтаназии и вскрыто, было изучено патологоанатомическое состояние внутренних органов. За остальными 5 мышами продолжали вести наблюдение в течение 3 недель, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит.

При патологическом изучении внутренних органов белых мышей первой группы каких-либо изменений в их структуре не наблюдалось. На протяжении всего срока эксперимента гибели животных не наблюдалось. Вес мышей и крыс в конце опыта в исследуемых группах существенно не отличался, вес опытных животных незначительно превышал вес контрольных.

Таким образом, Флориназол при длительном введении в терапевтической и дозе трехкратно превышающей терапевтическую не вызывает отрицательного воздействия на организм лабораторных животных. Следовательно, разработанное средство по степени воздействия на организм теплокровных животных относится к веществам малоопасным (4-й класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76).

Изучение сенсibiliзирующего и раздражающего действия препарата Флориназол

Инсоляция препарата в нижний отдел конъюнктивального мешка вызывает покраснение конъюнктивы и кратковременное слезотечение сразу после введения, которое исчезает через 10 мин. В продолжение дальнейшего наблюдения за животными не отмечалось помутнения роговицы глаза, радужная оболочка была без видимых изменений, также не отмечали хематоз (отек конъюнктивы) и выделений из глаз.

Во второй серии опыта определяли раздражающее действие методом кожных аппликаций. В ходе исследования не отмечалось у подопытных животных образование эритемы и отека кожи, в результате чего, индекс первичного раздражения равен нулю.

Изучение сенсibiliзирующего действия препарата Флориназол проводили на морских свинках методом максимального сенсibiliзирующего воздействия. За животными вели наблюдение, отмечая наличие на коже в области аппликаций препаратом отека, эритемы и др.

Нами было отмечено, что спустя 24, 48 и 72 ч после провокационной пробы и снятия повязки положительных реакций кожи (отек, эритема, пузырь) не выявлено.

Таким образом, препарат не обладает раздражающим и сенсibiliзирующим воздействием на ткани в зоне его применения.

При исследовании фармакокинетических показателей (рис. 4) разработанного препарата Флориназол было установлено, что при внутриматочном введении максимальная концентрация действующих веществ (Флорфеникола, Рифампицина, Флуконазола) в крови коров регистрировалась через 1-2 часа после его введения и сохранялась до 48 ч. Через 72 ч препарат в крови коров не обнаруживался.

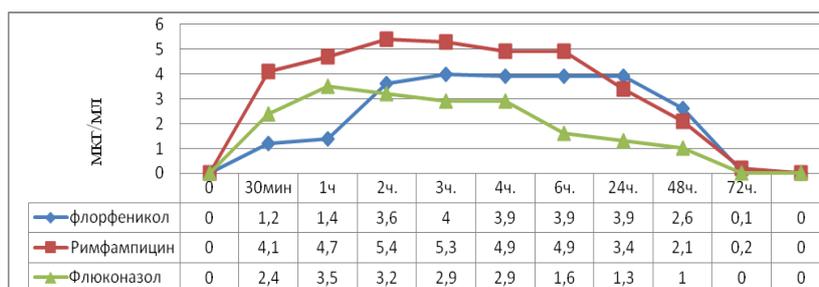


Рисунок 4 – Фармакокинетические параметры препарата

Это было подтверждено исследованием наличия ингибирующих веществ (антибиотиков) в молоке. Наличие антибиотиков в молоке устанавливали во время вечерней дойки после введения Флориназола и препарата аналога Ниокситил Форте в комплексной схеме лечения коров с острым послеродовым эндометритом. После выздоровления животных исследование молока на антибиотики продолжали до полного отсутствия выделения их в молоке.

По полученным нами данным, установлено, что выявление в молоке антибиотиков группы беталактамов наблюдается в течение всего курса лечения Флориназолом и препаратом Ниокситил Форте и прекращается через 72 ч после последнего введения препаратов.

3.6 Определение профилактической и терапевтической эффективности препаратов Гипролам и Флориназол

Отработка дозы и кратности введения препарата Гипролам

При определении оптимальной профилактической дозы препарата Гипролам, который вводили коровам внутриматочно в первые 12 часов после отела и повторяли введение через 24 часа было установлено, что препарат в дозе 50 мл обладает низкой профилактической эффективностью, которая составляет 66,6 % и количество дней бесплодия у этих животных составило 121,6 дня. Коровам, которым применяли дозу 100 мл профилактический эффект составил 86,6 % и количество дней бесплодия 92,3 дня. При использовании дозы 150 мл профилактический эффект также составлял 86,6 % и количество дней бесплодия 91,2 %.

Таким образом, применение Гипролама для профилактики послеродового эндометрита показано в дозе 100 мл двукратно: в первые 12 часов после отела, а затем через 24 часа.

Клиническую оценку профилактической эффективности препарата Гипролам с другими средствами проводили в нескольких хозяйствах Краснодарского края в двух сериях опыта.

Отработка дозы и кратности введения препарата Флориназол

При изучении оптимальной терапевтической дозы препарата было установлено, что терапевтическая эффективность при введении Флориназола в дозе 50 мл составила 50 %, что на 35 % ниже, чем у коров во 2-й и 3-й группах при введении препарата по 100 и 150 мл. При этом сервис-период у коров 1-й группы был на 30,2 дня больше, чем у коров 2-й и 3-й групп.

Определение оптимального времени введения препарата показало, что препарат Флориназол необходимо вводить внутриматочно в дозе 100 мл с интервалом 48 ч. При такой схеме лечения острых послеродовых эндометритов был достигнут максимальный терапевтический эффект.

3.7 Клинико-экспериментальные исследования профилактической и терапевтической эффективности препаратов Гипролам и Флориназол

Изучение профилактической эффективности применения пробиотика Гипролам

Мы сравнили Гипролам с химиотерапевтическим препаратом Рихометрин (первая серия опыта), применяемым в хозяйстве для профилактики послеродового эндометрита и пробиотическим препаратом Моноспорин (вторая серия опыта) (табл. 6).

Таблица 6 – Эффективность препарата Гипролам для профилактики послеродовой патологии у коров ($M \pm m$).

Группы	Серия опыта	Не заболело послеродовым эндометритом		Задержание последа регистрировали		Количество дней отела до оплодотворения
		животных	%	животных	%	
Опытная группа – (n=78)	1 серия опыта	69	88,4	2	2,56	86,4±1,23
Контрольная группа – схема хозяйства (n=80)		52	65,0	9	11,25	120,6±1,54
Опытная группа (n=60)	2 серия опыта	51	85,0	2	3,33	87,3±2,25
Контрольная группа профилактика препаратом моноспорин- (n=59)		36	61,0	8	13,55	118,2±1,13

В результате установили, что профилактическая эффективность препарата Гипролам на 23,4 % выше, чем в группе коров, которым применяли Рихометрин и на 24 % больше, чем у животных, которым использовали препарат Моноспорин. В опытной группе коров отмечали задержание последа на 10,2 % реже, чем в группе коров, которым применяли Моноспорин и на 8,69 % реже, чем у коров, где профилактику проводили по принятой в хозяйстве схеме. Количество дней бесплодия у животных, которым вводили Гипролам в 1,3 раза меньше, чем у коров, обработанных по схеме хозяйства и препаратом Моноспорин.

Следует отметить, что у животных опытной группы при ректальном исследовании наблюдались обильные истечения серо-коричневого экссудата из полости матки, который не обладал ихорозным запахом. Было отмечено, что эти истечения выделялись до 15 дней после отела. Инволюция матки наступала на 25-30 дни после отела. При применении Гипролама у животных быстрее восстанавливался родополовой аппарат.

Проведенные морфологические, биохимические исследования крови у коров, подвергшихся профилактике препаратами Моноспорин и Гипролам указывают на то, что сразу после отела у коров наблюдается ряд изменений в биохимических показателях крови. Это проявляется в снижении количества общего белка, значительном повышении АСТ, щелочной фосфатазы, триглицеридов, снижении уровня кальция, холестерина, каротина. У коров в первый день после отела (фон) выявлено значительное увеличение уровня аспаратаминотрансферазы, что связано с субинволюционными процессами родополового аппарата. Через двадцать дней уровень АСТ снижается до физиологической нормы, как в опытной группе коров, так и в контрольной группе. Нами отмечено, что в контрольной группе и опытной группах происходило увеличение общего белка в крови на 11 %, и 13,72 % соответственно. Кроме того, в опытной группе показатели альбуминов и глобулиновых фракций были в пределах физиологической нормы, что говорит об отсутствии воспалительного процесса в организме. В контрольной группе отмечено незначительное снижение уровня γ -глобулинов на 0,9 % по сравнению с фоном, однако этот показатель был выше физиологической нормы на 1,3 %, что говорит о наличии воспалительного процесса в организме животных. При анализе полученных данных можно отметить, что уровень глюкозы, мочевины, креатинина, железа, меди и цинка в крови животных находились в пределах физиологической нормы.

При исследовании гематологических показателей установили, что в опытной и контрольной группе коров количество эритроцитов, было выше, чем в фоновой группе на 13,2 % и 11,5 % соответственно. Общее количество лейкоцитов у коров опытной и контрольной групп было в пределах физиологической нормы, однако в контрольной группе показатели были выше, чем в фоновой группе на 16,05 % и на 24,4 % выше, чем в опытной группе. В контрольной группе коров наблюдается увеличение количества нейтрофилов и снижение количества лимфоцитов по сравнению с опытной группой и фоном на 53,4 %, 46,7 % и 29,9 %, 23,4 % соответственно.

Нами проводилась курация животных, заболевших острым послеродовым эндометритом после применения профилактических средств (табл. 7). Отмечено, что курс лечения коров опытной группы сократился на 4,5 дня по сравнению с 1 контрольной группой и на 2,6 дней по сравнению со 2 контрольной группой, а кратность введения препаратов уменьшилось на 78,6 % по сравнению с 1 контрольной группой и на 42,9 % по сравнению со 2 контрольной группой соответственно. Следует отметить, что количество дней бесплодия у коров опытной группы было на 35,2 дня меньше, чем у коров 1-й контрольной группы и на 23,4 дня меньше, чем во 2-й контрольной группе животных.

Таблица 7 – Результаты терапевтической эффективности при лечении после применения различных схем профилактики ($M \pm m$).

Группы животных	Кол-во заболевших животных	Дни лечения	Кратность введения	Терапевтическая эффективность, %	Кол-во дней бесплодия
Опытная группа:	9	5,0±0,2	2,8±0,1	100	100,9±2,3
1 контрольная группа:	28	9,5±0,6	5,0±0,3	89,3	136,1±2,0
2 контрольная группа:	23	7,6±0,2	4,0±0,1	91,3	124,3±1,2

Кроме того, нами было отмечено, что у животных, заболевших острым послеродовым эндометритом, которых профилакировали Гипроламом, уже через 1-2 дня после начала лечения наблюдалось увеличение выделения гнойно-катарального экссудата из родополовых путей, а на 5 день лечения выделения отсутствовали полностью. В группе животных, в которой для профилактики перед заболеванием применяли Рихометрин, гнойно-катаральный экссудат выделялся в небольших количествах до 9-10 дня лечения. В группе заболевших коров, которым для профилактики применяли Моноспорин, после начала лечения отмечали увеличение выделений на 4-5 день, а их прекращение на 7-8 день лечения.

По результатам ректального исследования установлено, что сократительная способность в матке у опытных животных восстанавливалась на 2-3 день лечения, в 1 контрольной группе – на 12-13 день, а во 2 контрольной группе на 8-9-день лечения.

Наиболее высокие показатели терапевтической эффективности курса лечения после проведения профилактических мероприятий у коров были достигнуты в группе опытных животных, которым применяли Гипролам для профилактики острого послеродового эндометрита.

Клинико-экспериментальные исследования профилактической и терапевтической эффективности препарата Флориназол при эндометритах у коров в производственных условиях

При научно-производственных опытах в УОХ «Кубань» на МТФ №3 (табл. 8) установлено, что при беспривязном содержании животных с выгулом в базах профилактическая эффективность схемы с Флориназолом составила 95 %, что на 15 % выше по сравнению с препаратом-аналогом Ниокситил Форте, длительность дней бесплодия сокращалась в среднем на 15 дней. На седьмой день после отела в опытной и контрольной группах атонию матки у коров регистрировали в 10 % случаев, в 5 % – желтое тело и в 20 % – гипофункцию яичников. Через две недели количество животных с данными патологиями снизилось вдвое.

Таблица 8 – Профилактическая эффективность при использовании двух систем профилактики в УОХ Кубань (M±m: n=55)

Группы животных	Атония матки	Гипофункция яичников	Заболело эндометритом	Профилактическая эффективность, %	Кол-во дней бесплодия
Опытная	5	11	3	95	65,57±0,85***
Контрольная	6	11	11	80	80,07±1,16

Примечание: *** степень достоверности P<0,001

Эффективность комплексной системы профилактики эндометрита с препаратом Флориназол в сравнении с препаратом аналогом Ниокситил форте была подтверждена гематологическими исследованиями. По представленным данным можно отметить, что морфологические показатели крови коров сразу после отела были в пределах физиологической нормы.

При применении комплексной системы профилактики и лечения острых послеродовых эндометритов у коров в ОАО «Родина» при привязном содержании скота с выгулом в базах профилактическая эффективность составила 94,5 %, количество дней от отела до оплодотворения составило в среднем 78 дней, что на 20 % меньше, по сравнению с контрольной группой (табл. 9).

Таблица 9 – Профилактическая эффективность при использовании двух систем профилактики в ОАО «Родина» (M±m: n=55)

Группы животных	Регистрировали атонию матки	Регистрировали и гипофункцию яичников	Заболело эндометритом	Профилактическая эффективность, %	Кол-во дней бесплодия
Опытная	6	9	3	94,5	78,4±0,97***
Контрольная	8	10	7	87,3	94,46±2,55

Примечание: *** степень достоверности P < 0,001

В ООО «Агрофирма им. Ильича» при беспривязном содержании скота с отсутствием пассивного моциона профилактическая эффективность составила 92 %, что на 12 % выше, чем в контрольной группе. Количество дней бесплодия в опытной группе составило 80 дней, а в контрольной 92 дня (табл. 10).

Таблица 10 – Профилактическая эффективность при использовании двух систем профилактики в ООО «Агрофирма им. Ильича» (M±m: n=50)

Группы животных	Регистрировали атонию матки	регистрали гипофункцию яичников	Заболело эндометритом	Профилактическая эффективность, %	Кол-во дней бесплодия
Опытная	1	12	4	92	80,04±0,8
Контрольная	4	16	10	80	92,46±2,3

При лечении заболевших коров по предложенной схеме в трех хозяйствах с разной системой содержания, в опытной группе выздоровление у коров наступало после 3-4 введений препарата. Терапевтическая эффективность составила 100 %, что на 20 % выше, чем в контрольной группе (табл. 11).

Таблица 11 – Основные показатели терапевтической эффективности при применении комплексной схемы лечения послеродовых эндометритов у коров (M±m)

Группа	Количество животных	Среднее кол-во введений препарата	Дни лечения	Терапевтическая эффективность, %	Срок до оплодотворения (дни)
Опытная	10	3,9±0,23	7,27±0,68	100	94,9±3,34
Контрольная	17	5,53±0,24	11,06±0,49	93,3	113,71±2,66

При гематологических исследованиях коров в первый день заболевания эндометритом было установлено увеличение общего количества лейкоцитов и количества сегментоядерных нейтрофилов выше физиологических показателей. Через неделю после выздоровления отмечалась стабилизация количества лейкоцитов и снижение количества сегментоядерных нейтрофилов до нормативных показателей.

Разработка Комплексной профилактической и лечебной схемы с применением разработанных препаратов

Апробацию профилактической и лечебной схемы острого послеродового эндометрита у коров проводили в ОАО «Родина» и в ООО «Агрофирма им. Ильича» на поголовье 100 коров в каждом хозяйстве в период 2018-2019 гг.

В результате проведенных исследований было установлено, что в опытных группах острый послеродовой эндометрит регистрировался у 5 коров в ОАО «Родина» и 6 коров в ООО «Агрофирма им. Ильича», что составляет 10 % и 12% животных. При этом в контрольных группах в обоих хозяйствах показатель заболеваемости коров эндометритом был выше на 8 % в обоих хозяйствах (табл. 15). Стоит отметить, что коров, заболевших острым послеродовым эндометритом после терапии по предложенной схеме, сервис-период составил 98-100 дней, в то время как в контрольной группе данный показатель был выше и составил 117-135 дней соответственно в ОАО «Родина» и ООО «Агрофирма им. Ильича». Также нами было отмечено, что при профилактике препаратом Гипролам, количество дней лечения было меньше на 4-3 дня соответственно в обоих хозяйствах и составило в среднем 6 дней.

Исследования крови показали, что у коров в ОАО «Родина» в начале заболевания регистрировался нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом вправо, такая же тенденция отмечалась и у коров обеих групп в ООО «Агрофирма им. Ильича». Через 14 дней показатели лейкоцитов находились в опытных группах на верхней границе нормы, а в контроле на 1-2 % выше нормы. Также у коров в контрольных группах отмечалось увеличение нейтрофилов, в том числе и палочкоядерных. При биохимическом анализе крови было отмечено увеличение общего белка и количества γ -глобулинов в начале заболевания, через 14 дней в опытной группе данный показатель был в пределах физиологической нормы, а в контрольных группах находился на верхней границе физиологической нормы.

Таким образом, предложенная система профилактики и лечения эндометритов у коров способствует высокой профилактической эффективности выбранных мероприятий, а при возникновении заболевания, более легкому его

протеканию и сокращению дней лечения, а затем приводит к сокращению сервис-периода.

3.8 Система профилактики и лечебных мероприятий с использованием разработанных препаратов

На основании проведенных исследований этиологии, патогенеза и клинической картины острого послеродового эндометрита у коров, а также основываясь на полученных результатах разработанных нами терапевтических препаратов, считаем возможным предложить систему лечебно-профилактических мероприятий. В основе, которой так же лежат основные постулаты зооветеринарных мероприятий.

1. Проводить контроль уровня кормления животных в предотельном периоде, основываясь на состоянии упитанности и ожидаемой молочной продуктивности животных.

2. Соблюдать сбалансированность рациона по макро- и микроэлементам, витаминам, для чего необходимо проводить химический анализ кормов.

3. Проведение ежедневного моциона животных, находящихся в сухостойном периоде на выгульных площадках, расположенных у продольной стены здания для содержания скота или на отдельной площадке с соблюдением санитарно-эпидемиологических норм согласно технологическому проектированию ферм крупного рогатого скота.

4. За две недели до предполагаемого отела, провести отбор проб крови для исследования на общий и биохимический анализ. Обращая внимание на показатели глюкозы, повышение ЩФ, изменения показателей кальция и фосфора (именно снижение количества кальция в сыворотке крови является одним из главных признаков, по которым животных в период сухостоя можно отнести к группе риска по развитию акушерско-гинекологической патологии после отела).

5. Переводить коров и нетелей в предродовую секцию не позднее, чем за 5 суток до ожидаемого отела. До постановки в родильное отделение у коров и нетелей клинически обследуют состояние молочной железы и копыт, размещение рожениц проводят по принципу «все пусто-все занято», с соблюдением в секциях должного ветеринарно-санитарного состояния и регулярной дезинфекции с последующей проверкой качества дезинфекции в лаборатории.

6. Отел проводить с соблюдением ветеринарно-санитарных правил.

7. Начиная с первого дня после отела в качестве профилактики заболеваемости коров острым послеродовым эндометритом применять двукратно препарат Гипролам согласно инструкции.

8. В качестве ранней диагностики острого послеродового эндометрита – проводить ежедневный клинический осмотр животных с обязательной термометрией и УЗИ диагностикой на 4-5 день или разработанного нами способа экспресс-диагностики скрытых воспалительных процессов молочной железы и репродуктивных органов коров.

9. При подтверждении наличия воспалительных септических процессов в матке немедленно изолировать больных животных (поместить в изолятор), где проводить комплексное лечение животных с использованием разработанных нами схем терапии острого послеродового эндометрита у коров с применением препарата Флориназол или других лечебных средств. Провести механическую очистку и дезинфекцию помещения.

4 Экономическое обоснование применения разработанной системы лечебно-профилактических мероприятий при эндометритах у коров

При использовании комплексной системы профилактики и терапии послеродового эндометрита с применением препарата Флориназол сумма предотвращенного ущерба на одно животное составила 35240,0 рублей, что больше по сравнению с контрольной схемой на 1708,0 рублей. Экономический эффект от проведенных терапевтических мероприятий при лечении эндометрита с использованием Флориназола на группе из 10 животных составил 343825,3 рублей, что больше экономического эффекта схемы с применением Ниокситил форте на 22930,9 рублей. Экономический эффект на 1 рубль затрат при применении схемы профилактики и терапии с препаратом Флориназол составил 41,7 рублей, тогда как в контроле он был 23,2 рублей, что выше на 18,5 рублей по сравнению со схемой с применением Ниокситил форте или больше в 1,8 раз.

При использовании комплексной системы профилактики и терапии послеродового эндометрита с применением препаратов Гипролам и Флориназол сумма предотвращенного ущерба на одно животное составила 36100,0 рублей, что больше по сравнению с контрольной схемой на 2556 рублей. Экономический эффект от проведенных терапевтических мероприятий при лечении эндометрита с использованием Флориназола на группе из 10 животных составил 345797,6 рублей, что больше экономического эффекта схемы с применением Ниокситил форте на 29186,68 рублей. Экономический эффект на 1 рубль затрат при применении схемы профилактики и терапии с препаратом Флориназол составил 22,7 рублей, тогда как в контроле он был 16,8 рублей, что выше на 5,9 рублей по сравнению со схемой с применением Ниокситил форте.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выводы

1. В Краснодарском крае ежегодно по причине бесплодия выбраковывают 7,8 % коров. Основной причиной симптоматического бесплодия являются острые послеродовые эндометриты, которые регистрируются у 37,8-41 % отелившихся коров. В хозяйствах Краснодарского края острыми послеродовыми эндометритами ежегодно переболевает от 22 до 66 % коров. Наиболее часто эндометриты регистрируются в хозяйствах Центральной и Западной степных зон Краснодарского края – у 60,6-67,5 % отелившихся коров, выбытие по причине необратимого бесплодия достигает 12,4 % от всех отправленных на убой коров.

2. Основным этиологическим фактором возникновения неспецифических острых послеродовых эндометритов является бактериальная микрофлора и грибы. От больных эндометритом коров наиболее часто выделяются *E. coli* (30 %), *C. albicans* (18 %), α и β гемолитические стрептококки (15 %), *S. aureus* (10,4 %). Монокультуры были изолированы в 61,7 %, ассоциаций микроорганизмов – 39,3 %, в том числе ассоциации микроорганизмов с грибами выделялись в 24,6 %. Наиболее часто (25-37,5 %) регистрировали ассоциации *E. coli* + *K. pneumonia* + *S. aureus*, *E. coli* + *K. cryocrescens* + *E. agglomerans*, *P. mirabilis* + *K. cryocrescens*, *E. coli* + *C. albicans*, *K. pneumonia* + *C. albicans*.

3. Предрасполагающими факторами развития эндометрита является нарушение технологии содержания и кормления, приводящее к снижению естественной резистентности животных, в результате чего возникают благоприятные условия для размножения и патологического воздействия бактериальной и грибной микрофлоры, проникающей в родовые пути после отела. В опытах на крысах доказано, что при попадании микрофлоры в половые пути беременных животных эндометрит не развивается, а возникает только при условии попадания микрофлоры после родов.

4. Установлено, что в сухостойном периоде маркерами возможного заболевания коров острым послеродовым эндометритом является перераспределение белковых фракций крови за счет повышения γ -глобулинов до верхней границы нормы и выше и снижения β -глобулинов ниже границ нормы, снижение глюкозы до 1,85 ммоль/л, повышение щелочной фосфатазы на 39 Ед/л и выше нормы и снижение кальция на 28 % и более процентов ниже нормы, а также изменение гормонального статуса, проявляющееся повышенным уровнем прогестерон в пределах 8,6-11,7 нмоль/л. Животные с перечисленными выше изменениями после отела заболевают в 85 % случаев. После отела ранними клиническими признаками развития острого послеродового эндометрита являются: повышение температуры тела на 0,5-1 °С, повышение уровня гистамина по предложенной нами качественной реакции с ацетонитрилом, изменения эндометрия матки при ультразвуковой диагностике. Достоверность ранней диагностики эндометрита после отела не ниже 95 %.

5. Разработан и внедрен новый высокоэффективный пробиотический препарат Гипролам для профилактики острого послеродового эндометрита у коров, в состав которого входят *Lactobacillus fermentum* 44/1 и *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* 574, обладающие выраженным анатагонистическим действием в отношении патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Гипролам представляет собой суспензию кремового цвета с кисловатым запахом и осадком, кислотность не менее 30 °Т. Стабилен в течение 7,5 месяцев при температуре хранения препарата минус 18 °С и 45 дней при температуре +2-+10 °С. Не теряет свойств при однократной и двукратной разморозке с последующей заморозкой последующей заморозкой.

6. Согласно СТО 74267440-0005-2015 в 1 см³ Гипролама содержится не менее 1x10⁸ КОЕ живых микроорганизмов *Lactobacillus fermentum* 44/1 и

Lactococcus lactis subsp. *Lactis* 574. Гипролам малотоксичен для животных, не вызывает их гибели в остром, хроническом экспериментах, что по ГОСТ 12.1.007-76 относится к 4 классу опасности – веществам малоопасным. Длительное применение Гипрлама не оказывает отрицательного действия на организм лабораторных животных, морфологические и биохимические показатели крови, Гипролам не обладает раздражающими и сенсibiliзирующими свойствами.

7. На основании фундаментальных и прикладных исследований по фармацевтической технологии и антибиотикотерапии, а также результатов теоретических и экспериментальных исследований по совместимости различных лекарственных субстанций в одной лекарственной форме, был разработан новый комплексный антимикробный и фунгицидный препарат Флориназол. В рецептуру препарата в качестве действующих веществ вошли: Рифампицин 5 масс/%, Флорфеникола 3 масс/%, Флуконазола 0,3 масс/%, Препарат Флориназол темно-красного цвета, горький на вкус, со специфическим запахом мыла. Срок годности Флориназола – 2 года. Флориназол обладает широким спектром действия в отношении грамнегативной кишечной микрофлоры (*E. coli*, *S. boudi*, *K. pneumonia*, *P. mirabilis* и др.), аэромонад, α и β гемолитических стрептококков и стафилококков, в том числе *S. aureus*, а также дрожжеподобных и плесневых грибов (*C. albicans*, *A. fumigatus*, *M. racemosus*, *P. citrinum* и др.). К Флориназолу установлено замедленное формирование резистентности у патогенной и условно-патогенной микрофлоры.

8. Флориназол малотоксичен для животных, не вызывает их гибели в остром, хроническом экспериментах, что по ГОСТ 12.1.007-76 позволяет отнести его к 4 классу опасности – веществам малоопасным. Длительное применение Флориназола не оказывает отрицательного действия на организм лабораторных животных, морфологические и биохимические показатели крови, Флориназол не обладает раздражающими и сенсibiliзирующими свойствами. Проведенные опыты по влиянию Флориназола на биохимическую картину крови лабораторных животных показали, что Флориназол не только не оказывает отрицательного действия на функциональную деятельность внутренних органов, но и улучшает некоторые биохимические показатели крови: отмечено увеличение общего белка сыворотки крови на 5,9 %, снижение билирубина на 13,75 %, креатинина – на 10,2 %, аланинаминотрансферазы – на 5 %.

9. При внутриматочном применении максимальная концентрация действующих веществ препарата Флориназол (Флорфеникола, Рифампицина, Флуконазола) в крови коров регистрировалась через 1-2 часа после его введения и сохранялась до 48 ч. Через 72 ч после введения действующие вещества Флориназола в крови не обнаруживались. Выделение с молоком антибиотиков группы бета лактамов продолжается в течение всего курса лечения Флориназолом и прекращается через 72 ч после последнего введения

препарата. Использование молока в пищу людей рекомендуется через 72 ч после последнего введения Флориназола.

10. В производственных опытах доказана высокая эффективность Гипролама при профилактике острого послеродового эндометрита. При внутрицервикальном введении Гипролама двукратно в первый и второй дни после отела в дозе 100 см³ профилактическая эффективность составляет 85-88,4 %, количество дней бесплодия снижается на 30,9-34,2 дня, индекс осеменения – в 1,5 раза, задержание последа после отела в 4-4,5 раза по сравнению с профилактической схемой, применяемой в хозяйстве. Применение Гипролама не требует выбраковки молока, как во время профилактики, так и в течение последующего послеродового периода.

11. По результатам проведенных в условиях хозяйств Краснодарского края исследований установлена высокая профилактическая эффективность комплексного препарата Флориназол. При внутрицервикальном введении Флориназола в первый день после отела в дозе 100 см³ однократно количество заболевших животных снизилось на 7,2-15 % профилактическая эффективность составила от 92 % до 95 %, количество дней бесплодия снизилось на 12,42-16,06 дней по сравнению с профилактической схемой, применяемой в хозяйстве.

12. Установлена высокая эффективность препарата Флориназол при терапии острых послеродовых эндометритов у коров. При внутрицервикальном введении Флориназола в дозе 100 см³ с интервалом 48 ч вместе с патогенетическими препаратами и препаратами заместительной терапии терапевтическая эффективность составила 100 %, количество дней лечения сократилось на 3,79 дней, количество введений препарата – на 1,63 раза, количество дней бесплодия сократилось на 18,8 дней по сравнению с препаратом – аналогом Ниокситил Форте. После выздоровления отмечали нормализацию морфологических показателей крови: снижение общего количества лейкоцитов на 16,2 % и относительного количества нейтрофильных гранулоцитов на 19,1 %, количество эритроцитов возросло на 8,2 %, гемоглобинва – на 2,7 %. Экономический эффект на 1 рубль затрат при применении схемы профилактики и терапии с препаратом Флориназол составил 41,7 рублей, что выше в 1,8 раз по сравнению со схемой с применением препарата-аналога.

13. Разработанная и внедренная в хозяйства Краснодарского края высокоэффективная система профилактики и лечения острых послеродовых эндометритов у коров, включающая новый пробиотический препарат Гипролам и комплексный антимицробный и фунгицидный препарат Флориназол позволили предотвратить заболеваемость эндометритом у 88-90 % коров, повысить терапевтическую эффективность до 100 %, снизить количество дней бесплодия на 12,35 дней и повысить индекс осеменения в 1,5-1,8 раза.

14. При использовании комплексной системы профилактики и терапии послеродового эндометрита с применением препаратов Гипролам и Флориназол сумма предотвращенного ущерба на одно животное составила

36100,0 рублей, что больше по сравнению с контрольной схемой на 2556 рублей. Экономический эффект на 1 рубль затрат составил 22,7 рублей, что выше по сравнению со схемами, применяемыми в хозяйствах на 35,1 %.

Предложения к производству

1. Систематически проводить акушерско-гинекологическую диспансеризацию коров в сухостойном периоде для установления «групп риска» по заболеваемости острым послеродовым эндометритом.

2. Для ранней диагностики острого послеродового эндометрита у коров проводить экспресс-диагностику скрытых воспалительных процессов репродуктивных органов коров, включающую качественную реакцию на гистамин в сыворотке крови. Проводить ежедневную термометрию у коров в послеотельный период и ультразвуковую диагностику органов малого таза.

3. Для профилактики и лечения воспалительных заболеваний матки у коров использовать разработанную систему, включающую применение препаратов Гипролам и Флориназол согласно инструкции по применению. Сроки ожидания по остаточным количествам действующих веществ в организме коров для Флориназола по молоку и мясу – 72 ч. При профилактике острых послеродовых эндометритов Гипролам вводить внутрицервикально в 1 и 2 дни после отела в дозе 100 см³ или Флориназол после отделения последа однократно в дозе 100 см³. При терапии острых послеродовых эндометритов вводить Флориназол совместно с препаратами патогенетической и заместительной терапии в дозе в дозе 100 см³ с интервалом 48 ч, не более 7 введений.

4. 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 ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Распространение и этиология акушерско-гинекологической патологии на молочно-товарных комплексах Краснодарского края / **Е.Н. Новикова** // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – № 1. – 2020. – С. 55-58.
2. Клиническая картина и гистологические изменения при хроническом эндометрите у коров / И.С. Коба, М.С. Дубовикова, **Е.Н. Новикова** // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019. – Т. 239. – № 3. – С. 141-144.
3. Новый этиотропный препарат для лечения послеродовых эндометритов у коров / И. Коба, Н. Басова, **Е. Новикова**, М. Староселов, В. Пачина // Комбикорма. – 2018. – № 9. – С. 104-106.
4. Метод профилактики акушерско-гинекологической патологии у коров / **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба, А.Н. Шевченко, М.Б. Решетка // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 6. – С. 25-26.
5. Лечение хронического эндометрита новым препаратом Флориназол / М.С. Дубовикова, И.С. Коба, **Е.Н. Новикова** // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2016. – № 123. – С. 1011-1025.
6. Применение нового средства для лечения эндометрита бактериальной и микозной этиологии / **Е. Н. Новикова**, М.Б. Решетка, И.С. Коба, М.С. Дубовикова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. – № 3. – С. 138-140.
7. Применение пробиотика гипролам для профилактики послеродового эндометрита / **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба, Е.А. Горпинченко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2013. – № 40. – С. 146-147.
8. Новый пробиотический препарат "Гипролам" для профилактики послеродового эндометрита / **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба // Вестник АПК Ставрополя. – 2013. – № 2 (10). – С. 219-221.
9. Пробиотики в животноводстве и ветеринарии Краснодарского края / А.Н. Турченко, И.С. Коба, **Е.Н. Новикова**, М.Б. Решетка, Е.А. Горпинченко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2012. – № 34. – С. 184-186.
10. Перспектива решения акушерско-гинекологической патологии у коров на промышленной ферме / А.Н. Турченко, И.С. Коба, **Е.Н. Новикова**, М.Б. Решетка, Е.А. Горпинченко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2012. – № 34. – С. 194-196.
11. Применение широко используемых в животноводстве пробиотических препаратов для профилактики острых послеродовых эндометритов у коров (на молочных комплексах) / А.Н. Турченко, И.С. Коба,

А.И. Петенко, Е.А. Горпинченко, **Е.Н. Новикова**, М.Б. Решетка // Ветеринария Кубани. – 2012. – № 3. – С. 11-13.

В международных базах данных Scopus и Web of Science:

1. Preclinical examination of complex antimicrobial preparation for treating endometritis in cows / Igor Koba, Azamat Shantyz, **Elena Novicova**, Omar Odeh Abdl-mu'tee, Nikita Daytlov // BIO Web of Conferences 17. – 00186 (2020). – FIES 2019. – <https://doi.org/10.1051/bioconf/20201700186>.

Патенты РФ на изобретения:

1. Патент РФ № 2538804 от 10.01.2015. Способ профилактики послеродового эндометрита у коров / Шахов А.Г., Сашнина Л.Ю., Ерина Т.А., Сеницын А.А., **Новикова Е.Н.**, Коба И.С. // опубл. в Бюл. № 1 от 10.01.2015.

2. Патент РФ № 2613141 от 15.03.2017 Средство для лечения острого и хронического эндометрита у коров / **Новикова Е.Н.**, Решетка М.Б., Коба И.С., Крюков Н.И., Дубовикова М.С. // опубл. в Бюл. № 8 от 15.03.2017.

3. Патент РФ № 2518732 от 10.06.2014. Способ лечения эндометритов у высокопродуктивных коров / Ряпосова М.В., Шкуратова И.А., Шилова Е.Н., Калашников А.И., Степанов И.В., Заузолкова О.И., Сивкова У.В., Копыльцов С.В., **Новикова Е.Н.** // опубл. в Бюл. № 16 от 10.06.2014.

4. Патент РФ № 2497534 от 10.11.2013. Способ получения бактериального препарата для профилактики послеродового эндометрита у крупного рогатого скота/ **Новикова Е.Н.**, Коба И.С., Копыльцов С.В., Зимин К.В. // опубл. в Бюл. № 31 от 10.11.2013.

5. Патент РФ № 2629273 от 28.08.2017. Способ экспресс-диагностики скрытых воспалительных процессов молочной железы и репродуктивных органов коров / Коба И.С., Дубовикова М.С., **Новикова Е.Н.**, Крюков Н.И., Лысенко А.А. // опубл. в Бюл. № 25 от 28.08.2017

Монографии, рекомендации:

1. Применение пробиотика Гипролама в профилактике эндометрита у коров: монография / И.С. Коба, **Е.Н. Новикова** // Краснодар. – КубГАУ, 2017. – 116 с.

2. Фармакотерапия острого и хронического неспецифического эндометрита у коров: монография / И.С. Коба, **Е.Н. Новикова**, М.С. Дубовикова // Краснодар. – КубГАУ, 2019. – 110 с.

3. Профилактика и терапия эндометритов у коров / **Е.Н. Новикова**, Н.Ю. Басова, А.В. Скориков, И.С. Коба, М.С. Дубовикова // ФГБНУ КНЦЗВ. – Краснодар – 2018 г. – 65 с.

Публикации в сборниках конференций:

1. Использование нового пробиотического препарата Гипролам для профилактики эндометритов у крупного рогатого и сравнение его с другими профилактическими препаратами / И.С. Коба, **Е.Н. Новикова** // Актуальные задачи ветеринарии, медицины и биотехнологии в современных условиях и способы их решения: Материалы Региональной научно-практической

межвузовской конференции / ГНУ Самарская НИВС РАСХН. – Самара, 2013. – С. 142 -148.

2. Исследования смывов из матки больных эндометритом и здоровых коров в первые дни после отела / А.Н. Турченко, И.С. Коба, **Е.Н. Новикова** // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии и фармации». – Краснодар, 2012. – С. 111-113.

3. Клинические испытания препарата «Гипролам» на коровах до и после отела/ И.С. Коба, **Е.Н. Новикова** // Проблемы и пути развития ветеринарии высокотехнологического животноводства Материалы междунар. науч.-практич. конференц. посвящ. 45-летию ГНУ ВНИВИПФиТ Россельхозакадемии. – Воронеж, 2015. – С.220-223.

4. Лечение острых послеродовых эндометритов у коров и наносимый ими экономический ущерб / **Е.Н. Новикова** // Современное состояние животноводства: проблемы и пути их решения: материалы Международной научно-практической конференции. – 2018. – С. 289-290.

5. Новикова Е.Н. Пробиотики в акушерско-гинекологической практике ветеринарной медицины / А.Н. Турченко, И.С. Коба, **Е.Н. Новикова**, М.Б. Решетка, Е.А. Горпинченко // Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию ветеринарной науки Кубани «Актуальные проблемы современной ветеринарии». – Краснодар, 2011. – ч.1 – С. 95-98.

6. О распространении острого послеродового воспаления матки у коров / Новикова Е.Н., Турченко А.Н. // Материалы II Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня образования Кубанского государственного аграрного университета «Опыт международного сотрудничества в области экологии, лесного хозяйства, ветеринарной медицины и охотоведения». – Краснодар, 2011. – С. 169-171.

7. Применение нового пробиотического препарата Гипролам для профилактики острого послеродового эндометрита у коров / И.С. Коба, **Е.Н. Новикова** // «Актуальные проблемы ветеринарного акушерства и репродукции животных» Материалы международной научно-практической конференции, посвящ. 75-летию со дня рождения и 50-летию научно-практической деятельности д.в.н., профессора Г.Ф. Медведева. – Горки: БГСХА, 2013. – С. 10.

8. Применение химиотерапевтических средств для профилактики и лечения эндометритов у коров / М.С. Дубовикова, **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба // Наилучшие доступные технологии: материалы Всероссийской научно-практической конференции. – 2016. – С. 32-37.

9. Пробиотики в акушерско-гинекологической практике ветеринарной медицины / А.Н. Турченко, И.С. Коба, **Е.Н. Новикова**, М.Б. Решетка, Е.А. Горпинченко // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной ветеринарии», посвящ. 65-летию ветеринарной науки Кубани. – Краснодар. – 2012. – С. 95-98.

10. Разработка и изучение физико-химических свойств препарата флориназол / М.С. Дубовикова, **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба // Перспективы и актуальные проблемы развития высокопродуктивного молочного и мясного скотоводства: сб. матер. Международной научно-практической конференции. – 2017. – С. 48-52.

11. Хронические эндометриты как основная причина бесплодия у коров и способ их диагностики / **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба, М.С. Дубовикова // Научное обеспечение агропромышленного комплекса: сб. статей по материалам XI Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 95-летию Кубанского ГАУ и 80-летию со дня образования Краснодарского края. – 2017. – С. 138-139.

Статьи, опубликованные в других изданиях:

1. Сравнение схем профилактики эндометритов у коров с применением антибиотиков и пробиотиков / И.С. Коба, **Е.Н. Новикова** // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2019. – № 1 (6). – С. 19-24.

2. Доклинические исследования комплексного препарата, предназначенного для лечения эндометрита у коров / И.С. Коба, **Е. Н. Новикова**, О.О. Аль-равашдех // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2019. – Т. 8. – № 1. – С. 156-161.

3. Бесплодие крупного рогатого скота / **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба, А.В. Скоринов, О.О. Аль-равашдех // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2019. – Т. 8. – № 2. – 278-283.

4. Применение комплексных схем лечения острых послеродовых эндометритов у коров / **Е.Н. Новикова** // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2019. – Т. 8. – № 3. – С. 185-189.

5. Развитие резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам при лечении акушерско-гинекологических патологий у коров / **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба, Н.Ю. Басова // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2019. – Т. 8. – № 3. – С. 190-194.

6. Терапевтическая эффективность препарата флориназол в комплексных схемах лечения хронических эндометритов у коров / **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба, М.С. Дубовикова, М.Б. Решетка // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2018. – № 21-2. – С. 95-100.

7. Изучение раздражающего и сенсibilизирующего действия нового препарата для профилактики и терапии послеродовых эндометритов бактериально-микозной этиологии у коров / **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2018. – Т. 7. – № 1. – С. 203-207.

8. Токсикологическая оценка нового препарата для профилактики и

терапии послеродовых эндометритов бактериально-микозной этиологии у коров / **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба, В.В. Меньшенин // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2018. – Т. 7. – № 1. – С. 207-211.

9. Способ выявления скрытого воспалительного процесса в организме коров при акушерской патологии / **Е.Н. Новикова**, И.С. Коба, М.С. Дубовикова, М.Б. Решетка // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2017. – Т. 53. – № 1. – С. 116-119.

10. Биопрофилактика эндометритов у коров / И.С. Коба, М.Б. Решетка, **Е.Н. Новикова** // Животноводство Юга России. – 2015. – № 5 (7). – С. 32-34.

11. И профилактика эндометритов, и дополнительное молоко... / И. Коба, **Е. Новикова**, М. Решетка // Животноводство России. – 2014. – № 3. – С. 34-35.

12. Послеродовой эндометрит коров (исследования смывов из матки больных эндометритом и здоровых коров в первые дни после отела) А.Н. Турченко, И.С. Коба, **Е.Н. Новикова** // Эффективное животноводство. – №4 (78). – 2012. – С. 35-36.

13. «Гипролам» - новый эффективный биопрепарат для профилактики послеродового эндометрита у коров / И.С. Коба, **Е.Н. Новикова** // Эффективное животноводство. – № 3. – 2013. – С. 9-10.

14. Etiology and pathogenesis of acute postpartum bacterial and mycotic endometritis in cows / I. S. Koba, **E. N. Novikova**, M. B. Reshetka, A.V. Luneva // Europäische Fachhochschule. – 2014. – № 1. – С. 3-5.

Новикова Елена Николаевна

**Этиология и патогенез неспецифического послеродового эндометрита и
разработка системы его профилактики и терапии у коров**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук

Подписано в печать _____2020. Уч.-изд. л. – 3,0.

Тираж 100 экз. Заказ №__

Типография Кубанского государственного аграрного университета.
350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13