

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ И. Т. ТРУБИЛИНА»

На правах рукописи



СОЛОДКОВА КИРА ВАДИМОВНА

**РАЗРАБОТКА, ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И  
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА МАСТИГАРД ПРИ  
МАСТИТЕ У КОРОВ**

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

Диссертация

на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:

доктор ветеринарных наук, доцент

Шантыз Азамат Хазретович

Краснодар – 2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ.....</b>	<b>4</b>
<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>6</b>
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1 МАСТИТ КАК ПАТОЛОГИЯ И ЕГО РАСПРОСТРАНЕНИЕ .....</b>	<b>15</b>
<b>1.2 ЭТИОЛОГИЯ МАСТИТА И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ .....</b>	<b>20</b>
<b>1.3 ДИАГНОСТИКА И ФАРМАКОТЕРАПИЯ МАСТИТА КОРОВ.....</b>	<b>25</b>
<b>1.4 ФАРМАКОДИНАМИКА ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ПРЕПАРАТА МАСТИГАРД</b>	<b>39</b>
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>	<b>52</b>
<b>3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>	<b>56</b>
<b>3.1 РАЗРАБОТКА СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА МАСТИГРД.....</b>	<b>56</b>
<b>3.2 ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>66</b>
3.2.1 Оценка острой токсичности препарата Мастигард на лабораторных животных .....	66
3.2.2 Оценка субхронической токсичности препарата Мастигард на лабораторных животных .....	69
3.2.3 Субхроническая токсичность (переносимость) препарата Мастигард на целевых животных .....	81
3.2.4 Оценка эмбриотоксического и тератогенного действия препарата Мастигард .....	89
<b>3.3 ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА МАСТИГАРД В ЛЕЧЕНИИ МАСТИТА КОРОВ ...</b>	<b>112</b>
3.3.1 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении субклинического мастита лактирующих коров .....	115
3.3.2 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении серозного мастита лактирующих коров .....	119
3.3.3 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении катарального мастита у лактирующих коров.....	125
3.3.4 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении фибринозного мастита у лактирующих коров.....	131

3.3.5 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении гнойно-катарального мастита у лактирующих коров.....	137
3.3.6 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении геморрагического мастита у лактирующих коров.....	144
3.3.7 Обобщающие выводы по оценке терапевтической эффективности лекарственного препарата Мастигард в терапии различных видов мастита коров.....	149
<b>3.4 ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СРЕДСТВ И СПОСОБОВ ТЕРАПИИ МАСТИТА КОРОВ .....</b>	<b>153</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>155</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>160</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....</b>	<b>162</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>163</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ .....</b>	<b>190</b>
<b>Приложение №1.....</b>	<b>190</b>
<b>Приложение №2.....</b>	<b>194</b>
<b>Приложение №3.....</b>	<b>201</b>

## ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей научно-квалификационной работе (диссертации) применяются следующие сокращения и обозначения:

АД	–	Артериальное давление	
АКТГ	–	Адренокортикотропный гормон	
АЛТ	–	Аланинаминотрансфераза	
АСТ	–	Аспаратаминотрансфераза	
АТФ	–	Аденозинтрифосфат	
ГКС	–	Глюкокортикостероиды	
ДВ	–	Действующее вещество	
ДНК	–	Дезоксирибонуклеиновая кислота	
ЕС	–	Европейский союз	
ИЛ	–	Интерлейкины	
КОЕ	–	Колониеобразующая единица	
КРС	–	Крупный рогатый скот	
ЛФ	–	Лекарственная форма	
МПК	–	Минимальная подавляющая концентрация	
МИК (MIC)	–	Минимальная ингибирующая концентрация	
НПВС	–	Нестероидные противовоспалительные препараты	
СГС	–	Согласованная на глобальном уровне система классификации опасности и маркировки химической продукции	
СК	–	Соматические клетки	
СОЭ	–	Скорость оседания эритроцитов	
ЩФ	–	Щелочная фосфатаза	
в/м	–	Внутримышечное	
п/к	–	Подкожное	
и/ц	–	Интрацестернальное	
EFSA	–	European Food Safety Authority (Европейское агентство по безопасности продуктов питания)	
In vitro	–	Методика выполнения экспериментов, когда исследование проводится «в пробирке»	когда
In vivo	–	Методика выполнения экспериментов, когда исследование проводится на живых организмах	когда
IMM	–	Интрамаммарное введение	
FDA	–	Food and Drug Administration (Управление по контролю за продуктами и лекарствами США)	
MRSA	–	Метициллинрезистентный золотистый стафилококк	
C <sub>max</sub>	–	Максимальная концентрация вещества (лекарственного препарата) в крови	

- AUC – Фармакокинетический показатель, обозначающий «площадь под кривой»
- LD<sub>50</sub> – Средняя доза вещества, вызывающая гибель половины опытной группы
- SD – Стандартное отклонение

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Наиболее перспективной отраслью агропромышленного комплекса в России на данный момент является молочное скотоводство, основной целью которой является увеличение объемов надоя молока, сохранение и повышение его биологической ценности. Одной из самых распространенных патологий среди молочного скота является мастит, которое по статистике может достигать до 73,4%. Основным этиологическим фактором возникновения мастита у лактирующих коров являются патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, продукты их жизнедеятельности в том числе выделение токсинов. Инфицирование молочной железы микроорганизмами чаще всего связаны с нарушениями гигиены и техники доения. Ослабление иммунной системы животных на фоне неблагоприятных условий содержания и несбалансированного кормления также играет немаловажную роль в развитии инфекционного процесса [Хромова Л. Г., Востроилов А. В., Байлова Н. В., 2020; Волостнова А. А., Грехнева, К. С., Волошина Н. М. и др., 2022; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М., 2023; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2024].

Основным возбудителем мастита у коров является бактерия *S. aureus*. Во многих странах мира она является наиболее часто выявляемым возбудителем в молоке коров. Также в молоке от коров с маститом выявляют бактерии: *Str. agalactiae*, *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae*, *Klebsiella ozenae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, а также: *Escherichia coli*, *Mycoplasma spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Clostridium spp.* Течение и исход заболевания зависит от множества факторов, таких как патогенность и свойства возбудителя болезни, степень физического воздействия (травмы, ожоги, переохлаждения, неправильная эксплуатация животного), локализация патологического очага, а также от общего состояния организма животного, наличия или отсутствия сопутствующих заболеваний и продуктивности животного [Донник И. М., Лоретц О. Г., 2014; Терентьева Т. Е., 2016; Забровская А. В., 2019;

Климов Н. Т., 2020; Камышанов А. С., 2021; Волостнова А. А., Грехнева К. С., Волошина Н. М. и др., 2022; Красочко П. А., 2023; Turkyilmaz S., Tekbiyik S., Oryasin E., 2010; Masoud W., 2012; Abebe R., 2016; Holschbach C. L., Peek S. F., 2018; Borreani G., 2019].

Экономические потери в результате развития мастита у коров в первую очередь складываются из снижения молочной продуктивности до 70% и ухудшения качественных характеристик молока, что неизбежно влияет на качество продуктов его переработки. В свою очередь, это приводит к снижению сортности и выбраковки молока до 8%. Лечение больных животных требует выделения средств для проведения ветеринарного обслуживания поголовья КРС и затрат на лекарственные препараты, что приводит к экономическим потерям до 8 %, а вынужденному убою до 4%. Немаловажным аспектом экономических потерь является выпойка маститного молока телятам, которое приводит к отставанию в наборе массы тела и падежу, в связи с развитием острых кишечных инфекций и может провоцировать гибель телят до 60% [Никитина М. В., Столбова О. А., Скосырских Л. Н., 2019; Скребнев С. А., Скребнева К. С., 2020; Лаушкина Н. Н., Сидорова К. А., Анисимова М. Е. и др., 2020; Грицюк В. А., 2022; Глотова Т. И., 2022; Сидорова К. А., Драгич О. А., Роткин А. Т., 2022; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2023; Солодкова К. В. Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2024; Kochetova O. V., Kostarev S. N., Sidorova K. A., 2020].

В ветеринарной клинической практике лечение мастита базируется на этиотропной терапии и в большинстве случаев начинается уже после появления клинических симптомов. Несвоевременное лечения и нарушение сроков и кратности применения лекарственных препаратов приводит к снижению терапевтической эффективности, и впоследствии к развитию резистентности возбудителей к большинству антибактериальных действующих веществ, входящих в состав противомаститных препаратов. В свою очередь, это приводит к рецидиву заболевания, примерно, в 40% случаев [Белкин Б. Л., Комаров В. Ю., Андреев В. Б., 2015; Ятусевич А. И., 2021; Красочко П. А., 2023].

С учетом всего выше сказанного отмечается высокая актуальность разработки препарата на основе комбинации антибактериальных действующих веществ, обеспечивающих высокую терапевтическую эффективность в отношении широкого спектра бактериальных возбудителей с минимальной кратностью и длительностью введения, а также оказывающего симптоматическую терапию, уменьшая признаки воспаления, вызванные жизнедеятельностью микроорганизмов, с целью быстрого восстановления продуктивности животного.

**Степень разработанности проблемы.** Несмотря на имеющиеся достижения, в настоящее время проблема мастита остается одной из актуальных для ветеринарной науки и практики. Эффективная борьба с маститом практически невозможна без применения антимикробных средств, поскольку основными возбудителями заболевания являются различные патогенные микроорганизмы, к тому же часто обладающие полирезистентностью к большинству антибиотиков. Устойчивость штаммов возбудителей к большинству антибактериальных препаратов складывается из множества факторов. В первую очередь это высокая концентрация животных на молочных комплексах, бессистемное использование антибактериальных препаратов, наличие бактерионосителей и сопутствующие факторы передачи. Также, немаловажную роль играют интенсификация производства молока и нарушения в рационах кормления животных, что приводит к снижению реактивности иммунной системы [Глотов А. Г., 2008; Горбенко А. В., 2013; Глотова Т. И., Котенева С. В., Нефедченко А. В., 2021; Глотова Т. И., 2022; Egorova S., 2007; Turkyilmaz S., Tekbiyik S., Oryasin E., 2010; Silva N. C., 2014; Wang D., 2015; Holschbach C. L., 2018].

С целью решения проблемы резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводится множество научных исследований для выявления и мониторинга их эффективности.

Многими авторами были проведены исследования по изучению резистентности бактериальных изолятов из маститного молока коров к различным антибактериальным препаратам. Так, бактерии рода *Staphylococcus* и *Streptococcus* продемонстрировали наиболее выраженную резистентность к полимиксину и



цефалониуму (99%), тогда как стафилококки еще и к цефтониту, линкомицину, цефапирину и ампициллину (92-98%). Клостридии (*Clostridium*) показали резистентность к широкому перечню антибиотиков (более 90 %) линкомицину и полимиксину, цефалониуму, ампициллину, цефтониту, энрофлоксацину, цефапирину и цефкиному. Представители рода *Salmonella* были резистентны к энрофлоксацину, цефтониту и цефалониуму (100%), а менее – к тетрациклину и гентамицину (42,1 %) [Горбенко А. В., 2013; Глотова Т. И., 2022; Masoud W., 2012; Jagielski T., 2014; Jamali H., Radmehr B., Ismail S., 2014; Wang D., 2015; Dalanezi F. M., 2020].

М. А. Ладанова (2021) установила, что *E. coli* и *Klebsiella* чувствительны к фторхинолонам (левофлоксацин, энрофлоксацин, ципрофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин), пенициллинам (ампициллин), аминогликозидам (гентамицин, неомицин), тетрациклинам (тетрациклин, доксициклин), макролидам (азитромицин, стрептомицин) и цефалоспорином (цефоперазон, цефтазидиму). Культуры *Staphylococcus* были чувствительны к цефалоспорином,  $\beta$ -лактамам (амоксициллин), аминогликозидам (гентамицину) и одному из фторхинолонов – левофлоксацину, тогда как к другим представителям последней фармакологической группы была отмечена резистентность.

К современным антибактериальным препаратам, в том числе применяемым для лечения мастита, предъявляются множество требований, таких как: эффективность в отношении основных потенциальных возбудителей, быстрое бактерицидное действие, высокая способность проникновения в ткани и максимальная эрадикация возбудителя из молочной железы, быстрое наступление клинического улучшения [Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2023; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2024].

Одним из ключевых ресурсов в решении проблемы развития резистентности микроорганизмов при антибактериальной терапии маститов является использование комбинации действующих веществ, которые способны усиливать терапевтическую эффективность, а также обеспечивать симптоматическую терапию, направленную на уменьшение воспаления.

Однако, не все фармакологические группы антибактериальных препаратов отвечают вышеуказанным требованиям. Данными свойствами по результатам изучения фармакодинамических свойств действующих веществ обладают фторхинолоны и полипептидные антибиотики, к которым относятся левофлоксацин и нозигептид. Применение глюкокортикостероидов обеспечивает противовоспалительный эффект, что приводит к уменьшению длительности лечения и быстрому восстановлению продуктивности животного [Ладанова М. А., 2021, Овсянников А. П., Хайруллин Д. Д., Домолазов С. М. и др., 2022; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2023; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2024; Chuzhebaeva G., 2020; Sharun K., 2021].

Указанные положения определили направленность работы и выбор подходов при разработке препарата Мастигард и изучение его токсикологических параметров и эффективности в лечении мастита.

**Цель и задачи исследований.** Цель – разработка комбинированного антибактериального лекарственного препарата Мастигард, оценка профилей его безопасности и терапевтической эффективности в лечении маститов КРС.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. разработать состав препарата и изучить синергизм действующих веществ;
2. провести оценку общетоксических свойств лекарственного препарата Мастигард (острая и субхроническая токсичность на лабораторных животных);
3. провести оценку субхронической токсичности (переносимости) лекарственного препарата Мастигард на целевых животных;
4. изучить специфическую токсичность лекарственного препарата Мастигард (оценка эмбриотоксического действия и тератогенного эффекта лекарственного препарата Мастигард и его влияние на потомство в период лактации на лабораторных животных);
5. определить терапевтическую эффективность при применении лекарственного препарата Мастигард в терапии различных форм мастита на целевых животных;

- б. оценить экономическую эффективность применения лекарственного препарата Мастигард.

**Научная новизна.** Разработан комбинированный антибактериальный лекарственный препарат Мастигард и подтверждён синергизм действия его антибактериальных компонентов. Впервые проведено определение комплекса токсикологических показателей препарата Мастигард, которое позволило выявить степень безопасности применения сочетания действующих веществ (левофлоксацина, нозигептида и преднизолон) на лабораторных животных. Впервые показано влияние лекарственного препарата Мастигард при применении в период беременности и лактации на самок и их потомство на лабораторных животных. Экспериментально обоснована безопасность длительного применения лекарственного препарата Мастигард на целевых животных (КРС). Установлена лечебная эффективность препарата Мастигард в лечении различных видов маститов КРС.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Полученные данные расширяют имеющиеся представления о лечении мастита сельскохозяйственных животных. Теоретическая значимость работы состоит в том, что были изучены механизмы взаимодействия комплекса действующих веществ, таких как левофлоксацин и нозигептид, обладающих выраженной антибактериальной активностью в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов за счет их синергизма. А входящий в состав преднизолон обеспечивает уменьшение воспалительной реакции за счет ингибирования активности фосфолипазы А<sub>2</sub>, что приводит к уменьшению продукции простагландинов. Комбинация двух антибактериальных действующих веществ в совокупности с глюкокортикостероидами (ГКС) обеспечивает повышение эффективности терапии, а также сокращает сроки выздоровления и быстрое восстановление продуктивности животного.

Для ветеринарной медицины был предложен новый препарат – Мастигард, обладающий выраженной антимикробной активностью. Впервые было проведено определение комплекса токсикологических показателей, по результатам которого

установили профиль безопасности лекарственного препарата равный 5-му классу опасности (согласно СГС). Длительное многократное применение не вызывает метаболических изменений в организме как лабораторных, так и целевых животных. В ходе исследований было установлено отсутствие эмбриотоксического и тератогенного действия, а также влияние на потомство при применении самкам в период лактации. Так же была подтверждена высокая терапевтическая эффективность лекарственного препарата Мастигард в отношении различных видов мастита.

По результатам исследований разработана нормативная документация (инструкция по применению), определяющая условия применения препарата Мастигард.

Изложенные в диссертационной работе материалы могут быть использованы при составлении научно-информационной литературы, в учебном процессе сельскохозяйственных ВУЗов, а также в ветеринарной практике.

**Методология и методы исследований.** Методологической основой выполнения работы явилось изучение современных способов и средств лечения мастита коров, а также степень безопасности препаратов, представленные в работах отечественных и зарубежных ученых.

Методика исследований основана на применении современного сертифицированного оборудования, с использованием токсикологических, фармакологических, клинических, биохимических, гематологических и статистических методов.

**Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

- обоснование выбора компонентов на основании первичной эффективности препарата Мастигард, подтверждение синергизма антибактериальных компонентов препарата;
- экспериментальные данные по изучению общетоксических свойств лекарственного препарата Мастигард (острая и субхроническая токсичность на лабораторных животных);

– экспериментальные данные по изучению субхронической токсичности (переносимости) лекарственного препарата Мастиград на целевых животных при длительном применении;

– экспериментальные данные по изучению специфической токсичности лекарственного препарата Мастиград (оценка эмбриотоксического действия и тератогенного эффекта лекарственного препарата Мастигард и его влияние на потомство в период лактации на лабораторных животных);

– терапевтическая эффективность лекарственного препарата Мастиград в лечении различных форм мастита коров;

- экономическая эффективность применения лекарственного препарата Мастиград в лечении мастита коров.

**Степень достоверности и апробация работы.** Основные положения, заключение и практические предложения, сформулированные в диссертации, отвечают целям и задачам работы, а достоверность полученных результатов проанализирована и подтверждается статистической обработкой данных.

Результаты доклинических и клинических исследований, представляющие собой основу диссертационной работы, доложены, обсуждены и одобрены: на заседаниях Международной научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых «Молодые ученые – науке и практике АПК» (г. Витебск, 27-28 апреля 2023 г.); VII Международной научно-практической конференции «Научное обеспечение животноводства Сибири» (г. Красноярск, 18-19 мая 2023 г.), XXV научно-практической конференции «Развитие науки и практики в глобально меняющемся мире в условиях рисков» (г. Москва, 30 января 2024 г.); II Международной научно-практической конференции «Инновационное развитие современной науки: новые подходы и актуальные исследования» (г. Москва, 31 января 2024 г.).

**Личное участие автора.** Все приведенные в диссертации данные получены при личном участии автора, как на этапе постановки задач и разработки методических подходов к их выполнению, так и при наборе первичных фактических данных, статистической обработке и анализе полученных

результатов, написании и оформлении публикаций. Выводы диссертации сформулированы автором.

**Публикации.** Результаты диссертационных исследований опубликованы в 8 научных работах, из них: в рецензируемых научных изданиях, входящих в Перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций (рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ) – 4.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 202 страницах машинописного текста и состоит из разделов: введения, обзора литературы, материалов и методов, собственных исследований, заключения, выводов, практических предложений, списка литературы и приложений. Список использованной литературы включает 201 источник, в том числе иностранных 97. Работа иллюстрирована 55 таблицами и 47 рисунками.

## 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Мастит как патология и его распространение

Воспаление тканей вымени у коров, чаще инфекционного происхождения, сопровождающееся снижением молочной продуктивности, изменением состава и свойств молока называется маститом. Заболевание коров маститом является одной из основных причин экономических издержек в молочном животноводстве во всем мире. Экономические потери от мастита исчисляются из расчета 124 евро (= 147 долларов США) на корову в год, что приводит к убыткам в размере 500 млн., 3 и 125 млрд. евро в Германии, ЕС и во всем мире соответственно. Мировые показатели мастита крупного рогатого скота составляют от 30 до 50% от всех коров за год. Наряду с финансовыми потерями из-за снижения надоев и качества молока, затратами на ветеринарное обслуживание, в том числе лечение и лекарственные препараты, мастит остается важным вопросом обеспечения здоровья животных и основной причиной выбраковки молочных коров. Проблема возникновения маститов в дойном стаде касается предприятий любой организационной формы, характерна для любого сезона года и может быть связана с различным физиологическим состоянием животного: запуском, периодом лактации, постотельным периодом (рисунок 1) [Скопичев В. Г., 2017; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2023; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Коцаев А. Г. и др., 2023; Heringstad B., Klemetsdal G., Ruane J., 2000; Hogeveen H., Huijps K., Lam T. J., 2011; Cheng W. N., Han S. G., 2020; Kabelitz T., 2021].

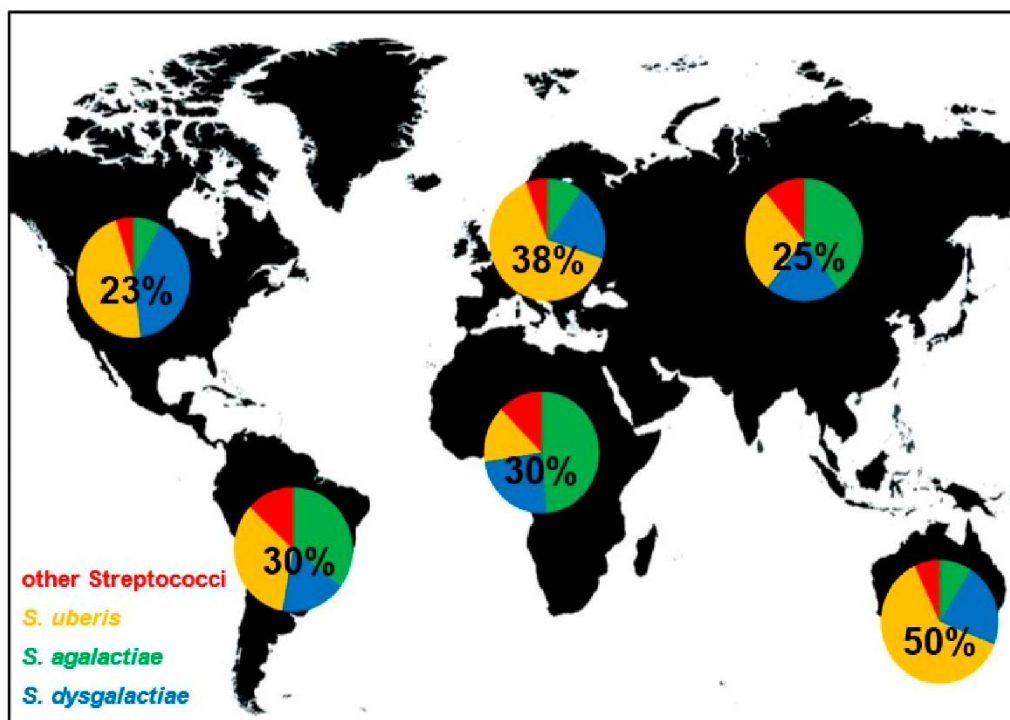


Рисунок 1 – Частота и распределение мастита, вызванного Streptococcus spp. Круговые диаграммы показывают долю указанных видов стрептококков в мастите, во всем мире. Цифры в круговых диаграммах показывают долю стрептококкового мастита относительно всех выявленных случаев мастита [Kabelitz T., 2021]

Однако, изученные литературные данные различны и отражают зависимость распространения мастита от возраста животного, стадии лактации, времени года, а также организационной системы фермы или предприятия. Так, по данным Sharma Neelesh с соавторами (2018), коровы в возрасте от 6 до 9 лет, а также на поздней стадии лактации имели более высокий процент развития мастита, относительно молодых животных с ранней и средней стадией лактации. Mohamed Ali Yusuf с соавторами (2022) получил схожие результаты при исследовании поголовья молочного скота на наличие мастита. Наибольшая распространенность мастита была обнаружена у крупного рогатого скота в возрасте 7 лет и старше (51,4 %) по сравнению с крупным рогатым скотом в возрасте < 7 лет (25,49 %). Однако, зависимость развития мастита от стадии лактации отличалась. Так, животные с ранней стадией лактации имели наибольшую распространенность мастита (58,86%) по сравнению с животными с поздней стадией лактации (12,61%). Исследование также показало значительную связь между распространенностью



маститы и системой производства, которая выше в интенсивных системах (47,45%) и ниже в полуинтенсивных системах (31,4%). Abdul Maalik с соавторами (2019) отметил, что распространенность мастита связана с продуктивностью животного, урбанизированностью фермы, возрастом животного и количеством возникновения случаев заболевания маститом. Однако, он не установил никакой зависимости распространенности субклинического мастита крупного рогатого скота с породой, дезинфицированием сосков, площадью подстилки и стадией лактации.

L. E. Tarazona-Manrique с соавторами (2019) в своих исследованиях наблюдал увеличение распространенности мастита в зависимости от увеличения количества осадков в соответствующие месяцы - апрель, май, сентябрь и октябрь. Наибольшая распространенность мастита у крупного рогатого скота по данным Ali T. С соавторами (2021) была отмечена в жаркие и влажные месяцы июль, август и сентябрь, однако самая низкая наблюдалась в мае.

Мастит может проявляться в различных формах в зависимости от этиологии и тяжести течения заболевания. Так, по литературным данным мастит по степени проявления клинических признаков подразделяют на субклинический, клинический и хронический. По характеру секрета и изменений в тканях молочной железы мастит коров делится на катаральный, гнойный, серозный, фиброзный, геморрагический и гангренозный. Все вышеуказанные формы мастита могут постепенно переходить из одной в другую, в каждой из которых по-разному будут проявляться признаки заболевания. Например, клинический мастит при нарушении режимов лечения может переходить в хроническую форму, без проявления явных симптомов заболевания [Федотов С. В., Авдеенко В. С., Белозерцева Н. С., 2021; Романова Е. П., 2023].

В результате проведенных исследований, ученые также утверждают, что у коров с подтвержденным диагнозом мастит наиболее подвержена инфицированию левая четверть спереди, затем правые четверти и наименьший процент отмечен слева сзади (рисунок 2) [Dalanezi F. M., 2020; Abdi Gillespie B. E., Ivey S., Pighetti G. M. et al, 2020]. Частота встречаемости субклинической и клинической форм

маститы в четвертях вымени коров по данным Sharma Neelesh et al (2018) составила 42,65% и 10,87% соответственно.

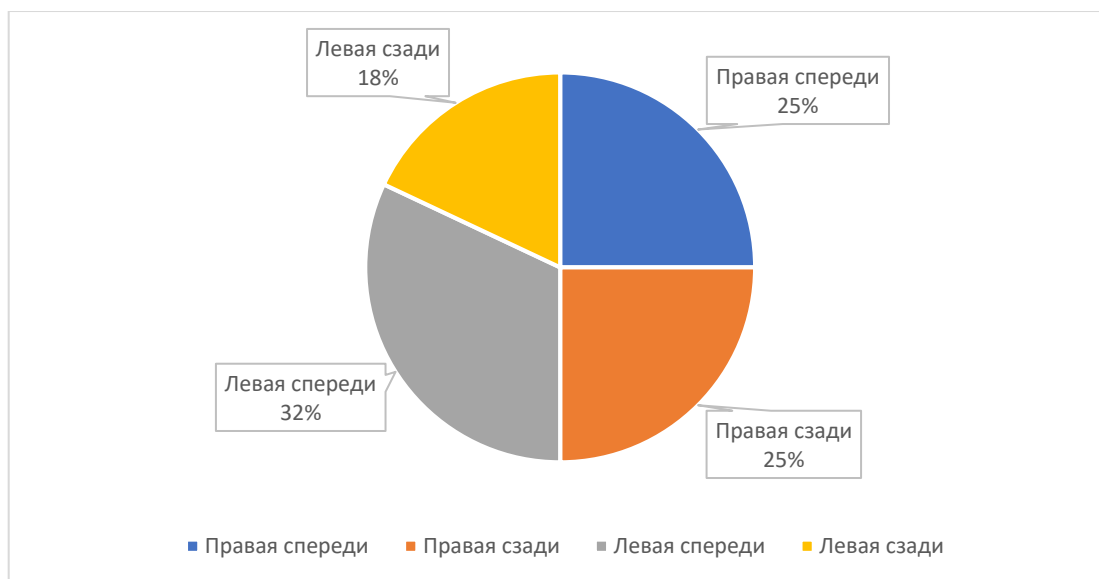


Рисунок 2 – Статистика распространения мастита по четвертям вымени коров (Dalanezi F. M. et al, 2020, Abdi Gillespie, B. E et al, 2020)

Многими учеными в разных странах мира были проведены исследования распространённости субклинического мастита среди молочного стада. Так, в Бразилии частота встречаемости субклинического мастита составила – 18%, в Китае – 38%, в Занзибаре – 49%, в Алжире – 26%, на Шри-Ланке 46 – 58%, в Восточном Казахстане – 19-35%, в Индии – 59%, в Колумбии – 40-51%, %, в Японии – 22%, в Пакистане – 42%, в Сомали – 45%, в Америке – 58%. По данным российских ученых распространение субклинической формы мастита также не одинакова – в Краснодарском крае составляет 18 – 20%, в Тюменской области – 5%, Северный Кавказ – 11%, в республике Дагестан – 26% [Анкудинова В. В., Плахотник А. В., Глазунова Л. А., 2017; Магомедов А. С., Алиев А. Ю., 2018; Ремизова Е. В., 2021; Suleiman T. S., Karimuribo E. D., Mdegela R. H., 2018; Sharma N., 2018; Tarazona-Manrique L. E., Villate-Hernandez J. R., Andrade-Becerra R. J., 2019; Maalik A., 2019; Goncalves, J. L., Kamphuis C., Vernooij H. et al, 2020; Fukushima Y., Kino E., Furutani A. et al, 2020; Abdi Gillespie B. E., Ivey S., Pighetti G. M. et al, 2020; Ranasinghe R., 2021; Mukhamadieva N., 2022; Yusuf-Isleged M. A., 2022].

Клинические формы мастита распространены относительно меньше, чем субклиническая форма, так EFSA заявляет, что мастит остается серьезной проблемой для молочной промышленности, и, по оценкам, заболеваемость клиническим маститом в различных государствах-членах ЕС колеблется от 20% до 35% коров на стадо в год, в Америке обнаружено около 42% случаев, в Восточном Казахстане от 6 до 35%., в Индии – 14%, на Северном Кавказе – 4% [Ремизова Е. В., 2021; Sharma N., 2018; Nalon E., Stevenson, P., 2019; Abdi Gillespie B. E., Ivey S., Pighetti G. M., 2020; Mukhamadieva N., 2022].

Любые формы мастита (с клиническими признаками и скрытые) неблагоприятно сказываются на составе, физико-химических свойствах и санитарно-гигиенических показателях молока. При исследовании образцов молока от коров с маститом учеными было установлено уменьшение количества жира лактозы, кальция и казеина, а содержание натрия, хлоридов и сывороточных белков наоборот возрастало, что в свою очередь приводило к снижению содержания сухих веществ. Также, отмечают изменение жирнокислотного состава и повышение ферментов (каталазы, липазы, фосфатазы и др.), увеличение количества соматических клеток (лейкоцитов) и бактерий (патогенных стафилококков и стрептококков). Все вышеописанные изменения приводят к повышению рН до 6,83–7,19 и снижению плотности до 1024–1025 кг/м<sup>3</sup>, что в свою очередь ведет к выбраковке молока и экономическим потерям. Установлено, что у коров с диагнозом субклинический мастит, вызванный наиболее распространенными патогенами, потеря молока, составляет от 0,8 до 1,3 кг/ на одну четверть по сравнению со здоровыми животными [Goncalves, J. L., Kamphuis C., Vernooij H. et al, 2020].

Таким образом, в результате изучения литературы установлено, что субклиническая и клиническая формы мастита широко распространены среди молочного стада коров в разных странах мира и наносят серьезные убытки молочному производству.

## 1.2 Этиология мастита и распространенность возбудителей

Факторы, провоцирующие развитие мастита у коров, можно разделить на несколько групп. Основной причиной являются системные заболевания, ушибы, травмы и инфицирование микроорганизмами, которые относятся к так называемым вызывающим факторам. Наследственность, высокая продуктивность и неравномерное развитие четвертей вымени являются предрасполагающими факторами. В свою очередь нарушение технологии кормления и содержания, а также технологии и гигиены доения являются основой способствующих факторов [Скопичев В. Г., 2017; Лучко И. Т., 2019; Хромова Л. Г., Востроилов А. В., Байлова Н. В., 2020; Волостнова А. А., Грехнева К. С., Волошина Н. М. и др., 2022].

Наиболее частой причиной воспалительной реакции вымени у коров является инфицирование молочной железы микроорганизмами, связанной с нарушениями гигиены и техникой доения [Скопичев В. Г., 2017; Лучко И. Т., 2019].

Однако, ослабление иммунной системы, обусловленное неблагоприятными условиями содержания и несбалансированным кормлением животных, приводит к снижению устойчивости организма к воздействию патогенной и условно-патогенной микрофлоры, что и провоцирует возникновение инфекционного процесса [Скопичев В. Г., 2017].

Основными возбудителями мастита крупного рогатого скота являются грамотрицательные виды *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, грамположительные виды *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* и *Staphylococcus aureus*, а также *Corynebacterium bovis*, виды *Mycoplasma*, *Enterobacter aerogenes* и *serratia*, *Pseudomonas*, виды *Proteus* [Zadoks R. N., Middleton, J. R., McDougall S., 2011; Klaas I. C., Zadoks R. N., 2017; Krishnamoorthy P., Suresh K. P., Jayamma K. S., 2021].

Широкомасштабное исследование по изучению распространенности основных возбудителей маститов крупного рогатого скота было проведено Krishnamoorthy P. и Suresh K. P. (2021) с помощью метаанализа. Так, ими было проанализировано большое количество данных, в которых сообщалось о

различных случаях мастита у коров, в большинстве стран мира в период с 1979 по 2019 год. По результатам исследования установили, что *Staphylococcus aureus* был основным возбудителем субклинического мастита, *Escherichia coli* вызывала клинический мастит, а *Streptococcus spp.* вызывал субклинический и клинический мастит. Частота встречаемости данных возбудителей в молоке от коров больных маститом составила для *S. aureus* – 25%, *Staphylococcus spp.* – 20%, *Escherichia coli* – 11%, *St. agalactiae* – 9%, *St. uberis* – 9% (рисунок 3).

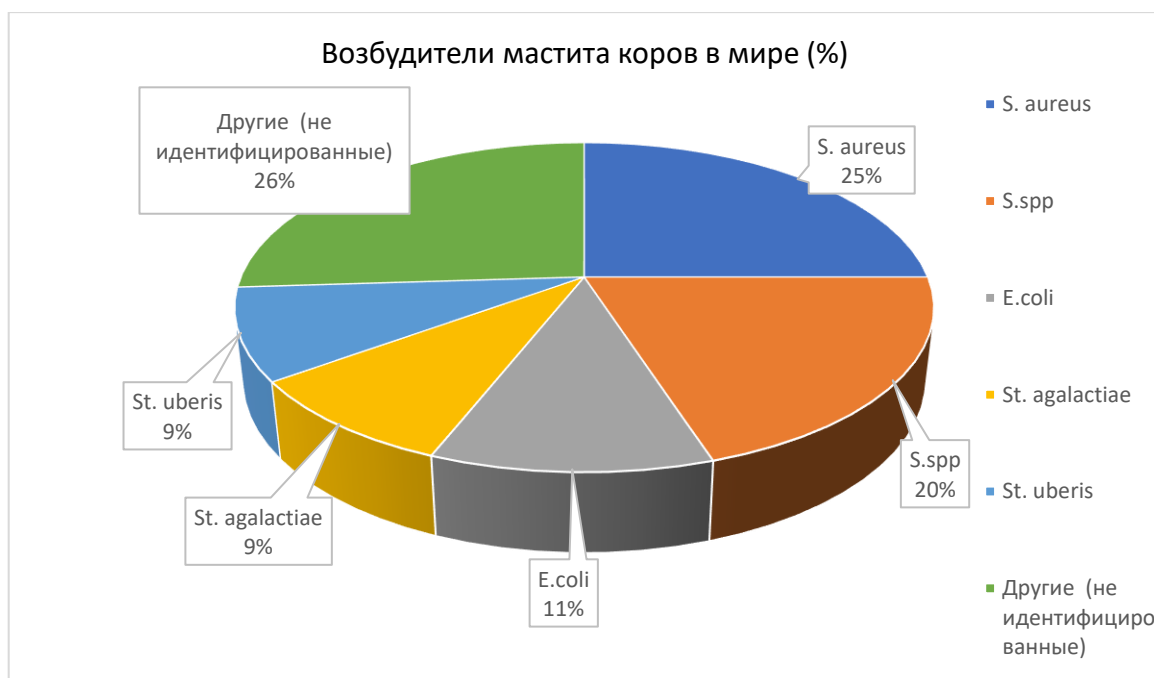


Рисунок 3 – Процентное соотношение наиболее распространенных возбудителей мастита коров в мире [Krishnamoorthy P., Suresh K. P., Jayamma K. S., 2021]

Dufour S. (2019) в своей статье описывает изучение выделенных бактериальных изолятов из молока больных маститом коров с 91 молочной фермы Канады. По результатам исследований молока было установлено, что более, чем в 42% случаях возбудителем мастита коров является *Staphylococcus spp.* (коагулазоотрицательные виды), в 26% случаев *S. aureus*, около 9% *Streptococcus spp.*, 8% *Corynebacterium spp.*, и около 3% приходится на *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* и *Streptococcus dysgalactiae*. Также, встречались такие возбудители как *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus hyicus*, *Trueperella pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*.

В период с 2013 по 2018 гг. в Швеции были собраны образцы молока с клиническим маститом, в которых было выделено 664 бактериальных изолята. *S.aureus* был наиболее распространенным патогеном и составлял 27,8%, за ним следовали *Streptococcus dysgalactiae* – 15,8%, *Escherichia coli* – 15,1%, *Streptococcus uberis* – 11,4%, *Trueperella pyogenes* – 7,7%, не золотистые стафилококки (NAS) – 2,8%, *Klebsiella spp.* – 2,7%, *Enterococcus spp.* – 1,3% и *Streptococcus agalactiae* – 1,2% [Duse A., Persson-Waller K., Pedersen K., 2021].

Peng Jiao (2022) провел бактериологические исследования проб молока отобранных от больных маститом коров на молочных фермах Эфиопии в 2020 г. Преобладающими выделенными бактериальными патогенами были *Staphylococcus aureus* (42,6%), опережая *Streptococcus spp.* (26,2%), не золотистые стафилококки (14,8%) и *Escherichia coli* (11,5%), *Salmonella spp.* (3,3%) и *Klebsiella pneumoniae* (1,6%).

Основными видами бактерий, выделенными в молоке, отобранных на молочных фермах Америки от крупного рогатого скота с диагнозом мастит были *S. aureus* – 34,2%, *St. uberis* – 20,7%, *St. dysgalactiae* – 18,7%, *E. coli* – 17,6%, *K. pneumoniae* – 6,7% и *K. oxytoca* – 2,1% [Abdi Gillespie B. E., Ivey S., Pighetti G. M. et al, 2021].

Результаты показали, что наиболее распространенными изолятами бактерий в пробах молока, отобранных на территории Индии были *Staphylococcus spp.* – 34%, за которыми следовали *Escherichia coli* – 19%, *Streptococcus spp.* – 9% и *Klebsiella spp.* – 8%. Второстепенными бактериями, выделенными из образцов маститного молока, были *Salmonella spp.* – 2%, *Proteus spp.* – 1% и *Candida spp.* – 0,6% [Ali T., 2021].

Изоляты бактерий, выделенные от молочных коров на территории Занзибара, включали *Staphylococcus aureus* (36,8%), *Pseudomonas aeruginosa* (17,8%), *Staphylococcus epidermidis* (16,1%), *Klebsiella spp.* (9,5%), *Micrococcus spp.* (6,3%) и *Escherichia coli* (4,9%) [Suleiman T. S., Karimuribo E. D., Mdegela R. H., 2018].

В хозяйствах Вологодской области по данным ветеринарной статистики из числа культур, выделенных из молока больных коров, 23,2% приходилось на долю

*S. aureus*, 30,2% на коагулазоотрицательные стафилококки, стрептококки – 26,2%, энтеробактерии – 9,2% [Ремизова Е. В., 2021].

А. А. Шевченко с соавторами (2019) отметили, что «в последние годы в скотоводстве Краснодарского края все большее распространение получают так называемые факторные инфекционные болезни, в этиологии которых играют основную роль ассоциации условно-патогенных микроорганизмов *Esherichia coli* + *Streptococcus* spp., *Enterococcus* + *Staphylococcus* spp., *Esherichia coli* + *Streptococcus* spp.+ *Pseudomonas*».

И. С. Коба и Е. Н. Новикова (2017) при бактериологических исследованиях молока от коров с подтвержденным диагнозом мастит выделили следующую микрофлору: *S. aureus*, *Ent. agglomerans*, *Pr. mirabilis*, *S. scuri*, *Kl. rinoscleromatis*, *Kl. cryocrescens*, *Kl. pneumoniae* ssp. *ozaenae*, *Ent. aerogenes*, *Str. agalactiae*, *Sh. desinteriae*, патогенный гриб *C. albicans*. При этом они также, как и А. А. Шевченко (2019), отметили, что выделенная микрофлора представлена ассоциациями. В результате проведенных исследований М. В. Осколкова и К. А. Сидорова (2017) в Тюменской области в пробах молока выделили монокультуры *S. aureus*, *Str. ruogenes*.

При бактериологическом изучении молока от коров с диагнозом субклинический мастит А. Ю. Алиев (2019) отметил, что у 89% больных маститом коров преимущественно были выделены грамположительные кокки, а у 11% – кишечная палочка. Монокультура была выделена в 71,2% случаях, которая была представлена *S. aureus* – 24,6%, *E. coli* – 10,8%, *Str. agalactiae* – 20%, *S. intermedius* – 10,8, *S. haemoliticus* – 7,7%, *Str. dysagalactiae* – 6,1%. Смешанная микрофлора была изолирована из 20,0% проб.

В хозяйствах северо-западного региона по результатам исследования Э. Д. Шнейдер и С. А. Макавчик (2018) в молоке от маститных коров были выделены представители микоплазм – *M. bovis* и *M. bovigenitalium*.

О. А. Манжурина (2020) и соавторы исследовали молоко не только больных, но и здоровых коров и выделили 10 видов грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также грибы рода *Candida*. При исследовании

молока, взятого от клинически здоровых коров, эти микроорганизмы обнаружили в 75,5% случаев, от больных маститом коров – 98,7%.

Другим не мало важным фактором является механическое повреждение вымени и сосков (раны, ушибы, трещины кожи) и микротравмы, возникающие при нарушении технологии машинного доения. Установлено, что перепад вакуума во время доения провоцирует обратный ток молока, что способствует переносу инфекционного агента от пораженной доли к здоровой. На физиологичное функционирование молочной железы оказывает отрицательное влияние и передержка доильных стаканов на вымени и преждевременное подключение аппарата до вызова полноценного рефлекса молокоотдачи. Все вышеуказанные факторы нарушения технологии доения приводят к увеличению количества соматических клеток (СК) в том числе до 1 млн., а также развитию инфекционного процесса [Лучко И. Т., 2019].

К физическим и химическим факторам, непосредственно воздействующих на молочную железу, провоцирующим мастит, в первом случае, является действие низких и высоких температур (охлаждение, обморожение, ожог, повышенная влажность в помещениях при отсутствии подстилочного материала), во втором случае, раздражающие вещества (щелочи, кислоты, соли), а также токсические элементы, образующиеся при отравлениях [Парахин А. В., Корягина Ю. В., 2005; Осипова Н. И., 2007].

Немаловажным предрасполагающим фактором для возникновения и развития воспалительного процесса в молочной железе, по мнению И. Т. Лучко (2019), является нарушение условий содержания, а именно неудовлетворительный микроклимат в животноводческих помещениях, скученность и отсутствие активного моциона, а также скармливание недоброкачественных кормов (недостаточности в рационе энергии, протеина, сахара, крахмала, клетчатки, минеральных веществ и витаминов), резкий переход от одного корма к другому, в последствии приводит к интоксикации. Гинекологические заболевания (задержание последа, эндометриты), нарушения обмена веществ, гипо- и авитаминозы, неправильный запуск животных, в свою очередь, тоже приводят к



развитию мастита. При обследовании 1200 коров в одном из хозяйств было установлено, что в осенний период у 25% животных одновременно развивался мастит и болезни половых органов, к концу стойлового содержания значения по данному показателю значительно увеличивался до 44 – 50%. Основными возбудителями, выделенными из экссудата половых органов и молока, были *S. aureus* и *Str. agalactiae*. Таким образом, И. Т. Лучко (2019) сделал вывод, что развитие мастита происходит в 2,7 раза чаще в случае наличия патологий родовой деятельности, что подтверждает взаимосвязь наличия гинекологических заболеваний с частотой развития мастита. Другие ученые на основании проведенных исследований пришли к выводу, что в послеродовом периоде коровы переболевают одновременно маститом и эндометритом в 37,3% случаев, что зависит от продуктивности, возраста животного и сезона года. При скрытой форме мастита у коров одновременно регистрируют гипофункцию яичников в 40–45% случаев, эндометрит – в 10–15% и кисты яичников – в 8–12% и реже персистентное желтое тело.

Как показали исследования Осколковой М. В. (2014), в зимне-весенний период (декабрь – март) наблюдалась прямая взаимосвязь между возникновением мастита и гинекологическими заболеваниями.

Таким образом, основным этиологическим фактором развития мастита является инфицирование молочной железы *S. aureus*, *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli*, *St. agalactiae*, *St. uberis* и другими возбудителями. Предрасполагающими факторами является нарушение техники доения, гигиены, условий содержания, погрешности в кормлении, интоксикации; гинекологические заболевания, нарушения обмена веществ и нарушение сроков запуска животных.

### **1.3 Диагностика и фармакотерапия мастита коров**

Диагностика мастита является основным требованием молочной промышленности к качественному производству молока не только по

экономическим причинам и проблемам общественного здравоохранения, но и в отношении сохранности животных и их продуктивности. Диагностика должна быть ранней, быстрой и точной для профилактики мастита или раннего его выявления с целью лечения. Это предусматривает применение как обычных, так и современных диагностических тестов [Hussein H. A., Abd El-Razik K. A., Goma A. M. et al, 2018; Chakraborty S., Dhama K., Tiwari R. et al., 2019; Sharun K., 2021].

Лактирующих коров в хозяйстве обследуют на наличие субклинической формы мастита в качестве регулярного контроля – один раз в месяц, также за 10 – 14 дней до начала сухостойного периода, затем через 8-10 дней после отела и при комплектации стада новыми животными. Контроль эффективности терапии проводят через 10 дней после окончания курса лечения. При выявлении повышения количества соматических клеток в сборном молоке проводят обязательное обследование всего поголовья скота для выявления коров с субклинической формой мастита. Диагностику скрыто протекающих маститов проводят путем исследования молока на количество соматических клеток, с помощью экспресс-тестов – Мастидин, Кенотест, Соматик-эксперт, Кербо-тест, Калифорнийский маститный тест и др., которые основываются на выявлении увеличенного количества лейкоцитов и изменения рН молока. Также, используют лабораторные исследования, позволяющие оценивать физико-химические свойства молока, с помощью приборов – Саматос-М, Фоссоматик и др. [Кирсанов В. В., Милешина О. В., 2011; Лучко И. Т., 2019; Черненко В. В., Ткачев М. А., Черненко Ю. Н., 2019].

Черненко В.В. с соавт. (2019) провел исследования эффективности разных методов диагностики мастита у коров и установил, что использование диагностикума «Кенотест» позволило выявить 17 больных животных, «Масттест» – 12 и «Экотест» – 7, что показало соответственно 94,4; 66,6 и 38,9% диагностическую эффективность используемых тестов. Оценка физико-химических показателей при лабораторном исследовании молока позволяет выявить снижение белка, лактозы и сухого обезжиренного молочного остатка у коров с субклинической и клинической формой мастита относительно здоровых животных. По российскому стандарту ГОСТ Р 52054-2003 «Молоко натуральное

коровье – сырье. Технические условия» в молоке уровень содержания соматических клеток не должен превышать более 500 тыс./мл [Ларионов Г. А., Вязова Л. М., Дмитриева О. Н., 2015; Черненко В. В., Ткачев М. А., Черненко Ю. Н., 2019].

Помимо выше указанных методов диагностики многими учеными ведется разработка и оценка эффективности различных косвенных методов исследования. Например, термография позволяет выявить повышение температуры вымени при субклиническом мастите до 38,5 °С, а при клинической выраженной стадии до 39,6 °С и электропроводность молока, которая меняется в зависимости от дисперсности жира и белка. Перспективным направлением выявления молока с повышенным содержанием соматических клеток является установка в молочных шлангах оптических детекторов мастита типа Vision AMBIC, либо датчиков электропроводности молока, например, сигнализатора мастита в потоке типа «Экотест – 303П». Электропроводность молока здоровых коров в среднем составляет 6 – 6,5 мСм/см, при субклинических формах мастита это значение равно 8 мСм/см, а в клинических случаях достигает 9 – 10 мСм/см [Кирсанов В. В., Милешина О. В., 2011; Гируцкий И. И., Ракевич Ю. А., Сеньков А. Г., 2020; Лузова А. В., Степанова О. В., 2023].

Многими авторами отмечено, что лечение мастита преимущественно начинается после появления характерных симптомов, а именно увеличение поражённых долей вымени, болезненность при пальпации поражённых четвертей и соска, изменение органолептических свойств молока. Стоит отметить, что значительный ущерб здоровью и продуктивности животного наносит субклинический (скрытый) мастит, который остается незамеченным, так как не вызывает изменения в клиническом состоянии коровы, но может привести в итоге к полной атрофии поражённой доли вымени. Поэтому ранняя диагностика и своевременные лечебно-профилактические мероприятия позволяют значительно снизить уровень заболеваемости маститом в молочном стаде и в свою очередь избежать экономических потерь от данного заболевания [Черненко В. В., Ткачев М. А., Черненко Ю. Н., 2019].

Принцип терапии воспаления молочных желез основывается на комплексном применении этиотропных, патогенетических, симптоматических и саногенетических средств (схема 1), которые подробно рассматриваются в работе Л. М. Кашковской и М. И. Сафаровой (2014).

В качестве этиотропной терапии традиционно применяют противомикробные препараты: антибиотики, сульфаниламиды и нитрофураны, в связи с тем, что основной причиной воспаления молочных желез является размножение различных микроорганизмов (бактерий, микоплазм, вирусов и т.п.) как в отдельности, так и в ассоциациях на фоне снижения у животных общей и местной неспецифической резистентности с последующей интоксикацией организма.

В результате активного размножения бактериальной микрофлоры в очаге инфекции происходит формирование воспалительного процесса, требующего патогенетической терапии, которая способствует нормализации сложных нейрососудистых взаимоотношений и трофики в организме. С этой целью применяются глюкокортикоиды, ингибиторы циклооксигеназы (НПВС) или антигистаминные средства. Применение новокаиновых блокад демонстрирует свою эффективность в тех случаях, когда воспаление молочной железы не вызвало необратимых процессов: некрозов, гангрены, атрофии и индукции вымени [Кашковская Л. М., Сафарова М. И., Панков И. Ю., 2014].

В качестве симптоматической терапии используют противовоспалительные препараты, обладающие жаропонижающим и анальгезирующим действием.

Примером саногенетической терапии может быть применение различных методов и средств, активизирующих репаративные процессы и повышающих адаптивные и резистогенные возможности организма, а также восстанавливающие нарушенные метаболические, морфологические и физиологические процессы. Для этого могут быть использованы различные лекарственные средства: витамины, средства для нормализации обмена веществ и другие [Кашковская Л. М., Сафарова М. И., Панков И. Ю., 2014].

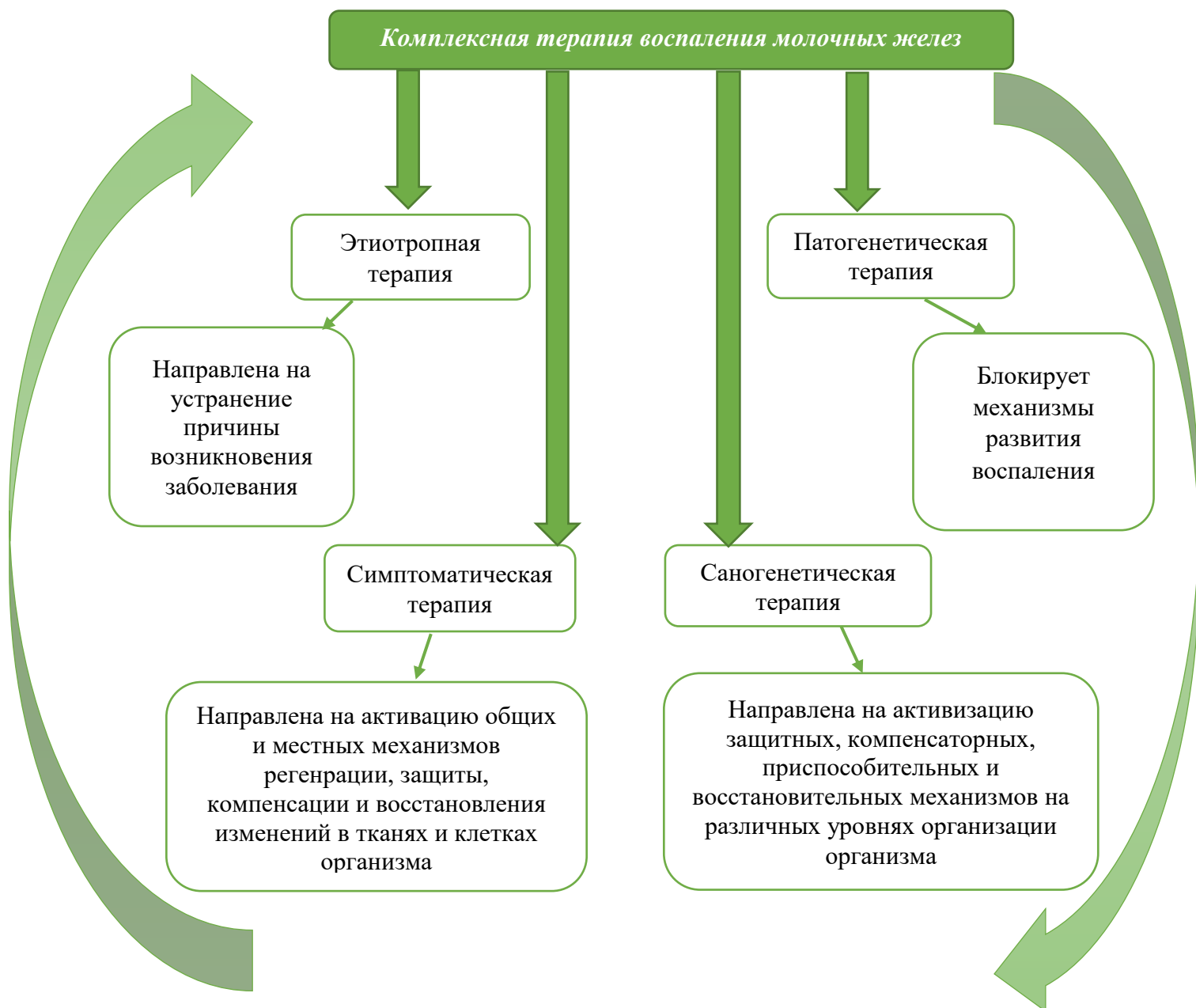


Схема 1 – Составляющие комплексной терапии воспаления молочных желез

Для комплексного воздействия на этиологический фактор развития воспаления молочной железы, ветеринарным специалистам необходимо использовать комбинации различных групп антибактериальных действующих веществ, обладающих синергизмом, учитывая широкое распространение резистентности к антибиотикам у бактериальных форм патогенов [Грабовский К. Ю., Сидорова К. А., 2023].

На данный момент Н. Т. Климов (2020) продемонстрировал, что для лечения мастита коров зарегистрировано более 30 препаратов, вводимых различными

путями как интрацестернально, так и инъекционно (внутримышечно, подкожно, внутривенно и т.д.). В качестве действующих веществ в них входят пенициллины (ампициллин, амоксициллин, бензилпенициллин, клоксациллин), цефалоспорины (цефкином, цефапирин, цефалексин), тетрациклины (тетрациклин, окситетрациклин, бацитрацин), аминогликозиды (гентамицин, клиндамицин, неомицин, колистин) и другие лекарственные средства (дегидрострептомицин, эритромицин, сульфамидин, сульфадимезин, клавулановая кислота), а также - преднизолон, дексаметазон или трипсин.

Наиболее часто используемая схема лечения лекарственными препаратами различных форм мастита представлена в таблице 1 [Климов Н.Т., 2020].

Таблица 1 – Схема применения антибактериальных лекарственных препаратов [Климов Н.Т., 2020]

Форма мастита		
Субклинический	Клинически выраженный	
	Без общей реакции организма	С общей реакцией организма (повышение температуры тела, отказ от корма)
Грамположительная микрофлора ( <i>S. aureus</i> , <i>Str. aagalactiae</i> )		
β-лактамы (и/ц)	β-лактамы (и/ц) и цефалоспорины (в/м)	β-лактамы (и/ц) и цефалоспорины (в/м) и НПВС/ГКС (в/м)
Грамотрицательная микрофлора, энтеробактерии		
Аминогликозиды (и/ц)	аминогликозиды (и/ц) и фторхинолоны (в/м)	аминогликозиды (и/ц) и фторхинолоны (в/м) и НПВС/ГКС (в/м)
Микоплазма		
Тетрациклины (и/ц)	Тетрациклины (и/ц) и тетрациклины или макролиды (в/м)	Тетрациклины (и/ц) и тетрациклины или макролиды (в/м) и НПВС/ГКС (в/м)

Примечание: и/ц – интрацестернальное; в/м – внутримышечное

Основу лечения субклинического мастита составляет преимущественно местное – интрацестернальное введение антибактериальных препаратов, в случае развития клинического мастита, сопровождающегося системным воспалением в организме животного, в схему лечения добавляют инъекционные антибактериальные препараты, а также симптоматическую терапию в виде противовоспалительных средств. Однако многие интрацестернальные препараты

имеют узкий спектр действия, а нарушение режима дозирования приводят к развитию резистентности к антибиотикам, что в свою очередь приводит к снижению эффективности терапии [Грабовский К. Ю., Сидорова К. А., 2023].

Несмотря на большое количество лекарственных средств, присутствующих на рынке, ветеринарные специалисты регулярно сталкиваются со снижением эффективности лечения, обусловленным в первую очередь выработкой механизмов устойчивости у патогенных микроорганизмов к действующим веществам. Поэтому для успешного лечения мастита необходим комплексный подход (системное и интрацистернальное применение антибактериальных препаратов), включающий использование лекарственных средств широкого спектра действия, а также их регулярная ротация с учетом высокой видовой чувствительности бактерий к антибиотикам [Алиев А. Ю., 2020; Люсин Е. А., 2021; Gomes F., Henriques M., 2016; Sharun K., 2021].

Подбор антибиотиков на основе определения чувствительности микроорганизмов к ним не гарантирует 100% эффективности при применении в ветеринарной практике лечения. Например, мастит, вызванный *S. aureus*, чувствителен к различным антибиотикам *in vitro*, но из-за образования биопленок и развития микроабсцессов, некоторые из антибиотиков становятся клинически неэффективными [Rainard P., Foucras G. A., 2018; Sharun K., 2021].

В множественных исследованиях ученые во всем мире доказывают развитие различной степени резистентности микроорганизмов к антибиотикам, выделенных из молока крупного рогатого скота с диагнозом мастит. Так, выделенные изоляты бактерий из маститного молока показали устойчивость к пенициллину, клиндамицину и цефотаксиму, другие к клоксациллину, тетрациклину, неомицину, гентамицину, ампициллину, цефтриаксону, цефотаксиму и цефтазидиму. Развитие резистентности обуславливает значительное снижение эффективности антибактериальной терапии в лечении мастита [Leon-Galvan M., Barboza-Corona J. E., Lechuga-Arana A. A. et al, 2015; Su Y., Yu C. Y., Tsai Y. et al, 2016; Shah M. S. Qureshi S., Kashoo Z. et al, 2019; Sharun K., 2021].

Исаченкова А. В. с соавт. (2023) провела сравнительную оценку антимикробной эффективности лечения коров, больных катаральным маститом, препаратами для интрацистернального введения Мاستицеф, Мастивет и Мамикур. Клинический эффект от ежедневного интрацистернального применения всех лекарственных препаратов был достигнут через 5 дней. Однако, антимикробная эффективность в отношении выделенных из молока возбудителей, оказалась разной. Наиболее эффективным по антибактериальному действию оказался препарат «Мамикур» (содержащий в качестве действующих веществ клоксациллин и неомидин, дексаметазон и трипсин), так как для полной санации вымени под влиянием препарата удалось добиться в отношении 5 микробов из 8 обнаруженных. Под влиянием препарата Мاستицеф (действующие вещества – цефалексин и гентамицин) полной санации вымени удалось добиться только в отношении *Str. uberis*. В отношении остальных 7 видов микробов антибактериальный эффект был недостаточным. Под влиянием препарата «Мастивет» (действующие вещества - неомидин и окситетрациклин, преднизолон) полной санации вымени под влиянием препарата не удалось добиться в отношении ни одного из 8 обнаруженных микробов. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости обращать особое внимание на максимально адекватный подход, включающий комплексные схемы терапии, обоснованный выбор лекарственных препаратов, с учетом чувствительности к ним микрофлоры, выделяемой у каждого животного в различных регионах.

Сидоренко И. П. (2021) проводила сравнительную оценку эффективности лечения катарального мастита у коров, вызванного *E. coli*, *S. aureus* и *Streptococcus spp.*, двумя препаратами для интрацистернального введения – Эроксимаст (содержащий в качестве действующих веществ эритромицин и окситетрациклин) и Канамикан – П (содержащий в качестве действующих веществ канамицин, бензилпенициллина прокаина и преднизолон). В результате исследования было установлено, что введение препарата Эроксимаст на 4 сутки терапии приводило к 100% терапевтическому эффекту, тогда как применение препарата Канамикан – П только к 80% эффективности лечения.



Иванюк В.П. с соавт. (2020) провел оценку эффективности лечения препаратами для интрацистернального введения Лактобай (содержащий в качестве действующих веществ ампициллин и клаксациллин) и Мастилекс (содержащий в качестве действующих веществ цефалексин и гентамицин) в отношении выделенных возбудителей (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, а также ассоциации микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* + *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* + *E. coli* + *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* + *E. coli* + *Enterococcus faecalis* + *Candida*, *E. coli* + *Enterococcus faecalis*) из молока коров с диагнозом мастит. Установлено, что терапевтическая эффективность применения Лактобая оказалась выше, чем при применении Мастилекса, и составила при катаральном мастите 94,7 %, при этом было излечено 93,1 % четвертей вымени. Применение Мастилекса привело к выздоровлению 89,5 % коров, больных катаральным маститом, при этом излечено 85,7 % четвертей вымени. Необходимо отметить, что длительность лечения животных до их клинического выздоровления составляла в среднем 5,5 суток с использованием Мастилекса и 4,5 суток – Лактобая.

Многими учеными проводились исследования по оценке эффективности лечения мастита коров местными лекарственными антибактериальными препаратами, представленными на российском рынке. Так, например, препарат для интрацистернального введения Мастьет Форте содержащий в качестве действующих веществ тетрациклин, неомицин, бацитрацин и преднизолон, показал свою высокую терапевтическую эффективность в лечении субклинической и клинической формы мастита коров. Комбинация антибиотиков в составе препарата и преднизолона, позволяет максимально снизить воспалительную реакцию и отечность тканей вымени, сокращая сроки выздоровления коров до 4-5 дней [Николаева О. Н., Кочетовский Д. С., 2021; Муллаярова И. Р., Николаева О. Н., Рязанов М. М. и др., 2022].

Гамаюнов В.М. (2016) провел сравнительную оценку комбинированных интрацистернальных препаратов Ваккамаст и Гамарет в лечении серозно-

катарального мастита коров. Ваккамаст в качестве действующих веществ содержит диоксидин, линкомицин гидрохлорид и преднизолон, а Гамарет – новобиоцин натрия, неомицин сульфата, прокаин пенициллина, дегидрострептомицин сульфата и преднизолон. Оба лекарственных препарата по результатам исследований являются эффективными препаратами в лечение мастита коров. Однако интрацистернальное введение препарата Ваккамаст сокращает сроки выздоровления до 3 дней, тогда как Гамарет только до 5 суток.

Похожие результаты были получены в исследовании Сулейманова С.М. с соавт., 2021, в котором сравнивали эффективность лечения серозно-катарального мастита коров препаратами Ваккамаст и Прималакт (содержащий в качестве действующих веществ цефотаксим натрия, неомицин сульфат, преднизолон). Применения препарата Ваккамаст сокращает сроки выздоровления коров в 1,5-2 раза относительно препарата Прималакт. Стоит отметить, что в исследовании Лозовой Е.Г. эффективность лечения субклинического мастита препаратом Ваккамаст составила 85% в сравнении с препаратом Мультиджект IMM (в качестве действующих веществ содержит пенициллин прокаин, дегидрострептомицин сульфат, неомицин сульфат и преднизолон) – 100%.

Препарат для интрацистернального введения на основе амоксициллина и клавулановой кислоты (Байоклав IMM LC) в качестве монотерапии показал низкую эффективность в лечении катарального мастита коров, а восстановление продуктивности животных составило только 23% [Лозовая Е. Г., Стрельникова Е. Н., 2021].

Шабунин С.В. (2009) в своем исследовании показал, что применение Эроксимаста коровам при субклиническом мастите способствовало выздоровлению 94,7% больных, при серозном – 85,7%, при катаральном – 76,9% и гнойно-катаральном мастите – 69,5%, тогда как при лечении Мастисаном Б – 80,8; 66,6; 66,7 и 52,2 % соответственно. Эти данные свидетельствуют о высоком терапевтическом эффекте Эроксимаста в лечении мастита коров, но в тоже время демонстрируют, что при клинических маститах эффективность только лишь

местной (интрацистернальной) терапии для обоих препаратов значительно уменьшается.

Ветеринарные специалисты, по мнению К. Ю. Грабовского и К. А. Сидоровой (2023), для комплексного воздействия на бактериальную микрофлору, чаще всего используют разные группы действующих веществ и разные способы введения, влияя на этиологическую и патогенетическую причину развития мастита. Широко распространённым лекарственным средством при лечении мастита является Кобактан 2,5% в различных лекарственных формах (содержащий в качестве действующего вещества – цефкинома сульфат). При клинически вяло протекающем мастите одной четверти исследователями рекомендовано использовать 1 шприц в поражённую долю с интервалом 12 – 21 час не менее чем 3 раза. Помимо введения Кобактана LC при хронической форме авторы упоминают о необходимости наружной обработки долей вымени согревающими мазями. Инъекционную форму препарата Кобактана 2,5% применяют в случае острого течения мастита, а также добавляют НПВС с целью снижения воспалительной реакции.

Комплексное лечение фибринозного мастита коров продемонстрировала Муллаярова И. Р., 2021 в своем исследовании (таблица 2). Так, коровы с подтвержденным диагнозом мастит были разделены на 4 группы, которым применяли антибактериальные препараты системно (внутримышечно) и местно (интрацистернально) по следующей схеме:

Таблица 2 – Схема введения лекарственных препаратов в качестве комплексной терапии фибринозного мастита коров

№ группы	Препарат для интрацистернального применения	Доза, кратность и длительность применения	Препарат для внутримышечного применения	Доза, кратность и длительность применения
1	Кобактан LC	по 1 шприцу (8 г) трёхкратно с интервалом в 12 ч	Амоксициллин 150	в дозе 1 мл/10 кг двукратно с интервалом 12 ч
2	Синулокс LC	по 2 шприца (3 г) трёхкратно с интервалом 12 ч	Амоксициллин 150	в дозе 1 мл/10 кг двукратно с интервалом 12 ч
3	Маститет форте	по 1 шприцу (8 гр.) 3-4-кратно с интервалом 12 ч	Нитокс 200	в дозе 1 мл/10 кг двукратно с интервалом в 72 ч
4	Мамикур	по 1 шприцу трёхкратно с интервалом 12 ч	Пенстреп	в дозе 1 мл/10 кг с интервалом сутки в течение 5 дней

В результате проеденного исследования было подтверждено, что комплексное лечение во всех 4 опытных группах позволило добиться выздоровления у 100% животных. Однако, автором не были указаны сроки выздоровления коров, получавших антибактериальную терапию.

Также, важным аспектом при выборе лечения является не только терапевтическая, но и экономическая эффективность. Так, Павлюк А.А. с соавт. (2022) в условиях ООО «Сибирская Нива» оценили экономическую эффективность 4 схем лечения (как монотерапию, так и комплексную) мастита с помощью интрацистернальных антибактериальных препаратов (таблица 3).

Таблица 3 – Экономическая эффективность различных схем терапии мастита коров антибактериальными препаратами [Павлюк А. А., Иванова А. С., 2022]

Препарат	Режим дозирования	Фарм.группа	Стоимость
Схема №1			
Кобактан 2,5 %	20 мл/гол 4 дня в/м	цефалоспорины	100 мл ~ 3000 руб.
Кобактан LC	1 шприц 1 раз в сутки 4 дня и/ц	цефалоспорины	1 шприц 290 руб.

## Продолжение таблицы 3

Препарат	Режим дозирования	Фарм.группа	Стоимость
Флунексин	20 мл в/м 3 дня	НПВС	цена за 100 мл – 1000 рублей
Схема №2			
Синулокс	2 шприца и/ц 1 раз в сутки 3 дня	пенициллины	1 шприц – 144 руб.
Флунексин	20 мл в/м 3 дня	НПВС	100 мл – 1000 руб.
Схема №3			
Мастьет форте	1 шприц и/ц 1 раз в сутки 3 дня подряд	Комбинирован. антибактериальный препарат	1 шприц – 261 руб.
Флунексин	20 мл в/м 3 дня	НПВС	100 мл – 1000 руб.
Схема №4			
Гамарет	1 шприц и/ц 1 раз в сутки 4 дня	Комбинирован. антибактериальный препарат	1 шприц – 166 руб.
Марбокс	30 мл п/к 4 дня	фторхинолоны	100 мл – 3450 руб.
Флунексин	20 мл в/м 3 дня	НПВС	100 мл – 1000 руб.

Примечания: и/ц – интрацистернально, в/м – внутримышечно, п/к – подкожно

Если анализировать экономическую стоимость лечения мастита, то выгоднее всего использовать схему №2, в которой основным средством терапии является интрацистернальный препарат на основе пенициллина или схему №3, содержащую комбинированный антибактериальный препарат также для интрацистернального введения. Преимущество данных препаратов заключалось в более быстром наступлении терапевтического эффекта в среднем на 3 сутки, относительно других препаратов. Однако всегда стоит учитывать характер воспаления молочной железы и вид возбудителя, который его вызвал.

Также, в литературе продемонстрирован интересный способ лечения субклинического мастита коров, которым является наружное нанесение гелеобразного препарата 2 раза в сутки в течение 3-5 дней. Гелеобразный препарат представляет собой смесь действующих веществ: димексид 2-5 мас.%, камедь ксантановую 1-3 мас.%, хелатное соединение цинка 8-9 мас.%, эфирное масло ванили 0,2-0,4 мас.%, вазелин 5-15 мас.% и деионизированную воду. Заявлено, что данное изобретение обеспечивает повышение эффективности лечения субклинического мастита за счет усиления противовоспалительного,

антибактериального и фунгицидного действий [Патент № 2713927 С1 Рос. Федерация].

Учеными был предложен альтернативный метод лечения субклинического мастита коров, который состоит из комплекса препаратов арговит, димексид в виде 10% и 5% водных растворов [Нефедова Е. В., 2021].

В литературе имеются сведения о иных методах лечения мастита коров, например, фитоакупунктурой, электропунктурой, электромагнитным полем УВЧ, низкоэнергетическим излучением с помощью лазерного аппарата «Орион-МВ» и магнитно – инфракрасно-лазерного аппарата Милта-М.В. [Балковой И. И., Иноземцев В. П., Самоделкин А. Г., 1993; Фисенкова И. В., 1997; Балковой И. И., Иноземцев В. П., Нежданов А. Г., 2000; Гавриш В. Г., 2000; Чучин В. Н., Чжень-Цзю, 2002; Казеев Г. В., Балковой И. И., Миронов В. Н., 2002; Ливерко Н. В., Калюжный И. И., Авдеенко В. С., 2003; Парахин А. В., Корягина Ю. В., 2005; Барышев В. А., 2017].

В качестве комплексной терапии мастита коров на данный момент широкое распространение получили иммуностимулирующие средства. Интрацистернальное введение препарата аminosелтон, в сочетании с внутримышечным его введением в дозе 2,5 мл, а также дополнительного внутримышечного введения бычьих рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов в дозе 7,5 мл на животное, дополняют антибактериальную терапию. По мнению исследователей, данная комбинация обеспечивает сокращение сроков лечения мастита у лактирующих коров [Климов Н. Т., 2019; Зимников В. И., Павленко О. Б., Чусова Г. Г. и др., 2022; Зимников В. И., 2022; Патент № 2756125 С1 Рос. Федерация]. Михайлов А.А. с соавт. (2021) рекомендуют к антибактериальной терапии субклинического мастита коров включать иммуностимулирующий препарат Миксоферон каждые 12 часов в течении 3 суток.

Таким образом, анализ обзора литературы, демонстрирует необходимость комплексного подхода к лечению мастита коров, направленного не только на этиопатогенетическую терапию, но и на симптоматическую и саногенетическую. Стоит отметить, что наиболее эффективными и перспективными лекарственными

средствами являются комбинированные антибактериальные препараты для интрацестерального (интрамаммарного введения), содержащие в качестве действующих веществ различные группы антибиотиков, а также противовоспалительные компоненты, преимущество из группы глюкокортикостероидов (ГКС). Комбинированные антибактериальные препараты обладают более выраженной терапевтической эффективностью, а введение противовоспалительного компонента обеспечивает местное воздействие на пораженные ткани, тем самым сокращая сроки выздоровления и восстановления продуктивности животного.

#### 1.4 Фармакодинамика действующих веществ препарата Мاستигард

Оценка фармакодинамических свойств, в т.ч. механизма действия и антибактериальной активности, предполагаемых действующих веществ препарата Мастигард (левофлоксацин, нозигептид), а также противовоспалительного компонента (преднизолон) на основе литературных данных, позволило спрогнозировать возможный терапевтический эффект при применении в клинической ветеринарной практике.

Левифлоксацин гемигидрат (рисунок 4), входящий в состав препарата, активен в отношении большинства штаммов микроорганизмов, как в условиях *in vitro*, так и *in vivo* [Davis R., Bryson H. M., 1994; Sitovs A., Sartini I., Giorgi M, 2021].

Чувствительные микроорганизмы (МПК  $\leq 2$  мг/л; зона ингибирования  $>17$  мм):

– аэробные грамположительные микроорганизмы: *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus* spp. (в т.ч. *Enterococcus faecalis*), *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus coagulase-negative*, *Staphylococcus aureus* methi-S (метициллин-чувствительные), *Staphylococcus epidermidis* methi-S (метициллин-чувствительные), *Staphylococcus* spp. CNS (коагулазонегативные), *Streptococci* группы С и G, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*;

– аэробные грамотрицательные микроорганизмы: *Acinetobacter* spp. (в т.ч. *Acinetobacter baumannii*), *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Citrobacter freundii*, *Eikenella corrodens*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter* spp. (в т.ч. *Enterobacter cloacae*), *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus ducreyi*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenza*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella* spp. (в т.ч. *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*), *Moraxella catarrhalis*  $\beta$ +/ $\beta$ - (продуцирующие и не продуцирующие бета-лактамазы), *Morganella morganii*, *Neisseria meningitidis*, *Pasteurella* spp. (в т.ч. *Pasteurella multocida*, *Pasteurella dagmatis*, *Pasteurella canis*, *Pasteurella canis*), *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia* spp. (в т.ч. *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*), *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp., *Serratia* spp. (в т.ч. *Serratia marcescens*);

– анаэробные микроорганизмы: *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacterium* spp., *Clostridium perfringens*, *Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium* spp., *Veillonella* spp.;

– другие микроорганизмы: *Bartonella* spp., *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia trachomatis*, *Legionella pneumophila*, *Legionella* spp., *Mycobacterium* spp. (в т.ч. *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium tuberculosis*), *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Rickettsia* spp., *Ureaplasma urealyticum*.

Умеренно чувствительные микроорганизмы (МПК = 4 мг/л; зона ингибирования 16-14 мм):

– аэробные грамположительные микроорганизмы: *Corynebacterium urealyticum*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus epidermidis methi-R* (метициллин-резистентные), *Staphylococcus haemolyticus methi-R* (метициллин-резистентные);

– аэробные грамотрицательные микроорганизмы: *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*;

– анаэробные микроорганизмы: *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp.  
Резистентные к левофлоксацину микроорганизмы (МПК  $\geq$  8 мг/л; зона ингибирования <13 мм):



- аэробные грамположительные микроорганизмы: *Staphylococcus aureus* methi-R (метициллин-резистентные), *Staphylococcus coagulase-negative* methi-R (коагулазонегативные метициллин-резистентные), *Corynebacterium jeikeium*;
- аэробные грамотрицательные микроорганизмы: *Alcaligenes xylosoxidans*;
- анаэробные микроорганизмы: *Bacteroides thetaiotaomicron*;
- другие микроорганизмы: *Mycobacterium avium* [Gary J., Noel A., 2009; Инструкция препарат Таваник, <https://medum.ru/tavanik>]

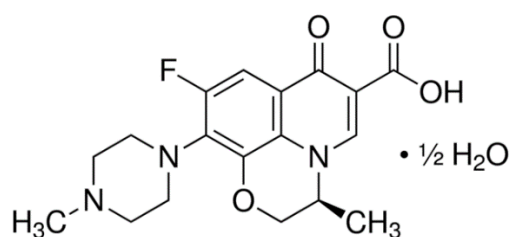


Рисунок 4 - Структурная формула левофлоксацина гемигидрат [Sitovs A., Sartini I., Giorgi M., 2021].

Механизм действия левофлоксацина связан с воздействием на бактериальные топоизомеразы – топоизомераза IV и ДНК–гираза. Данные топоизомеразы являются ферментами, осуществляющие изменение пространственной конфигурации молекулы ДНК на различных этапах ее репликации. Каждый из ферментов состоит из четырех субъединиц. Так, ДНК–гираза состоит из двух субъединиц *gyrA* и двух субъединиц *gyrB* (соответствующие гены *gyrA* и *gyrB*). Топоизомераза IV – из субъединиц *parC* и *parE* (соответствующие гены *parC* и *parE*). Гены обоих ферментов локализованы на бактериальной хромосоме, которые выполняя свои функции в молекулу ДНК вводят виток отрицательной суперспирализации и снимают топологическое напряжение, возникающее впереди движущейся репликационной вилки (рисунок 5) [Pan X., Fisher L. M., 1999; Onodera Y., Uchida Y., Tanaka M. et al, 1999; Morrissey I., George J. T., 2000; Yamada H., Hisada H., Mitsuyama M. et al, 2000; Heaton V. J., Ambler J. E., Fisher L. M., 2000; Pestova E., Millichap J. J., Noskin G. A. et al, 2000; Bush K., Goldschmidt R., 2000; Alovero F. L., Pan X., Morris J. E. et al, 2000; Fukuda H., Kishii R., Takei M. et al, 2001; Heddle J., Maxwell A., 2002].

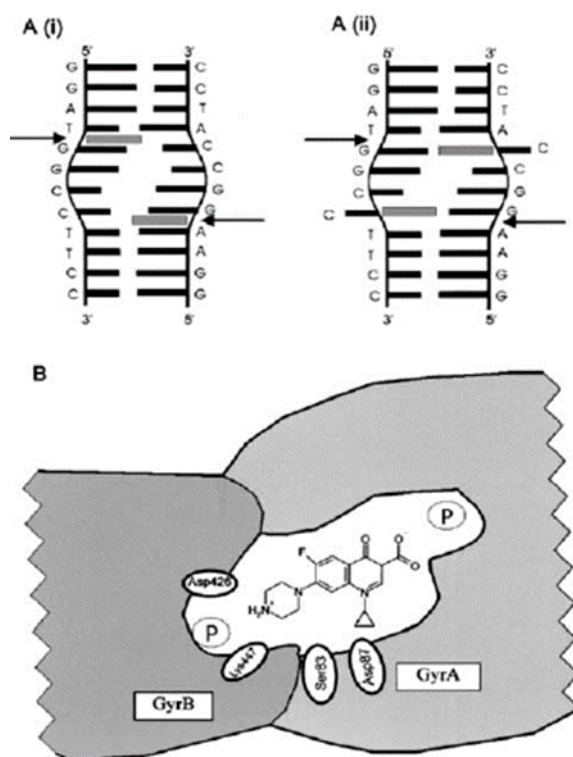


Рисунок 5 – Модель хинолонового кармана [Heddle J. et al., 2002].

А) Взаимодействие с молекулой ДНК, находящейся в активном центре фермента. Участки разрыва двойной спирали отмечены стрелками. Действующее вещество представлено в виде серых прямоугольников. Предполагаемые варианты: А(i) – встраивание молекулы между нуклеотидами; А(ii) – вытеснение цитозина. В) Хинолоновый карман в молекуле ДНК-гиразы. Нити ДНК отмечены. Ось ДНК перпендикулярна к плану рисунка. Выделены аминокислотные остатки в субъединицах А и В, критичные для взаимодействия с молекулой хинолона

Фторхинолоны, обладая низкой аффинностью к свободным молекулам топоизомеразы или ДНК, проявляют высокое сродство к комплексу ДНК–фермент. Участок связывания хинолонов с комплексом ДНК – фермент получил название «хинолоновый кармана». Необходимо подчеркнуть, что в формировании «хинолонового кармана» принимают участие все субъединицы фермента молекулы ДНК. После попадания хинолона в карман продвижение ДНК–гиразы вдоль молекулы останавливается, а затем останавливается и продвижение репликационной вилки. В результате происходит остановка всего процесса репликации. Кроме остановки процесса репликации в силу не совсем ясного механизма происходит образование разрывов двухцепочечной молекулы ДНК, именно с образованием разрывов связывают бактерицидный эффект хинолонов.

Основным механизмом устойчивости к хинолонам является снижение аффинности препаратов к комплексу ДНК–фермент, которая происходит в результате спонтанных мутаций, приводящих к аминокислотным заменам в полипептидных цепях ДНК–гиразы или топоизомеразы IV. Для снижения аффинности к хинолонам значение имеют лишь мутации, возникающие на участках полипептидных цепей, входящих в состав хинолонового кармана. На фоне воздействия фторхинолонов *in vitro* или *in vivo* происходит лишь селекция устойчивых микроорганизмов в результате подавления размножения чувствительных. Из этого следует, что выживание мутантных штаммов возможно лишь в том случае, если уровень приобретенной резистентности окажется выше той концентрации препарата, на фоне которой велась селекция. Соответственно, чем выше концентрация препарата, при которой ведется селекция, тем менее вероятно формирование устойчивости. При определенных концентрациях хинолонов, селекции устойчивых мутантов вообще не происходит. Такие концентрации получили название «концентрации, предотвращающие мутации» (mutation prevention concentration – МПК).

Поскольку топоизомеразы выполняют различные функции, то для подавления жизнедеятельности микробной клетки достаточно ингибировать активность только одного фермента, активность второго может сохраняться. Эта особенность объясняет тот факт, что для всех хинолоновых препаратов можно выделить первичную и вторичную мишень действия. Первичной мишенью является тот фермент, к которому данный хинолон проявляет наибольшее сродство.

У грамотрицательных бактерий наибольшее сродство хинолоны проявляют к ДНК–гиразе, благодаря чему именно этот фермент является первичной мишенью их действия. У грамположительных ситуация менее однозначная из–за существенных противоречий между результатами, получаемыми биохимическими и генетическими методами. С помощью биохимических методов было установлено, что для большинства хинолонов первичной мишенью действия является топоизомераза IV, а также, что левофлоксацин, ситафлоксацин и клинафлоксацин обладают приблизительно одинаковой аффинностью к обоим

ферментам [Pan X., Fisher L. M., 1999; Onodera Y., Uchida Y., Tanaka M., 1999; Morrissey I., George J. T., 2000; Yamada H., Hisada H., Mitsuyama M., 2000; Heaton V. J., Ambler J. E., Fisher L. M., 2000; Pestova E., Millichap J. J., Noskin G. A., 2000; Bush K., Goldschmidt R., 2000; Alovero F. L., Pan X., Morris J. E., 2000; Fukuda H., Kishii R., Takei M. et al, 2001; Heddle J., Maxwell A., 2002]

Способность уничтожать возбудителей заболеваний, находящихся внутри клеток организма, является важным достоинством левофлоксацина. При этом препарат хорошо проникает в органы и ткани. Так, если концентрация  $\beta$ -лактамов и аминогликозидов в тканях дыхательных путей составляет 60–70% от их концентрации в плазме, то концентрация левофлоксацина и макролидов в этих тканях значительно превышает плазменные [Березняков И. Г., 2004].

Важно отметить, что действие левофлоксацина направлено на уничтожение возбудителей с минимальным высвобождением продуктов распада бактериальных клеток. Так, обильное высвобождение липополисахарида – эндотоксина, обладающего способностью стимулировать образование провоспалительных цитокинов из погибших бактерий может привести к развитию серьезных осложнений, вплоть до септического шока. Кроме того, некоторые компоненты клеточной стенки грамположительных бактерий, например, тейхоевые или потейхоевые кислоты, также индуцируют образование провоспалительных цитокинов, что сказывается на длительности сохранения симптомов заболевания. При этом применение  $\beta$ -лактамных антибиотиков вызывает обширную дезинтеграцию и разрывы клеточной стенки бактерий, приводя к высвобождению указанных кислот или липополисахарида. Уникальный механизм действия левофлоксацина, опосредуемый нарушением синтеза ДНК в микробной клетке, способствует значительно меньшему высвобождению эндотоксинов, чем после применения  $\beta$ -лактамных антибиотиков [Давыдов Ю. В., Лиманская А. Ю., 2015; Prins J.M., S. J. van Deventer, Kuijper E. J, 1994; Lynch J. P., File T. M., Zhanel G. G., 2006].

Левофлоксацин, как и другие фторхинолоны, активно проникает в фагоцитарные клетки *in vitro*, что имеет важное значение для активности против

внутриклеточных патогенов. Значительное накопление левофлоксацина в фагоцитарных клетках, а также в других тканях объясняет наблюдаемый высокий объем распределения. Среднее соотношение внутриклеточной/внеклеточной концентраций левофлоксацина в нейтрофилах колебалось от 8,8 до 9,8 мг/л. Другие фторхинолоны показывают аналогичные высокие внутриклеточные/внеклеточные концентрации в макрофагах. Для фторхинолонов накопление в фагоцитарных клетках происходит за счет повышения их концентрации в месте инфекции с помощью механизмов фагоцитарной доставки, включающие хемотаксис и миграцию фагоцитов, что аналогично антибиотикам группы макролидов. Накопление левофлоксацина и других фторхинолонов в фагоцитарных клетках может усиливать не только их активность против внутриклеточных патогенов, но и их активность против внеклеточных патогенов за счет поддержания постоянно высоких концентраций лекарственного средства в тканях и жидкостях в месте инфекции [Nozaki-Renard J., Lino T., Sato Y., 1990; Pascual A., Garcia I., Perea E. J., 1990; Pascual A., Garcia I., Conejo M. C., 1991; Gaja M., Higa F., Yamashiro T. et al, 1992; Perea E. J., Garcia I., Pascual A., 1992; Taira K., Koga H., Kohno S., 1993; Carbon C., 1995].

Преимущество применения левофлоксацина обусловлено особенностью его фармакокинетики и фармакодинамики. Как уже говорилось выше, левофлоксацин обладает в корне отличным от антибиотиков других групп принципом действия—блокирование механизмов репликации, транскрипции и рекомбинации ДНК микроорганизма. Это обуславливает результативность применения левофлоксацина при заболеваниях, вызванных устойчивыми, в том числе полирезистентными штаммами возбудителей. Ингибирование активности топоизомеразы IV (свойство, присущее фторхинолонам последних поколений) определяет высокую эффективность препаратов этой группы при различных инфекциях.

Левофлоксацин оказывает быстрое бактерицидное действие в отношении большинства чувствительных патогенных микроорганизмов (как грамотрицательных, так и грамположительных), что обеспечивает высокую

эффективность терапии заболеваний любой степени тяжести. Кроме того, левофлоксацин демонстрирует активность в отношении атипичных микроорганизмов (хламидии, микоплазмы, легионеллы), за счет своего внутриклеточного проникновения (например, макрофаги) в место локализации возбудителя. Поскольку левофлоксацин проявляет высокую антибактериальную активность в отношении широкого спектра возбудителей, в том числе и внутриклеточных, его применение в антибактериальной терапии животных имеет особое значение [Березняков И. Г., 2009; Tulkens P.M., 1991].

Нозигептид (рисунок 6), входящий в состав препарата Мастигард, относится к антибиотикам из группы полипептидных антибиотиков группы тиопептидов, который оказывает антимикробное действие на грамположительные микроорганизмы, включая *Clostridium perfringens*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. В настоящее время штаммов микроорганизмов, с приобретенной резистентностью к нозигептиду, не выделено [Haste Nina M., et al, 2012].

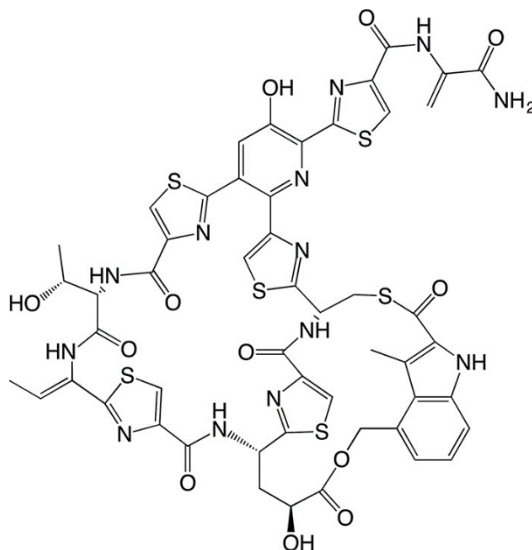


Рисунок 6 – Структурная формула нозигептида

Механизм антибиотического действия нозигептида состоит в нарушении бактериального синтеза белка. Препарат подавляет функции факторов элонгации Tu и G и в ответ на стрингент-фактор значительно снижает синтез гуанозин пента- и тетрафосфатов. Это включает специфичное пентозо-метилирование 23s

рибосомы. Нозигептид действует на 50s рибосомные субъединицы и связывает комплекс 23s р-РНК с рибосомальным белком L 11.

Нозигептид связывается с субъединицей 50s рибосомы и ингибирует гидролиз GTP с помощью фактора элонгации G (EF-G), ингибируя рибосомную транслокацию и элонгацию. Механизм, используемый нозигептидом продуцирует *Streptomyces actuosus* для самозащиты от антибиотиков через 2'-O- метилирование положения A1067 в спирали 43 (H43) 23S рРНК. Структурный анализ рибосом с нозигептидной связью показывает, что он связывается близко к 2'-O-положению A1067, таким образом, метилирование A1067 блокирует тиазол-связывание. Через метилирование в A1067 23S рРНК нозигептид-резистентной метилтрансферазы, рибосома *S. actuosus* становится со встроенной защитой. Специфичное метилирование по A1067 в 23S рРНК происходит между нуклеотидами 1051-1108 в области рРНК, которая может складываться независимо, являясь сайтом связывания для белка рибосомы L11, и эффективным субстратом для тиазол-резистентной метилтрансферазы [Яковлев В. П., 2010; Fish D. N., et al. 1997; Rodnina M. V. Et al, 1999, Cameron, D. M., et al, 2002, Jonker H. R. et al, 2007]

Важно отметить, что активность нозигептида была также отмечена в отношении патогена *C. difficile*, что особенно важно, поскольку FDA одобрило только один новый препарат (Фидаксомицин) для лечения *C. difficile* за последние два десятилетия [Wimberly B. T., Guymon R., McCutcheon J. P. et al, 1999].

Нозигептид проявляет выраженную активность в отношении всех современных протестированных штаммов MRSA и MSSA, включая клинические изоляты с множественной лекарственной устойчивостью, со значениями MIC ~ 0,25 мг/л. Примечательно, что клинические изоляты MRSA, ранее продемонстрировавшие развитие резистентности к таким антибиотикам, как даптомицин, линезолид и ванкомицин, оставались высокочувствительными к нозигептиду. Нозигептид также высоко активен в отношении *Enterococcus spp.* и грамотрицательный патоген *Moraxella catarrhalis* [Haste N. M. et al., 2012].

Отмечается, что нозигептид также используется в качестве кормовой добавки, стимулирующей рост. Он ингибирует рост вредных бактерий и

восстанавливает функцию абсорбции кишечной стенки, способствуя росту животных и повышая эффективность кормления за счет лучшего усвоения корма. При этом, сообщается, что он практически не всасывается из пищеварительного тракта и почти полностью выводится с калом [Benazet F., Cartier J. R., 1980].

Преднизолон натрия фосфат (рисунок 7), входящий в состав препарата Мاستигард, является синтетическим глюкокортикостероидом метаболизирующимся в организме, оказывая противовоспалительное, противоаллергическое и противоотечное действие. Механизм действия гормона заключается в блокировании высвобождения эозинофилами медиаторов воспаления, в том числе простагландинов, которые потенцируют воспалительный процесс, а также в стимуляции биосинтеза липокортинов, обладающих противоотечной активностью и в уменьшении проницаемости капилляров и количества тучных клеток, вырабатывающих гиалуроновую кислоту [Axelrod L., 1993; Savu S. R., Silvestro L., Haag A., 1996; Antignac J. P., Le Bizec B., Monteau F., 2001; Courtheyn D., Le Bizec B., Brambilla G., 2002; Deventer K., Delbeke F. T., 2003; Преднизолон, <https://www.rlsnet.ru>; Summary report Prednisolone, <https://www.ema.europa.eu>].

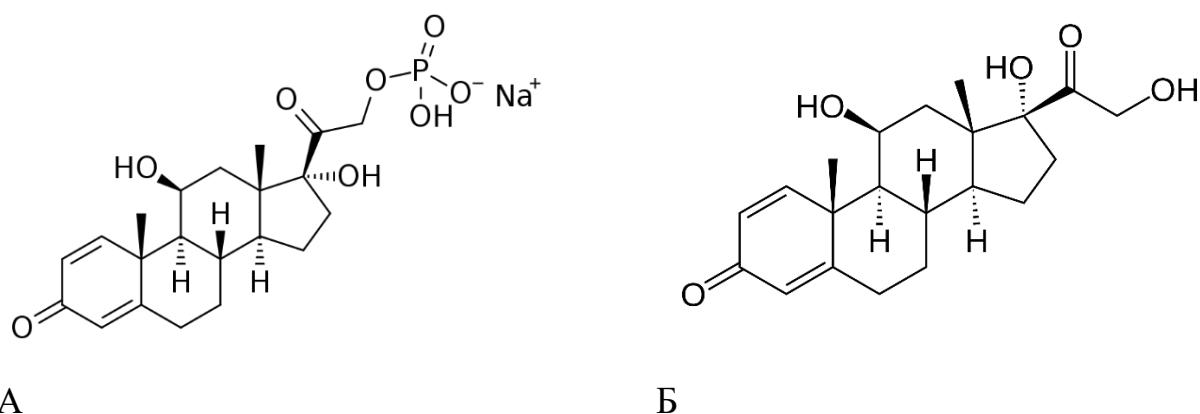


Рисунок 7 – Структурная формула преднизолон натрия фосфата (А) и преднизолон (Б)

Однако, механизм действия глюкокортикоидов на молекулярном уровне до конца не выяснен. Считают, что действие глюкокортикоидов на клетки-мишени осуществляется, главным образом, на уровне регуляции транскрипции генов. [Доровских В.А., 2006].



После проникновения через мембрану внутрь клетки глюкокортикоиды связываются с рецепторами, что приводит к активации комплекса белков теплового шока. В результате этого рецепторный белок, входящий в комплекс в виде мономера, приобретает способность димеризоваться. Вслед за этим образовавшиеся комплексы «глюкокортикоид + рецептор» транспортируются в ядро, где взаимодействуют с участками ДНК, расположенными в промоторном фрагменте стероид-отвечающего гена – глюкокортикоид-отвечающими элементами (GRE) и регулируют (активируют или подавляют) процесс транскрипции определенных генов (геномный эффект). Это приводит к стимуляции или супрессии образования м-РНК и изменению синтеза различных регуляторных белков и ферментов, опосредующих клеточные эффекты [Преднизолон, <https://www.rlsnet.ru>; Summary report Prednisolone, <https://www.ema.europa.eu>].

Исследования последних лет показывают, что ГК-рецепторы взаимодействуют, кроме GRE, с различными факторами транскрипции, такими как активаторный белок (AP-1), ядерный фактор каппа В (NF- $\kappa$ B) и др. Показано, что ядерные факторы AP-1 и NF- $\kappa$ B являются регуляторами нескольких генов, принимающих участие в иммунном ответе и воспалении, включая гены цитокинов, молекул адгезии, протеиназ и др. Кроме того, недавно открыт еще один механизм действия глюкокортикоидов, связанный с влиянием на транскрипционную активацию цитоплазматического ингибитора NF- $\kappa$ B — I $\kappa$ B $\alpha$  [Преднизолон, <https://www.rlsnet.ru>; Summary report Prednisolone, <https://www.ema.europa.eu>].

Однако, ряд эффектов глюкокортикоидов (например, быстрое ингибирование секреции АКТГ) вероятно связаны с опосредованными нетранскрипторными механизмами, либо взаимодействием с рецепторами на плазматической мембране. Полагают также, что эффекты глюкокортикоидов могут реализовываться на разных уровнях в зависимости от дозы. Например, при низких концентрациях глюкокортикоидов (>10-12 моль/л) проявляются геномные эффекты (для их развития требуется более 30 мин), при

высоких — вне геномные [Преднизолон, <https://www.rlsnet.ru>; Summary report Prednisolone, <https://www.ema.europa.eu>].

Глюкокортикоиды вызывают множество эффектов, т.к. оказывают влияние на большинство клеток организма. Они обладают противовоспалительным, десенсибилизирующим, противоаллергическим и иммунодепрессивным действием, противошоковыми и антитоксическими свойствами.

Противовоспалительное действие глюкокортикоидов обусловлено многими факторами, ведущим из которых является подавление активности фосфолипазы А2. При этом глюкокортикоиды действуют опосредованно: они увеличивают экспрессию генов, кодирующих синтез липокортинов (аннексинов), индуцируют продукцию этих белков, один из которых — липомодулин — ингибирует активность фосфолипазы А2. Угнетение этого фермента приводит к подавлению либрации арахидоновой кислоты и торможению образования ряда медиаторов воспаления — простагландинов, лейкотриенов, тромбксана, фактора активации тромбоцитов и др. Кроме того, глюкокортикоиды уменьшают экспрессию гена, кодирующего синтез ЦОГ-2, дополнительно блокируя образование провоспалительных простагландинов [Преднизолон, <https://www.rlsnet.ru>; Summary report Prednisolone, <https://www.ema.europa.eu>].

Кроме того, за счет вазоконстрикции капилляров, глюкокортикоиды улучшают микроциркуляцию в очаге воспаления, уменьшая экссудацию жидкости. Стабилизируя клеточные мембраны, в т.ч. мембраны лизосом, глюкокортикоиды предотвращают выход лизосомальных ферментов, тем самым уменьшая их концентрацию в месте воспаления. Таким образом, глюкокортикоиды влияют на альтернативную и экссудативную фазы воспаления, препятствуют распространению воспалительного процесса [Преднизолон, <https://www.rlsnet.ru>; Summary report Prednisolone, <https://www.ema.europa.eu>].

Ограничение миграции моноцитов в очаг воспаления и торможение пролиферации фибробластов обуславливают антипролиферативное действие.

Противоаллергическое действие развивается в результате снижения синтеза и секреции медиаторов аллергии, торможения высвобождения из

сенсibilизированных тучных клеток и базофилов гистамина и других биологически активных веществ, уменьшения числа циркулирующих базофилов, подавления пролиферации лимфоидной и соединительной ткани, уменьшения количества Т- и В-лимфоцитов, тучных клеток, снижения чувствительности эффекторных клеток к медиаторам аллергии, угнетения антителообразования, изменения иммунного ответа организма [Преднизолон, <https://www.rlsnet.ru>; Summary report Prednisolone, <https://www.ema.europa.eu>].

Характерной особенностью глюкокортикоидов является иммунодепрессивная активность, которая является результатом подавления разных этапов иммунной реакции: торможения миграции стволовых клеток костного мозга и В-лимфоцитов, подавления активности Т- и В-лимфоцитов, а также угнетения высвобождения цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, интерферона-гамма) из лейкоцитов и макрофагов. Кроме того, глюкокортикоиды снижают образование и увеличивают распад компонентов системы комплемента, блокируют Fc-рецепторы иммуноглобулинов, подавляют функции лейкоцитов и макрофагов [Преднизолон, <https://www.rlsnet.ru>; Summary report Prednisolone, <https://www.ema.europa.eu>].

Противошоковое и антитоксическое действие глюкокортикоидов связано с повышением АД, за счет увеличения количества циркулирующих катехоламинов, восстановления чувствительности адренорецепторов к катехоламинам и вазоконстрикции [Преднизолон, <https://www.rlsnet.ru>; Summary report Prednisolone, <https://www.ema.europa.eu>].

Таким образом, в результате изучения фармакодинамических свойств действующих веществ – левофлоксацина и нозигептида подтверждается широкий спектр антибактериальной активности в отношении как грамотрицательных, так и грамположительных возбудителей мастита, введение преднизолона в препарат обеспечивает местное противовоспалительное действие.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Научно-исследовательская работа выполнялась в 2021-2024 гг. на кафедре биотехнологии, биохимии и биофизики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина». Клинические исследования проведены в условиях частных хозяйств Саратовской области.

Экспериментальная часть диссертационной работы посвящена исследованиям по разработке препарата Мастигард, изучению его токсикологических свойств и эффективности в лечении мастита крупного рогатого скота.

При постановке опытов были использованы токсикологические, фармакологические, физиологические, клинические, морфологические, биохимические и другие методы исследований. Экспериментальные и научно-производственные опыты проведены в соответствии с требованиями к врачебно-биологическому эксперименту по подбору аналогов, постановке контроля, соблюдению одинаковых условий кормления и содержания животных в период проведения работы и учета результатов.

Основной объект исследований – комбинированный антибактериальный препарат Мастигард для интрацестернального введения. Представляет собой прозрачный или слабо опалесцирующий гель от зеленовато-желтого до желтого цвета, содержащий в 1 шприце (10 г) в качестве действующих веществ левофлоксацин гемигидрат – 1000 мг, нозигептид – 5 мг, преднизолон натрия фосфат – 20 мг и вспомогательные вещества.

Предварительную эффективность на стадии разработки и подбора состава лекарственного препарата Мастигард проводили на 150 коровах, черно-пестрой породы, 3-4 лактации.

Общетоксические свойства препарата Мастигард оценивали путем определения острой и субхронической токсичности препарата согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых

фармакологических веществ», под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005), при соблюдении 51 правил, предусмотренных «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и научной целью» (ETS № 123, Страсбург, 18.03.1986).

Изучение острой токсичности препарата проводили в условиях вивария СНИОКР ООО «НИТА-ФАРМ» на лабораторных крысах. Препарат Мастигард задавали индивидуально внутрижелудочно с помощью зонда, в дозе – 2000 мг/кг массы тела по препарату.

Исследование субхронической токсичности препарата Мастигард проводили в течение 12 дней на белых аутбредных крысах при внутрижелудочном введении в дозах (по препарату) 1800 мг/кг, 900 мг/кг и 90 мг/кг массы тела. От 5 особей из каждой группы на 13 и 22 дни экспериментального периода отбирались образцы крови для биохимического и общего анализов, а после эвтаназии производилось патологоанатомическое вскрытие и взятие органов для макроскопического исследования. Затем определяли массовые коэффициенты внутренних органов животных.

Оценку переносимости (субхронической токсичности) на целевых видах животных проводили на базе хозяйства КФХ Солтабиев с. Широкое, Саратовской обл. на здоровых коровах в возрасте 4,5 – 5 лет. Лекарственный препарат Мастигард коровам вводили интрацистернально, в каждую четверть вымени, один раз в сутки в течение 6 дней в двух дозах: терапевтической дозе – 40 г/голову и в двукратной терапевтической дозе – 80 г/голову. На 7 и 16 сутки эксперимента проводили отбор проб крови для гематологического и биохимического анализов, а также пробы молока для подсчета количества соматических клеток.

Эмбриотоксическое и тератогенное действие определяли согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005) и в соответствии с ГОСТ 32379-2013 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека: Испытания по оценке репродуктивной/эмбриональной токсичности (скрининговый метод) идентично

международному документу OECD Test №421 «Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test» (ОЭСР Тест № 421 «Скрининговое исследование репродуктивной/ эмбриональной токсичности»).

Исследования терапевтической эффективности препарата Мастигард проведены на базе хозяйства Саратовской области (сельскохозяйственный производственный кооператив «Красавский» Лысогорского района) на 120 головах лактирующих коров симментальской породы в возрасте 4-5 лет (3-4-ой лактации), с диагнозами – субклинический и клинический (серозный, катаральный, фибринозный, гнойно-катаральный и геморрагический) мастит. Животных с идентичной формой мастита по принципу аналогов разделяли на опытную и контрольную группы (не менее 10 голов в группе). В опытных группах животных лечили препаратом Мастигард. Препарат вводили интрацистернально в дозе 10 г (содержимое 1 шприца) в пораженную четверть вымени. Препарат вводили 1-2 кратно с интервалом 24 часа, при необходимости введение повторяли. Контрольной группе животных применяли препарат Мастьет Голд (INTERVET INTERNATIONAL, B.V., Нидерланды). Препарат вводили в пораженную четверть вымени коровы в разовой дозе 8 г (содержимое 1 шприца-дозатора) 2-4-кратно с интервалом 12 часов.

Отбор проб молока из пораженных долей (для выделения микрофлоры (n=3) и определения количества соматических клеток (n=10)) и крови из яремной вены (n=5) проводили утром до лечения и через 5 суток после завершения применения препаратов.

Лабораторные исследования крови проводились автоматизированных анализаторах – биохимическом «Clima MC-15» и гематологическом «Abacus Vet 5». Исследования молока на количество соматических клеток определяли с помощью тест системы «Кенотест».

Экономическую эффективность рассчитывали в соответствии с «Методикой определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий», разработанной Ю.Е. Шатохиным, И.Н. Никитиным, П.А. Чулковым, В.Ф. Воскобойником и утвержденной Департаментом ветеринарии МСХ РФ 21 февраля 1997 г.

Полученные в опытах цифровые данные обрабатывались с использованием пакета статистических программ MS Excel. Достоверность различий между сериями определяли с помощью t- критерия Стьюдента.

### 3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 3.1 Разработка состава лекарственного препарата Мастигрд

Несколько лет в компании ООО «НИТА-ФАРМ» вели разработку лекарственного препарата Мастигард, особенностью которого являлась бы комбинация действующих веществ, которая должна обеспечивать высокую терапевтическую эффективность в отношении широкого спектра возбудителей, снижать развитие возможной резистентности, уменьшать сроки выздоровления животных и скорость восстановления продуктивности за счет введения дополнительного действующего вещества, обеспечивающего противовоспалительный эффект. Данные критерии разработки лекарственного препарата обеспечивают комплексный подход к лечению мастита.

Целью любой терапии мастита является полное восстановление здоровья вымени, а именно элиминация возбудителя и активизация работы «противомикробных» факторов защиты вымени [Бабенко Ю. В., 2004]. Фармакологической мишенью при лечении мастита чаще всего является только потенциальный возбудитель. Развитие мастита у коров связано с действием патогенной микрофлоры (стафилококков, стрептококков, кишечной палочки, протей и др. микробов). В большинстве случаев микроорганизмы являются или непосредственными возбудителями, или осложняют течение заболевания.

Антибиотикотерапия направлена на устранение основного этиологического фактора заболевания, однако, применение только антибактериальных средств обычно недостаточно. В процессе лечения необходимо уделять внимание не только адекватно выбранной этиотропной терапии, но и снижению воспалительной реакции, что способствует скорейшему восстановлению нормального физиологического состояния молочной железы. Поэтому в состав противовоспалительных препаратов необходимо вводить противовоспалительный компонент, например, из группы кортикостероидов (преднизолон или



дексаметазон) или нестероидные противовоспалительные компоненты, позволяющие повлиять на патогенетические процессы воспаления, которые зачастую осложняют течение болезни и препятствует выздоровлению.

На первом этапе разработки препарата вели подбор комбинаций действующих веществ (таблица 4) препарата Мастигард на основании первичной эффективности в терапии мастита коров. Оценку эффективности проводили с учетом скорости элиминации симптомов заболевания, длительности выздоровления животных, подтверждающуюся количеством соматических клеток в молоке. На данном этапе было разработано 4 лекарственных формы и проведено сравнительное исследование эффективности.

Таблица 4 – Состав лекарственных форм на первом этапе разработки препарата Мастигард

№п/п	№ЛФ	Состав ЛФ препарата Мастигард
1	1	Доксициклин гиклат 2,5% + неомицин сульфат 3,0% + мелоксикам 2,0%
2	2	Доксициклин гиклат 2,5% + неомицин сульфат 3,0% + флуниксин меглумин 2,0%
3	3	Азитромицин дигидрат 2,5% + мелоксикам 2,0%
4	4	Азитромицин дигидрат 2,5% + флуниксин меглумин 2,0%

Исследование первоначальной эффективности проводили на 40 коровах черно-пестрой породы, 3-4 лактации, с диагнозом катаральный мастит на основании клинического осмотра и подтверждённый количеством соматических клеток в молоке с помощью тест-системы «Кенотест». По результатам осмотра коров отмечали снижение аппетита и активности. При осмотре вымени отмечали его отечность, гиперемию, повышение местной температуры, при сдаивании молоко – водянистой консистенции, с примесью хлопьев фибрина. Количество соматических клеток равнялось >170 000 – 500 000. После подтверждения диагноза, коров разделили на 4 опытные группы по 10 голов в каждой, с целью введения различных форм лекарственного препарата Мастигард для определения первичной эффективности и скорости выздоровления животных. Оценку эффективности проводили на основании исчезновения клинических симптомов

маститита и уменьшения до нормы количества соматических клеток в молоке (таблица 5).

Таблица 5 – Первый этап подбора действующих веществ лекарственного препарата Мастигард (n=10)

№п/п	№ ЛФ	КВ, раз в сутки	Первичная положительная динамика	Исчезновение симптомов мастита, ч (сут.)	ДТ, сут	ЭТ,%
1	1	2	У 20% голов слабая положит.динамика через 72 ч (4 сут) от начала терапии	У 20% животных к 240 ч (10 суткам) от начала терапии	14	20
2	2	2	У 40% голов слабая положит.динамика через 72-96 ч (4-5 сут) от начала терапии	У 40% голов к 168 ч – 240 ч (7-10 сут) от начала терапии	14	40
3	3	2	У 40% голов слабая положит.динамика через 72 ч (4 сут) от начала терапии	У 20% животных к 168 ч (7 суткам) от начала терапии	10	20
4	4	2	У 100% голов слабая положит.динамика через 48 ч (2 суток) от начала лечения	У 100% голов через 72 ч (3 суток) от начала лечения	8	100%

Примечания: КВ – кратность введения; ДТ – длительность терапии, ЭТ – эффективность терапии.

Из таблицы 5 видно, что эффективность ЛФ №1-3 была низкой и составила от 20% до 40%, при этом длительность терапии равнялась от 10 до 14 дней, а уменьшение клинических симптомов мастита отмечали только к 7-10 суткам лечения, в зависимости от формы лекарственного препарата. ЛФ №4 продемонстрировала лучший терапевтический эффект, равный 100%, однако длительность терапии составила 8 суток (в связи с сохранением повышенного количества соматических клеток в образцах молока), а улучшение клинического состояния животных отмечали только к 3 суткам.

Полученные результаты не отвечали требованиям разработки лекарственного препарата Мастигард, в связи с длительным курсом лечения и сохранением клинических симптомов заболевания или низкой терапевтической эффективностью. Следовательно, был продолжен подбор комбинации

действующих веществ лекарственного препарата Мастигард, который бы отвечал заявленным выше требованиям.

На втором этапе было разработано еще пять лекарственных форм препарата (таблица 6), в которых использовали различные группы антибактериальных действующих веществ и в качестве противовоспалительного компонента – глюкокортикостероиды. Подбор концентраций действующих веществ в ЛФ основывался на антибактериальной активности с учетом МІС и механизме их действия. Кратность введения препаратов основывается на фармакодинамических особенностях действующих веществ.

Таблица 6 – Состав лекарственных форм на втором этапе разработки препарата Мастигард

№п/п	№ЛФ	Состав ЛФ препарата Мастигард
1	5	Триметоприм 0,4% + сульфадимезин 2% + преднизолон 0,1%
2	6	Левифлоксацин 2% + гентамицин 1,8% + бензилпенициллин 1,5% + преднизолон 0,2%
3	7	Левифлоксацин 1% + амоксициллин 2,3% + клавулановая кислота 1,2% + преднизолон 0,2%
4	8	Левифлоксацин 10% + нозигептид 0,5% + дексаметазон 0,03%
5	9	Левифлоксацин 10% + нозигептид 0,5% + преднизолон 0,1%

Исследование первоначальной эффективности (таблица 7) проводили на 50 коровах черно-пестрой породы, 3-4 лактации, с диагнозом катаральный мастит на основании клинического осмотра и подтверждением количества соматических клеток в молоке с помощью тест-системы «Кенотест», аналогично первому этапу исследования. По результатам осмотра коров отмечали снижение аппетита и активности. При осмотре вымени отмечали его отечность, гиперемия, повышение местной температуры, при сдаивании молоко – водянистой консистенции, с примесью хлопьев фибрина. Количество соматических клеток равнялось >170 000 – 500 000. После подтверждения диагноза, коров разделили на 5 опытных групп по 10 голов в каждой, с целью введения различных форм лекарственного препарата Мастигард для определения первичной эффективности и скорости выздоровления

животных. Оценку эффективности проводили на основании исчезновения клинических симптомов мастита и уменьшения до нормы количества соматических клеток в молоке.

Таблица 7 – Второй этап подбора действующих веществ лекарственного препарата Мастигард (n=10)

№п/п	№ ЛФ	КВ, раз в сутки	Первичная положительная динамика	Исчезновение симптомов мастита, ч (сут.)	ДТ, сут	ЭТ,%
1	5	2	У 40% голов положит. динамика через 72 ч (3 сут) от начала терапии	У 100% животных к 96 ч (4 сут) от начала терапии	5	100
2	6	1	У 80% голов положит. динамика через 72 ч (3 сут) от начала терапии	У 100% животных к 96 ч (4 сут) от начала терапии	5	100
3	7	2	У 40% голов положит. динамика через 72 ч (3 сут) от начала терапии	У 100% животных к 120ч (5 суткам) от начала терапии	6	100
4	8	1	У 100% голов положит. динамика через 48 ч (2 суток) от начала лечения	У 100% голов через 72 ч (3 суток) от начала лечения	4	100%
5	9	1	У 100% голов положит. динамика через 48 ч (2 суток) от начала лечения	У 100% голов через 72 ч (3 суток) от начала лечения	4	100%

Примечания: КВ – кратность введения; ДТ – длительность терапии, ЭТ – эффективность терапии.

Таким образом, на втором этапе оценки первичной эффективности лекарственных форм препарата Мастигард на основании длительности терапии, кратности введения препарата, наступления положительной динамики и клинического выздоровления наиболее перспективными оказались две лекарственные формы № 8 и № 9. Стоит отметить, что в форме № 8 в качестве противовоспалительного компонента использовали дексаметазон, который в 30% случаев оказывал местно-раздражающее действие на соски вымени, вызывая гиперемиию. Полученные результаты данного исследования позволили определить действующие вещества препарата Мастигард – левофлоксацин, нозигептид и преднизолон.

Далее, необходимо было произвести сравнительную оценку эффективности сочетания соотношений концентраций левофлоксацина, нозигептида и преднизолона в препарате. Для этого была проведена оценка 6-ти лекарственных форм с различным количественным содержанием действующих веществ в виде комбинаций и монопрепаратов. Подбор концентраций антибактериальных компонентов основывался на литературных данных соотношений  $C_{max}$  к МІС чувствительных бактериальных возбудителей (таблица 8).

Таблица 8 – Состав лекарственных форм на этапе подбора концентраций ДВ препарата Мاستигард

Лекарственная форма	Содержание ДВ (мг на шприц)		
	Левифлоксацин	Нозигептид	Преднизолон
№1	300	-	10
№2	500	-	10
№3	1000	-	10
№4	1000	2	10
№5	1000	5	10
№6	1000	5	20

Исследования проводили на 60 коровах, черно-пестрой породы, 3-4 лактации, с клиническими симптомами мастита, такими как отек и болезненность вымени, изменение консистенции молока, а также увеличением соматических клеток в молоке. По результатам бактериологического посева, в молоке коров были выделены следующие возбудители: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter spp.*

Выздоровлением считали отсутствие клинических симптомов мастита, нормализацию молокообразования, отсутствие патогенной микрофлоры, выделяемой до лечения, учитывая также скорость выздоровления. Длительность терапии должна была составить не более 4 суток, на основании второго этапа разработки, в соответствии с лекарственной форме №9 (таблица 9).

Таблица 9 – Эффективность различных комбинаций действующих веществ в отношении бактериальных возбудителей мастита коров (n=10)

№ ЛФ	КВ, раз в сут	КлВ, сут	ДТ, сут	ЭТ, (%)	Выделенные возбудители, после проведения терапии	% коров с выделенными возбудителями, после терапии
№1	1	У 30% к 4 сут	4	30	Staphylococcus aureus, Escherichia coli и в некоторых случаях Streptococcus agalactiae	40
№2	1	У 50% к 3 сут	4	50	Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, в единичных случаях Escherichia coli.	20
№3	1	У 70% к 3 сут	4	70	Staphylococcus aureus	30
№4	1	У 70% к 3 суткам	4	70	Staphylococcus aureus	20
№5	1	У 100% к 2 сут	3	100	Не обнаружено	0
№6	1	У 100% к 1 сут	2	100	Не обнаружено	0

Примечания: КВ – кратность введения; КлВ – клиническое выздоровление, ДТ – длительность терапии, ЭТ – эффективность терапии

В данном исследовании (таблица 9), с учетом эффективности терапии, скорости клинического выздоровления, длительности применения лекарственных форм препарата и элиминации возбудителей, было установлено, что эффективность комбинации действующих веществ левофлоксацин, нозигептид и преднизолон значительно выше, чем применение их в виде монопрепаратов. Стоит также отметить, что увеличение концентрации преднизолона до 2% демонстрирует более быстрое клиническое выздоровление, чем 1% его концентрация в препарате. Таким образом, по результатам исследования установлено, что оптимальной комбинацией действующих веществ является левофлоксацин гемигидрат – 1000 мг, нозигептид – 5 мг, преднизолона натрия фосфат – 20 мг.

Анализируя представленные данные, с точки зрения оценки фармакокинетических и фармакодинамических показателей, можно утверждать, что оптимальная антибактериальная эффективность Мастигарда находится в зависимости от концентрации действующих веществ в тканях вымени и сосковом канале. Это подтверждается отсутствием выделения патогенных микроорганизмов из молока коров после лечения.

Проследить механизм синергизма двух действующих веществ достаточно сложно. Liam Berry (2019) установил, что фторхинолоны могут быть использованы в качестве адъювантов. В частности, было обнаружено, что конъюгированные пептиды с левофлоксацином приводило к способности этого соединения потенцировать его активность в отношении некоторых бактерий. Очевидно, схожий механизм привел к синергизму левофлоксацина и нозигептида в лекарственной композиции препарата Мастигард.

С целью подтверждения синергизма комбинации антибактериальных действующих веществ были определены значения МИС компонентов препарата по отдельности и в комбинации в отношении основных возбудителей: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter* spp. и *Escherichia coli*.

Таблица 10 – Значения МИС для действующих веществ и комбинации препарата Мастигард

Возбудитель	Значения МИС, мкг/мл			Увеличение антибактериальной активности, раз
	Левофлоксацин	Нозигептид	Комбинация (левофлоксацин +нозигептид)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,0	2,0	0,5	2-4
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2,0	8,0	0,5	4-16
<i>Acinetobacter</i> spp.	2,0	4,0	1,0	2-4
<i>Escherichia coli</i>	1,0	>16	0,125	8-128

Из таблицы 10 видно, что комбинация проявляет синергизм и значительно повышает антимикробную активность обоих действующих веществ, от 2 до 16 раз в зависимости от возбудителя.

Синергизм между левофлоксацином и нозигептидом был зарегистрированы в отношении всех тестируемых возбудителей в том числе *Staphylococcus aureus* – способного быстро формировать резистентность к антимикробным препаратам, а также *Streptococcus agalactiae*, одного из наиболее важных этиологических факторов мастита коров.

Важным аспектом антибактериальной терапии при мастите коров является выбор оптимального способа введения. Высокий терапевтический эффект при мастите, наблюдается при введении лекарственных веществ в молочную железу через сосковый канал, так как в молочной железе ярко выражены процессы всасывания [Jain V. K., 2020]. Известно, что антибиотики всасываются из вымени путем не ионной (пассивной) диффузии. Гемато-молочный барьер ведет себя как инертная липоидная мембрана по отношению к этим препаратам. При интрацистернальном введении антибактериальных препаратов лактирующим коровам в отекающем от лимфы вымени поддерживается высокая концентрация антибиотиков в течение суток, значительно превышающая значения в плазме крови [Мозгов И.Е., 1971]. Нозигептид, обладая липофильными свойствами, очевидно, аналогичным способом взаимодействует в указанных местах и проявляет свое действие в сосковом канале [Ziv G., Sulman F. G., 1973; Anderson K. L., 1987; Feng M., 2008; Froyman R., Wetzstein H. G., Fraatz K., 2023]. При внутримышечном введении антибактериальных препаратов обеспечиваются более низкие концентрации в тканях вымени, которые сохраняются там непродолжительное время.

Следовательно, в терапии мастита наиболее эффективным способом введения является интрацистернальное (интрамаммарное).

Анализируя значения МІС и зная, что после однократного интрацистернального введения препарата Мастигард в сосковые полости попадает 4000 мг левофлоксацина (по 1000 мг в каждую полость), очевидно, что концентрация антибиотика в вымени в 100 раз превышает значения МІС. Концентрацию левофлоксацина в тканях вымени не изучали, однако в результате собственных фармакокинетических исследований было установлено, что его концентрация в плазме составила 9 нг/мл. Однако известно, что концентрация левофлоксацина в молоке в разы превышает это значение в плазме, что обусловлено особенностями распределения вещества и низким связыванием с белками плазмы. Глубокое проникновение в ткани приводит к удерживанию левофлоксацина в тканях вымени, где он и оказывает свое антибактериальное



действие. Соотношение AUC в молоке / AUC левофлоксацина в плазме составляет 3,36 и дополнительно увеличивается в вымени больных животных [Hawkey P. M., 2003]. Устойчивость молекулы левофлоксацина к трансформации в организме также положительно влияет на фармакокинетические параметры не зависимо от способа введения вещества [Дорофеев В. Л., 2004, Nakashima M., Uematsu T., Kanamaru M., 1992; Davis R., Bryson, H. M., 1994; Abulkibash A. M., Sultan S. M., Al-Olyan A. M., 2003].

При исследовании фармакокинетики не удалось определить содержание нозигептида в плазме, поскольку значение было ниже предела обнаружения. Вместе с тем, при однократном интрацистернальном введении в каждую полость доставляется 5 мг нозигептида, что также значительно превышает значения MIC. Композиция лекарственного препарата Мастигард подобрана с учетом особенностей антимикробного действия препаратов при интрацистернальном способе введения.

Для удобства интрацистернального введения препарат Мастигард фасуют по 10 г в полимерные шприцы соответствующей вместимости, снабженные канюлей и защитным полимерным колпачком.

Таким образом, с учетом вышеизложенного можно утверждать, что комбинация левофлоксацина и нозигептида обладает синергизмом и имеет значимое преимущество в сравнении с монотерапией каждым компонентом в отдельности.

Поскольку целью лечения мастита является элиминация возбудителя в очаге инфекции и обеспечение быстрого и полного возвращения железы к нормальной функции и производству молока, лекарственный препарат Мастигард является перспективным лекарственным средством в лечении маститов у коров.

## 3.2 Токсикологические исследования

### 3.2.1 Оценка острой токсичности препарата Мастигард на лабораторных животных

Изучение острой токсичности препарата Мастигард и определение его класса опасности проводили в условиях вивария СНИОКР (ООО «НИТА-ФАРМ») на лабораторных крысах, в соответствии с «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005).

Исследования проводили на 6 самках белых аутбредных крыс массой 180–192 г, в возрасте 9–10 недель. Животных рандомно разделили на 2 опытные группы. Препарат вводили крысам внутрижелудочно с помощью зонда. Начальная доза лекарственного препарата в 1-й опытной группе (животные № 1, 2, 3) составила 2000 мг/кг по препарату из расчета максимально возможного объема внутрижелудочного введения крысе (1мл/100 г). Для перевода объемных единиц в весовые использовали плотность препарата равную 0,90 г/см<sup>3</sup>. Подготовку препарата Мастигард перед введением проводили следующим образом: 4,4 мл препарата смешивали с 15,6 мл питьевой воды.

Дозу для 2-й опытной группы (животные № 4, 5, 6) рассчитывали на основании полученных результатов после введения начальной дозы в 1-й опытной группе. После введения препарата за животными устанавливали наблюдение в течение 14 суток. В этот период крыс обследовали индивидуально после введения дозы в течение первых 4 ч постоянно, а затем периодически. Ежедневно наблюдали за общим состоянием и поведением животных, реакцией на раздражители (звук, свет), проявлением симптомов интоксикации, возможной гибелью. Критериями оценки острой токсичности препарата проводили, опираясь на полученное значение LD<sub>50</sub>, учитывая возможное число павших животных, сроки их гибели, клиническую картину интоксикации, общее состояние животных; изменение массы тела; особенности поведения; реакцию на тактильные, болевые и световые

раздражители; реакцию на пищу и воду; интенсивность и характер двигательной активности, координацию движений; частоту и глубину дыхательных движений; состояние волосяного и кожного покрова; цвет слизистых оболочек; характер дефекации.

До введения препарата, а также на 1, 3, 7, 11 и 14-е сутки опыта регистрировали массу тела животных. По завершении экспериментальной части исследования проводили эвтаназию животных для выявления структурных поражений органов и тканей, связанных с введением препарата.

Испытанная доза 2000 мг/кг не вызвала гибели крыс. Общее состояние животных данной группы было удовлетворительным. Признаков интоксикации в данной группе не наблюдали. Целостность и эластичность кожного и шерстного покрова были сохранены, окраска видимых слизистых оболочек соответствовала норме. Частота и глубина дыхательных движений не были изменены. Изменений в поведении не отмечено, судороги не наблюдали; координация движений не была нарушена; реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители была адекватной.

Динамика массы тела экспериментальных животных первой опытной группы представлена в таблице 11.

Таблица 11 – Динамика массы тела животных опытной группы №1, г

Номер животного	0 сутки (до введения)	1 сутки	3 сутки	7 сутки	11 сутки	14 сутки
1	180	182	186	202	222	228
2	180	183	188	203	223	231
3	179	183	188	201	220	226
M±SD	179,7±0,6	182,7±0,6	187,3±1,2	202±1	221,7±1,5	228,3±2,5

Примечание: M±SD (среднее значение±стандартное отклонение), при  $p \leq 0,05$ .

Как видно из данных таблицы 11 все животные стабильно набирали массу тела.

Так как введение начальной дозы не вызвало у опытных крыс признаков интоксикации и не привело к их гибели в течение первых суток эксперимента, во второй опытной группе крысам вводили ту же дозу 2 000 мг/кг.

Приготовление раствора, способ введения, дозирование осуществлялись по аналогии с первой опытной группой. Наблюдение за животными велось периодически в течение первых 4 часов после введения, затем ежедневно в течение 14 суток.

На втором этапе эксперимента введение дозы 2 000 мг/кг также не вызвало гибели крыс. Общее состояние животных данной группы было удовлетворительным, так же, как и в первой опытной группе.

Динамика массы тела экспериментальных животных второй опытной группы представлена в таблице 12.

Таблица 12 – Динамика массы тела животных опытной группы №2, г

Номер животного	0 сутки (до введения)	1 сутки	3 сутки	7 сутки	11 сутки	14 сутки
1	188	193	201	217	235	242
2	192	195	199	221	239	248
3	186	191	203	225	242	249
M±SD	188,7±3	193±2	201±2	221±4	238,7±3,5	246,3±3,8

Примечание: M±SD (среднее значение±стандартное отклонение), при  $p \leq 0,05$ .

В результате аутопсии животных, по окончании наблюдения за ними на 14 сутки, было установлено, что положение внутренних органов грудной и брюшной полостей анатомически правильное:

- легкие воздушные, без уплотнений на ощупь, бледно-розовой окраски;
- сердечная мышца на разрезе однородная вишнево-коричневатой окраски и умеренно плотной консистенции, клапаны сердца тонкие, блестящие, гладкие;
- печень коричневого цвета, мелкозернистой структуры, края острые, ровные;
- селезенка темно-вишневого цвета, умеренно плотной консистенции, края острые, пульпа на разрезе однородная без включений, видны мелкие сероватого цвета фолликулы;
- почки коричневатого цвета, поверхность гладкая, капсула тонкая, прозрачная, легко снимаемая, граница мозгового и коркового вещества хорошо выражена, почечная лоханка визуальна не расширена.

Таким образом, испытанная доза ни в одном случае не вызвала признаков интоксикации, регулярный контроль массы тела свидетельствовал о равномерных

привесах всех опытных животных на протяжении 14 суток наблюдений. Гибели опытных животных не регистрировали.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что  $LD_{50}$  испытуемого препарата составляет более 2000 мг/кг, что соответствует 5 классу токсичности согласно СГС (2000 – 5000 мг/кг).

### **3.2.2 Оценка субхронической токсичности препарата Мастигард на лабораторных животных**

Исследование проводили на 40 самках белых аутбредных крыс массой 176-216 г, возрастом 10-12 недель (на начало исследований), которых разделили на 3 опытных и 1 контрольную группу по 10 голов в каждой, в соответствии с «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005).

Расчет доз для изучения субхронической токсичности был проведен на основании максимальной терапевтической дозы (90 мг/кг массы тела) и значения  $LD_{50}$ , полученного в остром опыте (более 2000 мг/кг массы тела). Основываясь на вышеуказанных данных, препарат Мастигард вводили крысам внутрижелудочно в нативном виде, в дозах (по препарату) 1800 мг/кг (группа №1), 900 мг/кг (группа №2) и 90 мг/кг массы тела (группа №3) в течение 12 суток (аналогично 3-кратному курсу применения). Животным контрольной группы вводили питьевую воду в объеме 1,0 мл/100 г. Лекарственный препарат для интрацистернального применения вводили крысам внутрижелудочно с помощью зонда, так как данный способ обеспечивает наиболее точное определение введенной дозы и дает возможность изучить субхроническую токсичность при системном применении.

В течение всего периода (12 суток) применения препарата, а также 10-ти дней после окончания введения, проводили наблюдение за общим состоянием и поведением животных, реакцией на внешние раздражители, проявлением симптомов интоксикации, возможной гибелью, осуществляли контроль массы тела (1, 7, 12, 22 сутки опыта) всех животных, находящихся в эксперименте.

В рамках изучения субхронической токсичности испытуемого препарата на следующие сутки и через 10 дней после завершения его применения (13 и 22 сутки эксперимента) проводили аутопсию экспериментальных животных и отбор крови (для проведения биохимического и гематологического исследований). При этом макроскопическому исследованию были подвергнуты следующие органы и ткани: кожа с подкожной жировой клетчаткой, печень, легкие, почки, сердце, селезенка, желудок, толстый и тонкий отделы кишечника. Определяли массовые коэффициенты внутренних органов животных. Вычисление относительной массы каждого органа проводили по формуле:

$$S = (m / M) \times 100\%, \quad (1)$$

где  $S$  – относительная масса органа;

$m$  – масса органа, г;

$M$  – масса тела животного, г.

Оценку субхронической токсичности лекарственного препарата проводили на основании полученных показателей: значений массы тела животных, смертности, характера, тяжести и продолжительности признаков интоксикации, клинического и биохимического анализов крови, значений массовых коэффициентов внутренних органов, патологоанатомических изменений.

В результате наблюдения за животными всех опытных групп признаков интоксикации не было выявлено. Общее состояние крыс оставалось удовлетворительным, изменений в поведении не отмечено, аппетит и жажда не были изменены, судороги не наблюдали; координация движений не была нарушена; тонус скелетных мышц соответствовал норме; реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители была адекватной; целостность и эластичность кожных покровов сохранены, гиперемия отсутствовала; окраска видимых слизистых оболочек соответствовала норме; частота и глубина дыхательных движений не изменены; каловые массы темно-коричневого цвета, плотной консистенции, характерной овально-продолговатой формы со специфическим запахом.

Показатели живой массы тела крыс опытных групп на первые сутки введения препарата статистически достоверно не отличались от контрольной группы, что свидетельствует об однородности сформированных выборок животных.

В ходе проведения эксперимента, при взвешивании крыс на 7-е и 12-е сутки были выявлены статистически достоверные отличия массы тела опытных животных в сравнении с контролем. Животные, получавшие препарат в дозах 1800, 900 мг/кг медленнее набирали массу по сравнению с животными контрольной группы. В первой опытной группе (1800 мг/кг) масса тела на 7 сутки опыта была меньше на 25,4% ( $p \leq 0,05$ ), на 12 сутки на 39,6% ( $p \leq 0,05$ ) относительно контрольной группы. Во второй опытной группе (900 мг/кг) снижение массы тела отмечено на 23% ( $p \leq 0,05$ ) и 32,3% ( $p \leq 0,05$ ) на 7 и 12 сутки соответственно относительно полученных значений в контрольной группе (таблица 13).

Таблица 13 – Результаты взвешивания животных в опытных группах (n=10)

Период	Контрольная группа	ОГ №1 (1800 мг/кг)	ОГ №2 (900 мг/кг)	ОГ №3 (90 мг/кг)
1 сутки	203,5 ± 6,25	201,6 ± 9,38	200,8 ± 8,4	201,7 ± 8,9
7 сутки	259,6 ± 12,42	194,1 ± 8,56*	201,38 ± 12,65*	255 ± 10,75
12 сутки	315,4 ± 14,85	190,2 ± 7,75*	213,5 ± 17,5*	310,5 ± 11,89

Примечание: ОГ – опытная группа,  $M \pm SD$  (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны ( $*p \leq 0,05$ ) в сравнении с контрольными животными

По результатам макроскопического исследования органов и тканей опытных крыс на первые сутки после отмены препарата, отмечено, что при наружном осмотре крыс патологических выделений из естественных отверстий не обнаружено. Шерсть была блестящая, без очагов алопеций, зубы сохранены. Видимые слизистые оболочки бледно-розовые, блестящие. Деформации или отека конечностей не выявлено. Развитие наружных половых органов соответствует физиологической норме.

Грудная и брюшная полости без выпота. Положение внутренних органов грудной и брюшной полостей анатомически правильные. Париетальный и висцеральный листки плевры и брюшины тонкие, блестящие, гладкие.

При макроскопическом изучении печени у экспериментальных животных, получавших дозы 1800 и 900 мг/кг, орган светло-коричневого цвета, были видны сосуды, края неровные, зернистой структуры (рисунок 8). У крыс, получавших дозу 90 мг/кг, изменений в строении органа не обнаружено.

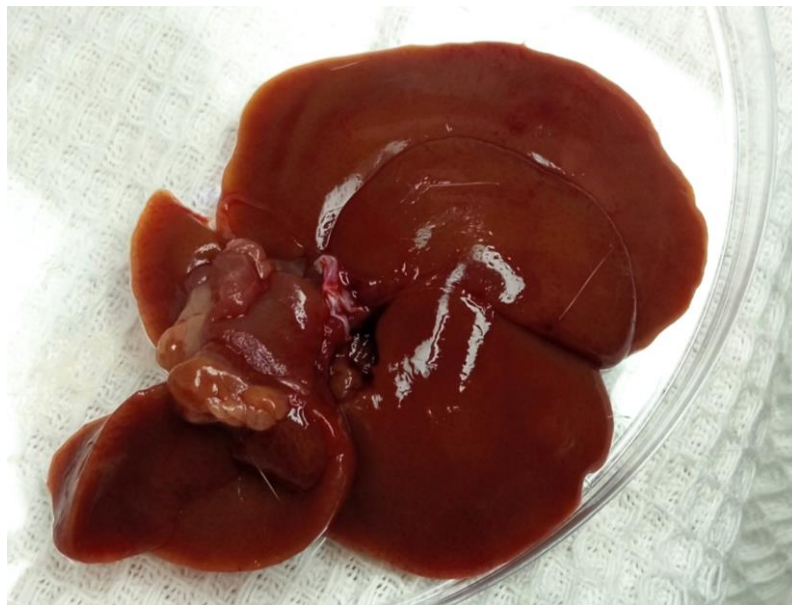


Рисунок 8 – Печень крысы опытной группы №2 (900 мг/кг) в результате аутопсии на следующие сутки после прекращения введения препарата

У животных всех опытных групп строение легких соответствовало норме. Просвет трахеи и крупных бронхов не были изменены, слизистая оболочка блестящая, гладкая, бледного цвета. Легкие воздушные, без уплотнений на ощупь, бледно-розовой окраски.

У животных всех экспериментальных групп форма почек не была изменена. Поверхность почек коричневатого цвета, гладкая, капсула тонкая, прозрачная, легко снимаемая. На разрезе органа хорошо различимы корковое и мозговое вещество (рисунок 9).





Рисунок 9 – Почки крысы опытной группы №3 (90 мг/кг) в результате аутопсии на следующие сутки после прекращения введения препарата

При визуальном осмотре сердце у подопытных животных строение органа соответствовало норме. Величина и форма сердца контрольных крыс визуально не отличались от опытных. В правом и левом желудочках содержалось незначительное количество темной жидкой крови. Клапаны сердца тонкие, блестящие, гладкие. Сердечная мышца на разрезе имела однородную вишнево-коричневатую окраску и умеренно плотную консистенцию (рисунок 10).



Рисунок 10 – Сердце крысы опытной группы №3 (90 мг/кг) в результате аутопсии на следующие сутки после прекращения введения препарата

У крыс, получавшие дозы 1800 и 900 мг/кг, селезенка была заметно уменьшена, имела неровные края. У животных, получавших дозу 90 мг/кг, селезенка была обычной формы, темно-вишневого цвета, умеренно плотной консистенции. Поверхность органа гладкая, капсула тонкая. На разрезе на темно-красном фоне селезенки видны мелкие сероватого цвета фолликулы.

При оценке местно-раздражающего действия на слизистую оболочку

желудка после внутрижелудочного введения у животных, получавших дозы 1800 и 900 мг/кг, отмечена гиперемия слизистой желудка и ее истончение, отмечали небольшие изъязвления. У крыс, получавших дозу 90 мг/кг, строение желудка – без патологий.

Брыжейка и сальник у всех подопытных животных не были изменены, сосуды не кровенаполнены, мезентеральные лимфоузлы не увеличены. Слизистая оболочка кишечника не изменена. Прямая кишка содержала несформированные коричнево-черные каловые массы.

Одним из показателей токсического действия препарата при его длительном применении является расчет относительной массы органов.

На следующий день после завершения применения препарата (13 сутки) были выявлены статистически достоверное увеличение относительной массы органов, таких как печень (на 23%), почки (на 25%) и сердце (на 17%) ( $p \leq 0,05$ ) в первой опытной группе (1800 мг/кг) относительно контрольной группы. Относительная масса селезенки была статистически меньше, как в первой (1800 мг/кг), так и во второй опытной группе (900 мг/кг). Других статистически значимых отличий выявлено не было. В третьей опытной группе (90 мг/кг) показатели относительной массы органов соответствовали полученным значениям в контрольной группе.

Результаты расчетов массовых коэффициентов органов крыс на первые сутки после последнего применения препарата Мастигард приведены в таблице 14.

Таблица 14 – Массовые коэффициенты органов крыс на первые сутки после последнего введения препарата Мастигард (n=5)

Орган	Контрольная группа	Дозы препарата, мг/кг		
		ОГ №1 (1800 мг/кг)	ОГ №2 (900 мг/кг)	ОГ №3 (90 мг/кг)
Печень (%)	3,64 ± 0,54	4,51 ± 0,39*	4,13 ± 0,35	3,78 ± 0,11
Почки (%)	0,63 ± 0,06	0,79 ± 0,06*	0,7 ± 0,08	0,67 ± 0,05
Селезенка (%)	0,43 ± 0,17	0,17 ± 0,05*	0,21 ± 0,04*	0,34 ± 0,08
Легкие (%)	0,62 ± 0,16	0,64 ± 0,08	0,65 ± 0,11	0,60 ± 0,09
Сердце (%)	0,35 ± 0,05	0,41 ± 0,04*	0,40 ± 0,04	0,37 ± 0,03

Примечание: ОГ - опытная группа,  $M \pm SD$  (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны ( $*p \leq 0,05$ ) в сравнении с контрольными животными

Через 10 дней после окончания введения лекарственного препарата Мастигард были выявлены статистически значимое увеличение в опытной группе №1 (1800 мг/кг) по показателю относительной массы легких (на 40%) ( $p \leq 0,05$ ) и сердца (на 12%) ( $p \leq 0,05$ ) в сравнении с контрольной группы. Других статистически значимых отличий в опытных группах выявлено не было. В третьей опытной группе (90 мг/кг) полученные массовые коэффициенты внутренних органов соответствовали контрольным значениям и статистически не отличались (табл. 15).

Таблица 15 - Массовые коэффициенты органов крыс на десятые сутки после последнего введения препарата Мастигард (n=5)

Орган	Контрольная группа	Дозы препарата, мг/кг		
		ОГ №1 (1800 мг/кг)	ОГ №2 (900 мг/кг)	ОГ №3 (90 мг/кг)
Печень (%)	3,48 ± 0,2	3,25 ± 0,25	3,77 ± 0,63	3,5 ± 0,42
Почки (%)	0,62 ± 0,06	0,67 ± 0,07	0,66 ± 0,11	0,66 ± 0,04
Селезенка (%)	0,3 ± 0,08	0,38 ± 0,13	0,44 ± 0,36	0,37 ± 0,15
Легкие (%)	0,53 ± 0,11	0,74 ± 0,11*	0,72 ± 0,54	0,68 ± 0,39
Сердце (%)	0,33 ± 0,03	0,37 ± 0,02*	0,35 ± 0,04	0,33 ± 0,04

Примечание: ОГ - опытная группа,  $M \pm SD$  (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны ( $*p \leq 0,05$ ) в сравнении с контрольными животными

Оценка токсикологических свойств лекарственного препарата Мастигард в формате настоящего эксперимента включала проведение общего клинического анализа и биохимического исследования крови крыс.

Результаты гематологического и биохимического анализа, проведенного на 13 сутки опыта, обобщены в таблице 16 и 17.

Таблица 16 – Клинический анализ крови крыс на первые сутки после отмены препарата (n=5)

Показатель	Контрольная группа	Опытные группы			Норма
		ОГ №1 (1800 мг/кг)	ОГ №2 (900 мг/кг)	ОГ №3 (90 мг/кг)	
Гематокрит, %	55,44 ± 5,78	64,86±1,48*	62,14±2,11*	60,22±3,03	36 – 52
Гемоглобин, г/л	127 ± 15,53	148,6±5,59*	141,8±5,51*	135 ± 7,5*	120 – 180
Эритроциты, млн/мкл	7,62 ± 0,64	9,3 ± 0,29*	8,79 ± 0,35	8,84 ± 0,74	5 – 12
Лейкоциты, тыс/мкл	14,02 ± 3,28	5,28 ± 0,97*	6,62 ± 1,58*	10,16±4,29	5 – 25
Лейкоцитарная формула					
Моноциты, %	0,4 ± 0,68	1,6 ± 1,88*	2,2 ± 1,36*	1 ± 0,88*	0 - 8
Лимфоциты, %	85,8 ± 7,92	24,4±15,57*	58,6±19,93*	80 ± 6,68	40 – 95
Эозинофилы, %	0,4 ± 0,68	0 ± 0*	0,6 ± 1,11	1,4 ± 1,67*	0 – 4
Нейтрофилы (%)					
Палочкоядерные	0,6 ± 1,11	1,4 ± 1,42*	1,4 ± 2,08	0,2 ± 0,56	-
Сегментоядерные	12,8 ± 7,04	71,6±14,83*	37,2±17,76*	17,4 ± 6,54	4 - 50

Примечание: ОГ - опытная группа, М±SD (среднее значение±стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

Таблица 17 – Биохимическое исследование сыворотки крови крыс на первые сутки после отмены препарата (n=5)

Показатель	Контрольная группа	Опытные группы			Норма
		ОГ №1 (1800 мг/кг)	ОГ №2 (900 мг/кг)	ОГ №3 (90 мг/кг)	
Билирубин общий, мкмоль/л	2,94 ± 0,52	3,64±0,57*	2,4 ± 0,6	2,92 ± 0,65	3,4 - 10,3
Билирубин прямой, мкмоль/л	0,8 ± 0,09	1,16±0,24*	0,84 ± 0,14	0,94± 0,11	-
АСТ, Ед/л	116,8±16,59	133±19,65*	133,6±40,81	116 ± 5,89	72 - 196
АЛТ, Ед/л	48 ± 9,49	84,2±16,55*	74 ± 4,96*	62 ± 11,81*	20 - 92
Остаточный азот (мочевина), ммоль/л	6,28 ± 1,19	6,5 ± 0,63	7,18± 0,27	5,5 ± 0,6	3,6-11,8
Креатинин, мкмоль/л	63,6 ± 5,38	62,6±13,21	53,6±12,95	59 ± 15,18	18 – 71
Белок общий, г/л	74,4 ± 4,69	79,2±4,84*	75,6 ± 2,86	75,2 ± 5,72	59 – 84
ЩФ, Ед/л	189,6±31,31	185,4±38,54	242±93,81*	234,4±57,4*	100 - 250
Глюкоза, ммоль/л	7,54 ± 1,24	8,78±1,64*	6,52±1,22	7,96 ± 0,21	5,0-10,2

Примечание: ОГ – опытная группа, М±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

Снижение количества лейкоцитов (на 62%) и лимфоцитов (на 71,6%) ( $p \leq 0,05$ ), выявленное в опытной группе №1 (1800 мг/кг) на следующие сутки после завершения применения исследуемого препарата, свидетельствует о возможном угнетении лейкопоэза при длительном применении испытуемого препарата в высоких дозах (20-кратная терапевтическая доза). Также в данной группе отмечали повышение палочкоядерных в 2,3 раза и сегментоядерных 5,6 раза нейтрофилов, а также количества моноцитов в 4 раза.

Во второй опытной группе (900 мг/кг) отмечали снижение количества лейкоцитов на 53% и лимфоцитов на 38% и увеличение количества моноцитов в 5,5 раз и сегментоядерных нейтрофилов в 2,9 раза ( $p \leq 0,05$ ), относительно значений в контрольной группе, стоит отметить, что полученные результаты не выходили за интервалы видовой нормы.

В опытной группе (90 мг/кг) отмечали повышение количества моноцитов в 2,5 раза и эозинофилов в 3,5 раза ( $p \leq 0,05$ ), относительно контрольной группы, однако они не выходили за интервалы видовой нормы.

Показатель гемоглобина во всех опытных группах статистически отличался от контрольного значения, однако не выходит за интервалы видовой нормы и связано с вариативностью индивидуальных значений животных.

Результаты биохимического анализа крови, полученные на следующий день после завершения применения испытуемого препарата, в опытной группе №1 (1800 мг/кг) продемонстрировали повышение уровней общего и прямого билирубина на 24% и 45% соответственно; показателей АСТ на 14% и АЛТ на 72%, общего белка на 6,5% и глюкозы на 16,7% ( $p \leq 0,05$ ) относительно контрольных значений, однако полученные результаты не выходили за интервалы видовой нормы.

В опытной группе №2 (900 мг/кг) отмечали повышение АЛТ на 54%, ЩФ в 1,2 раза ( $p \leq 0,05$ ) в сравнение с полученными значениями в контрольной группе, но не отличались от видовой нормы.

Статистически значимое увеличение в опытной группе №3 (90 мг/кг) были выявлены по показателям АЛТ на 29% и ЩФ в 1,2 раза ( $p \leq 0,05$ ) относительно

контрольных значений. Стоит отметить, что полученные результаты в опытной группе №3 не выходили за интервалы видовой нормы.

Результаты общего клинического анализа и биохимического исследования сыворотки крови крыс на десятые сутки после отмены препарата, обобщены в таблице 18 и 19.

Таблица 18 – Клинический анализ крови крыс на десятые сутки после отмены препарата (n=5)

Показатель	Контрольная группа	Опытные группы			Норма
		ОГ №1 (1800 мг/кг)	ОГ №2 (900 мг/кг)	ОГ №3 (90 мг/кг)	
Гематокрит, %	57,42 ± 3,39	53,08 ± 0,32*	54,13 ± 11,05	57,78 ± 3,44	36 – 52
Гемоглобин, г/л	124,2 ± 6,88	112,6 ± 2,57*	115,7 ± 24,13*	124,2 ± 7,72	120 - 180
Эритроциты, млн/мкл	8,07 ± 0,42	7,89 ± 0,3	7,87 ± 1,99	8,31 ± 0,28*	5 – 12
Лейкоциты, тыс/мкл	9,86 ± 1,95	7 ± 1,37*	8,37 ± 7,44	10,26 ± 2,6	5 – 25
Лейкоцитарная формула					
Моноциты, %	1,6 ± 1,42	1,4 ± 1,42	1,33 ± 1,43	2,2 ± 2,04	0 - 8
Лимфоциты, %	84 ± 5,76	61,8 ± 6,99*	77,33 ± 16,54*	85,6 ± 4,08	40 – 95
Эозинофилы, %	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 – 4
Нейтрофилы					
Палочкоядерные	1 ± 1,24	0,8 ± 1,04	0 ± 0*	0,2 ± 0,56*	-
Сегментоядерные	13,4 ± 4,53	36 ± 8,28*	21,33 ± 15,78*	12 ± 3,04	4 - 50

Примечание: ОГ – опытная группа, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

Стоит отметить, что при оценке показателей на 10 сутки после прекращения введения препарата указанные выше изменения во второй и третьей опытной группе имели обратимый характер. Показатели клинического анализа крови в группах с дозами 900 и 90 мг/кг массы тела находились в интервалах видовой нормы. В первой опытной группе отмечали уменьшение количества лейкоцитов на 29% и лимфоцитов на 26% (p≤0,05), а также увеличения количества сегментоядерных нейтрофилов в 2,7 раза (p≤0,05) в сравнении с контрольными значениями, однако не выходили за интервалы видовой нормы.

Таблица 19 – Биохимическое исследование крови крыс на десятые сутки после отмены препарата (n=5)

Показатель	Контрольная группа	Опытные группы			Норма
		ОГ №1 (1800 мг/кг)	ОГ №2 (900 мг/кг)	ОГ №3 (90 мг/кг)	
Билирубин общий, мкмоль/л	2,42 ± 0,3	2,74 ± 0,59*	2,33 ± 0,38	2,56 ± 0,49	3,4 -10,3
Билирубин прямой, мкмоль/л	0,78 ± 0,16	0,82 ± 0,2	0,9 ± 0,75	1 ± 0,5	-
АСТ, Ед/л	111,4 ± 17,5	151 ± 46,85*	117 ± 55,49	121,2 ± 25,64	72 - 196
АЛТ, Ед/л	57,4 ± 13,73	49,6 ± 8,54*	72,67±31,06*	51,6 ± 8,76	20 - 92
Остаточный азот (мочевина), ммоль/л	6,42 ± 1,47	4,48 ± 1,07	8,03 ± 4,62	5,22 ± 1,06	3,6-11,8
Креатинин, мкмоль/л	55,2 ± 2,83	51,4 ± 6,12	54,67 ± 8,72	59 ± 9,89	18 – 71
Белок общий, г/л	71,8 ± 1,62	63,6 ± 2,25*	69 ± 6,57	71,8 ± 2,04	59 – 84
ЩФ, Ед/л	200,4 ± 31,82	169,2±36,42*	166,67±8,49*	174,2 ± 37,2	100 - 250
Глюкоза, ммоль/л	7,5 ± 0,44	6,44 ± 0,93*	7,33 ± 0,76	7,36 ± 1,24	5,0-10,2

Примечание: ОГ – опытная группа, M±SD (среднее значение±стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

Анализируя показатели биохимического анализа крови, через 10 суток после последнего применения лекарственного препарата в группе №3 (90 мг/кг) показатели биохимического анализа крови соответствовали видовой норме и полученным значениям в контрольной группе. Во второй опытной группе (900 мг/кг) отмечали повышение показателя АЛТ на 26% и снижение ЩФ на 17% (p≤0,05) относительно контрольных значений, однако не выходили за интервалы видовой нормы. Повышение показателя АСТ на 36%, а также понижение АЛТ на 13,5% и содержание общего белка на 11% (p≤0,05) относительно контрольных значений, но не выходили за интервалы видовой нормы.

Данные изменения в группе №2 (900 мг/кг) и группе №1 (1800 мг/кг) связаны с метаболизмом и биотрансформацией антибиотиков в печени и их выведением из организма при длительном применении высоких доз препарата и отражают нагрузку на печень при применении системных антимикробных средств. Однако результаты

биохимического анализа крови крыс, полученные через 10 суток после последнего применения препарата Мастигард, соответствовали физиологической норме. Стоит отметить, что изучение субхронической токсичности проведено при внутрижелудочном введении крысам, что повышает системное действие лекарственного препарата на организм животного, относительно местного – интрацестернального введения в соответствии с применением в клинической ветеринарной практике. Другие показатели биохимического анализа у экспериментальных животных не демонстрировали дозозависимого эффекта, не выходили за границы физиологической нормы и, следовательно, не имели диагностического значения.

Исходя из результатов проведенного исследования установлено, что длительное применение (превышающем курс лечения в 3 раза) лекарственного препарата Мастигард в максимальной терапевтической дозе (90 мг/кг) не вызывает побочных реакций и системных изменений в организме у лабораторных животных и хорошо переносится ими. Следует отметить, что введение высоких доз 900 и 1800 мг/кг массы тела (10-кратная и 20-кратная терапевтические дозы) препарата может оказывать влияние на метаболические процессы в печени, которое является обратимыми после его отмены.



### **3.2.3 Субхроническая токсичность (переносимость) препарата Мастигард на целевых животных**

Оценку субхронической токсичности на целевых видах животных проводили на базе КФХ Солтабиев, с. Широкое, Татищевского района, Саратовской области.

Исследование проводили на голштинизированных чёрно-пёстрых коровах в возрасте 4,5 – 5 лет, массой 410-450 кг, которых разделили на три группы (2 опытные и 1 контрольная) по 5 голов в каждой. Лекарственный препарат Мастигард коровам вводили интрацистернально, в каждую четверть вымени, один раз в сутки в течение 6 дней: в первой опытной группе – в терапевтической дозе (40 г/голову), во второй опытной группе – в двукратной терапевтической дозе (80 г/голову). Коровам контрольной группы препарат не применяли. За животными вели наблюдение на протяжении всего периода введения препарата и 10 дней после его отмены. В ходе эксперимента оценивали следующие показатели: на 1, 7 и 16 сутки – масса тела, температура, пульс, дыхание, руминация, отбирали пробы крови для гематологического и биохимического анализов, а также пробы молока для подсчета количества соматических клеток. Ежедневно проводили наблюдение за общим состоянием животных, потреблением корма и воды, а также состоянием молочной железы. Последнее выполняли методом осмотра, поверхностной и глубокой (бимануальной) пальпации, определяли форму вымени, симметричность долей и сосков, целостность кожи, наличие болезненности, очагов уплотнения или размягчения.

При первичном осмотре (до введения препарата Мастигард) отмечено, что положение тела в пространстве каждой коровы естественное. Все опытные животные активные, проявляли интерес к корму и воде. В ответ на тактильное раздражение все особи реагировали сокращением кожи, поворачиванием головы, болевая чувствительность была сохранена.

Уровень аппетита и жажды коров соответствовали норме. Поза при дефекации была естественная, частота дефекации – каждые 1 – 2 часа. Фекалии у животных плотно-тестоватой консистенции, темно-бурого цвета. Мочевыделение

незатрудненное, частота мочеиспускания согласовывается с режимом кормления и количеством поступающей жидкости.

При клиническом осмотре вымени на первые сутки эксперимента отмечено здоровое состояние молочной железы всех подопытных коров. Молочная железа воронковидной формы, по величине средняя и выше средней, все четверти развиты равномерно. Длина сосков 6 – 7 см, диаметр 3 – 4 см, деформации нет. Целостность кожи сосков не нарушена, цвет розовый. При пальпации лимфатические узлы не определяются. Кровеносные сосуды наполнены, умеренно напряжены. Соски при пальпации безболезненные, мягкие. Тонус и проходимость сфинктера сохранены. Молоко при контрольном доении сдаивалось легко, имело белый цвет, характерную консистенцию. Посторонних примесей в молоке не обнаруживали.

В результате исследований установлено, что интрацистернальное введение препарата Мастигард в терапевтической и увеличенной дозах не оказало негативного влияния на общее состояние и клинические показатели животных. У животных не снижался аппетит, не наблюдалось достоверных различий между массами тела коров в опытных и контрольной группах (таблица 20).

Таблица 20 – Динамика живой массы тела коров за период опыта (n = 5)

Показатель	Группа		
	Контрольная группа	ОГ №1	ОГ №2
до введения			
Живая масса, кг	435,6 ± 20,19	430,4 ± 15,52	435,0 ± 21,25
на 7 сутки			
Живая масса, кг	436,2 ± 19,99	431,8 ± 15,08	435,8 ± 20,68
на 16 сутки			
Живая масса, кг	436,6 ± 19,4	432,2 ± 14,14	436,2 ± 20,82

Примечание: ОГ – опытная группа, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

До введения препарата, на 7 и 16 сутки значимых (достоверных) различий по показателям – температура тела, частота пульса и дыхания между опытными и контрольной группами выявлено не было. Так, на 7 сутки опыта, температура тела коров первой опытной группы составляла 38,5 ± 0,87 °С, второй опытной группы – 38,52 ± 0,79 °С, контрольной группы 38,76 ± 0,71 °С. Частота пульса на 7 сутки в первой и второй опытных группах, а также контрольной группах составила - 61,4 ±

2,99 уд/мин,  $62,0 \pm 5,41$  уд/мин и  $62,2 \pm 5,51$  уд/мин; частота дыхания –  $19,0 \pm 1,51$  д/мин,  $19,6 \pm 2,42$  д/мин и  $20,0 \pm 1,96$  д/мин (таблица 21).

Таблица 21 – Оценка физиологических показателей коров за период эксперимента (n = 5)

Показатель	Группа			Норма
	Контрольная группа	ОГ №1	ОГ №2	
до введения				
Температура, °С	$38,66 \pm 0,93$	$38,52 \pm 0,61$	$38,22 \pm 0,93$	37,5 - 39,5
Пульс, уд/мин	$61,0 \pm 3,82$	$62,6 \pm 3,79$	$62,4 \pm 4,69$	50 - 80
Дыхание, д/мин	$16,4 \pm 2,42$	$17,2 \pm 2,22$	$17,0 \pm 2,92$	12 - 25
Число сокращений рубца после кормления / 5 мин.	$9,6 \pm 1,89$	$10,0 \pm 1,96$	$10,0 \pm 1,24$	8 - 12
7 сутки				
Температура, °С	$38,76 \pm 0,71$	$38,5 \pm 0,87$	$38,52 \pm 0,79$	37,5 - 39,5
Пульс, уд/мин	$62,2 \pm 5,51$	$61,4 \pm 2,99$	$62,0 \pm 5,41$	50 - 80
Дыхание, д/мин	$20,0 \pm 1,96$	$19,0 \pm 1,51$	$19,6 \pm 2,42$	12 - 25
Число сокращений рубца после кормления / 5 мин.	$10,0 \pm 0,88$	$9,8 \pm 0,56$	$9,8 \pm 1,37$	8 - 12
16 сутки				
Температура, °С	$38,62 \pm 0,89$	$38,76 \pm 0,53$	$38,28 \pm 0,81$	37,5 - 39,5
Пульс, уд/мин	$63,6 \pm 6,89$	$61,8 \pm 4,51$	$64,6 \pm 4,17$	50 - 80
Дыхание, д/мин	$18,6 \pm 5,02$	$18,4 \pm 3,35$	$20,0 \pm 4,56$	12 - 25
Число сокращений рубца после кормления / 5 мин.	$10,0 \pm 1,24$	$10,4 \pm 1,42$	$10,6 \pm 1,42$	8 - 12

Примечание: ОГ – опытная группа,  $M \pm SD$  (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение), различия достоверны ( $*p \leq 0,05$ ) в сравнении с контрольными животными

При оценке жвачного процесса после кормления коров в состоянии покоя число сокращения рубца у всех животных были умеренной интенсивности, количество сокращений рубца в течение 5 мин, у всех животных соответствовало физиологическим нормам.

При обследовании коров на 7 сутки эксперимента у четырех коров из второй опытной группы (повышенная доза) при пальпации отмечено уплотнение паренхимы (по 2 доли). Отмечали проблемы со сдаиванием из этих долей вымени, во всех случаях секрет был водянистым желтоватого цвета с хлопьями казеина. В первой опытной группе изменений в молочной железе коров не было выявлено и соответствовало контрольной группе.

На 16 сутки эксперимента у коров из второй группы отмечали улучшение состояния – уплотнение паренхимы вымени при пальпации отсутствовали. При

сдаивании молоко у данных коров было естественного цвета, посторонние примеси в молоке не обнаруживались. В первой опытной группе также не было выявлено изменений в молочной железе коров не было выявлено и соответствовало контрольной группе.

Анализ динамики уровня соматических клеток (0-170 000) в молоке экспериментальных животных показал отсутствие раздражающего действия на ткани молочной железы на фоне применения препарата Мастигард в терапевтической дозе на протяжении 6 суток (табл. 16), что соответствует норме и полученным значениям в контрольной группе. У коров, которым вводили препарат в увеличенной дозе на следующие сутки после последнего приема препарата, отмечали увеличение соматических клеток выше нормативных значений (>170 000 – 500 000), что косвенно свидетельствует о местно-раздражающем действии на ткани вымени. В то же время установили, что выявленные изменения носят обратимый эффект, что подтверждается снижением уровня соматических клеток до нормы (0-170 000) и соответствует значению в контроле (0-170 000) (таблица 22).

Таблица 22 – Количество соматических клеток молоке коров (n=5)

№ группы	Количество соматических клеток в 1 мл		
	До введения	7 сутки опыта	16 сутки опыта
	0 – 170 000 (здоровы)		
	>170 000 – 500 000 (субклин. мастит)		
Первая опытная	0 – 170 000	0 – 170 000	0 – 170 000
Вторая опытная	0 – 170 000	>170 000 – 500 000	0 – 170 000
Контрольная группа	0 – 170 000	0 – 170 000	0 – 170 000



Рисунок 11 – Отбор проб молока для диагностика экспресс-тестом

Общий клинический анализ крови животных (таблица 23) показал, что после 6 суток ежедневного интрацистернального введения препарата Мастигард в двукратной терапевтической дозах, у коров опытных групп незначительно увеличилось содержание лейкоцитов ( $12,52 \pm 0,44 \times 10^9/\text{л}$ ), палочкоядерных нейтрофилов ( $5,8 \pm 1,04\%$ ), лимфоцитов ( $63,0 \pm 3,62\%$ ), однако полученные значения находились в пределах видовой нормы и имели обратимый характер.

Так, через 10 суток после прекращения введения препарата в двукратной терапевтической дозе количество лейкоцитов соответствовало первоначальным значениям, полученным до введения препарата (таблица 23). В целом увеличение данного показателя обосновано как длительным ежедневным введением препарата в сосковый канал, так и большим объемом при введении увеличенной дозы и связано с механическим воздействием на эпителий соскового канала.

Таблица 23 – Гематологические показатели крови подопытных животных  
(n = 5)

Показатель	До введения препарата			На 7 сутки опыта			На 16 сутки опыта		
	ОГ №1	ОГ №2	КГ	ОГ №1	ОГ №2	КГ	ОГ №1	ОГ №2	КГ
Гематокрит, %	38,2±1,6	40,8±2,2	39,6±3,9	39,6±3,4	41,2±2	39,8±3,1	40,0±2,9	38,8 ± 1,6	39,0 ± 3,2
Гемоглобин, г/л	103,8±6,4	104,8±7,2	100,2±8,8	104,2±8,2	98,2±8,8	102,8±8,2	101,4±9	100,4±7,3	102,8 ± 6,5
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	6,5±0,7	6,4±0,9	6,04±1	6,1±0,8	5,9±1,1	6,1±0,9	6,3±0,7	6,3 ± 0,5	6,48 ± 0,9
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	6,5±1,4	6,2±1,3	5,92±0,9	10,6±0,6	12,5±0,4	8,1±0,6	7,9±1,8	11,6 ± 2	7,4 ± 1,9
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	513±32	521±47	522±38	547± 29,5	544,6 ± 38,1	564±47	552±69,7	559 ± 63	558 ± 58
ПН, %	2,6±1,1	3,6±1,4	3,2±1,4	4,6±0,68	5,8 ± 1	3,4±0,7	3,6±1,1	3,8 ± 1	3,4 ± 0,7
СН, %	28,4±2,3	27,4±1,9	27,8±2	25,8±3,4	24,4 ±3,7	28,8±3,8	26,0±1,2	25,8 ± 2,7	27,0 ± 2,3
Эозинофилы, %	5,8±1,6	6,0±1,8	6,6±1,9	4,4±1,1	3,4 ± 1,7	6,0 ± 2	6,0±2	5,8 ± 1,4	6,4 ± 1,4
Моноциты, %	4,4±1,1	5,4±1,1	4,6±2,1	3,6±1,4	3,4 ± 1,4	4,0 ± 0,9	4,4±2,3	3,0 ± 1,5	3,6 ± 1,9
Лимфоциты, %	58,8±3,8	57,6±2,3	57,8±2	61,6±2,9	63,0 ± 3,6	57,8 ± 2,7	60,0±3,5	61,6 ± 3,9	59,6 ± 3,1

Примечание: ОГ – опытная группа, КГ – контрольная группа, ПН – палочкоядерные нейтрофилы, СН – сегментоядерные нейтрофилы, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

Таблица 24 – Биохимические показатели крови подопытных животных (n = 5)

Показатель	До введения препарата			На 7 сутки опыта			На 16 сутки опыта		
	ОГ №1	ОГ №2	КГ	ОГ №1	ОГ №2	КГ	ОГ №1	ОГ №2	КГ
Билирубин общий, мкмоль/л	5,6 ± 1	5,6 ± 1	5,9 ± 0,9	6 ± 0,8	5,8 ± 1,1	5,6 ± 1,2	5,7 ± 0,9	5,6 ± 0,9	5,6 ± 0,8
Билирубин прямой, мкмоль/л	1,3 ± 0,9	1,3 ± 0,9	1,6 ± 0,5	1,2 ± 0,7	1,1 ± 0,8	1,3 ± 0,4	1,02 ± 0,7	0,9 ± 0,4	1,1 ± 0,9
АСТ, Ед/л	76 ± 6,9	73,2 ± 12,1	79 ± 10,8	80,0 ± 9,7	82,6 ± 13,3	78,0 ± 11,1	74,2 ± 10,1	76,4 ± 15,6	78,8 ± 13,4
АЛТ, Ед/л	24,0 ± 5,4	21,0 ± 7,5	22,6 ± 4,4	20,0 ± 6,6	22,2 ± 6,9	18,4 ± 7,2	21,8 ± 5,9	20,2 ± 4,3	19,8 ± 7,8
Мочевина, ммоль/л	5,0 ± 1,1	4,9 ± 1,6	4,6 ± 0,8	5,4 ± 1,3	5,1 ± 2,5	5,6 ± 1,5	4,9 ± 1,5	5,6 ± 0,8	5,2 ± 1,2
Креатинин, мкмоль/л	84,3 ± 7,9	84,7 ± 8,6	82,8 ± 6,9	104,8 ± 35	108,3 ± 37,5	115,5 ± 40,2	84,6 ± 7,1	86,6 ± 7,4	84,1 ± 6,6
Общий белок, г/л	79,2 ± 5,1	81,0 ± 4	81,4 ± 4,9	79,6 ± 4,7	79,2 ± 3,3	81,2 ± 4,3	79,2 ± 4	77,6 ± 4,1	78,6 ± 2,9
Щелочная фосфатаза, Ед/л	112,2 ± 11,3	120,4 ± 26,3	117,0 ± 25,3	123 ± 18	126,0 ± 24,4	128,4 ± 17,1	125,8 ± 20,3	127,2 ± 19,7	117,2 ± 20,7

Примечание: ОГ - опытная группа, КГ - контрольная группа, М±SD (среднее значение±стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

Результаты исследований сыворотки крови (таблица 24) свидетельствовали о том, что биохимические показатели крови экспериментальных животных не имели статистически достоверных отличий от аналогичных показателей контрольных особей до введения испытуемого препарата, а также на 7 и 16 сутки эксперимента.

Испытуемый препарат при ежедневном интрацистернальном введении в течение 6 суток (превышая курсовой прием в два раза) в терапевтической дозе не вызвал изменений в состоянии молочной железы экспериментальных животных. Длительное применение препарата в увеличенной дозе приводило к умеренным изменениям в молочной железе у четырех коров, проявляющимся в виде уплотнения паренхимы вымени, а также незначительном изменении характера и количества секрета, получаемого при контрольном сдаивании. Через 10 суток после завершения применения испытуемого препарата в группе, получавшей увеличенную дозу, наблюдали восстановление состояния молочной железы и ее секрета у экспериментальных животных.

Таким образом, в результате проведенного исследования субхронической токсичности (переносимости) на целевых видах животных установлено, что длительное применение терапевтической дозы препарата Мастигард не вызывает местно-раздражающего действия на молочную железу. Препарат в терапевтической и повышенной дозах не оказывает патологического системного влияния на организм коров. При увеличении дозы и кратности введения препарата, рекомендуемые инструкцией, приводит к раздражению тканей молочной железы, однако данные изменения самостоятельно купируются после отмены препарата.



### 3.2.4 Оценка эмбриотоксического и тератогенного действия препарата Мастигард

Исследование эмбриотоксического и тератогенного действия лекарственного препарата Мастигард в период беременности проводили в соответствии с «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005) и в соответствии с ГОСТ 32379—2013, на базе вивария СНИОКР (ООО «НИТА-ФАРМ») на 48 самках белых аутбредных крыс массой  $240 \text{ г} \pm 10\%$ , возрастом 12-14 недель (на начало исследований), которых разделили на 2 опытных и 1 контрольную группу по 16 голов в каждой. Исследование оценки влияния лекарственного препарата на потомство в период лактации проводили на 24 самках белых аутбредных крыс в возрасте 10-12 недель, массой  $240 \pm 10\%$  на начало эксперимента, которых разделили на три группы (2 опытные и 1 контрольная).

Для получения потомства самок всех групп ссаживали с самцами, наступление беременности определяли по наличию сперматозоидов в вагинальном мазке (рисунок 12).



Рисунок 12 – Вагинальный мазок на наличие сперматозоидов, увеличение 40x

С 1-го дня беременности самкам опытных групп начинали внутрижелудочное, с помощью зонда, введение лекарственного препарата

Мастигард продолжительностью 20 дней. В первой опытной группе вводили препарат в терапевтической дозе, равной 0,11 мл/100 г массы тела животного, во второй опытной группе препарат вводили в двукратной терапевтической дозе – 0,22 мл/100 г массы тела животного, в контрольной группе вводили воду для инъекций в объеме, равном 0,22 мл/100 г массы тела животного. С 1-го дня лактации (день родов) самкам опытных групп начинали внутрижелудочное, с помощью зонда, введение лекарственного препарата Мастигард продолжительностью 30 дней. В четвертой опытной группе вводили препарат в терапевтической дозе, равной 0,11 мл/100 г массы тела животного, в пятой опытной группе препарат вводили в двукратной терапевтической дозе – 0,22 мл/100 г массы тела животного, в контрольной группе вводили воду для инъекций в объеме, равном 0,22 мл/100 г массы тела животного. Лекарственный препарат для интрацистернального применения вводили крысам внутрижелудочно с помощью зонда, так как данный способ обеспечивает наиболее точное определение введенной дозы и дает возможность изучить эмбриотоксическое и тератогенное действие на потомство при системном применении самкам крыс.

Оценку эмбриотоксического и тератогенного действия (при введении препарата в период беременности) проводили на основании полученных данных в результате проведения аутопсии самок крыс на 20-й день беременности по следующим показателям: количество эмбрионов; количество живых эмбрионов; количество резорбций; количество желтых тел; количество имплантаций; постимплантационная гибель; предимплантационная гибель; диаметр плаценты; краниокаудальный размер плода; масса плода; анатомические аномалии развития. Расчет показателей проводили по следующим формулам (Красовский Г.Н., 1984):

- предимплантационная гибель (%), которую определили по разности между количеством желтых тел в яичниках и количеством мест имплантации в матке по формуле [9]:

$$(B-(A+B))/ B \times 100 \quad (2)$$

- постимплантационная гибель (%), которую определили по разности между количеством мест имплантаций и количеством живых плодов по формуле [9]:

$$B/(A+B) \times 100 \quad (3)$$

- общая эмбриональная смертность (%), которую определили по формуле [9]:

$$(B-A)/B \times 100 \quad (4)$$

- показатель внутриутробной выживаемости (%) определили по формуле [9]:

$$(A/B) \times 100 \quad (5)$$

где А – число живых эмбрионов; В – число мертвых эмбрионов и число резорбций; В – количество желтых тел беременности.

- плодово-плацентарный индекс, который отразил отношение массы плаценты к массе плода;

Все полученные после аутопсии эмбрионы от каждой самки разделили на две равные части: первую использовали для изучения внутренних органов по методике Вильсона, вторую – костных структур по методике Доусона.

За оставшейся частью самок (8 голов) опытной и контрольной групп (в группах как при введении препарата в период беременности, так и в период лактации) наблюдали за следующими показателями: патологиями родовой деятельности, количеством приплода, количеством живых и мертвых плодов и их соотношением, аномалиями развития, количество самцов и самок, их соотношением. Оценку физического развития потомства проводили по следующим параметрам: масса тела на 0, 4, 7, 14 и 20 день жизни, отлипание ушной раковины, появление первичного покрова, прорезывание резцов, открытие глаз, опускание семенников и открытие влагалища, а также оценивали скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов.

### 3.2.4.1 Оценка эмбриотоксического и тератогенного действия на потомство при введении препарата Мастигард самкам в период беременности

В результате проведенного исследования установлено, что в период беременности общее состояние животных соответствовало норме с учетом их физиологического статуса (беременности). В период введения препарата группе беременных самок, не было зарегистрировано случаев гибели животных или признаков их интоксикации, а также отказа от корма/воды.

Масса тела самок крыс опытных и контрольной групп в период беременности имела тенденцию увеличения, с учетом их физиологического статуса (беременности). Потери веса у самок в период введения препарата отмечены не были. Результаты наблюдений за массами тела самок в опытных и контрольных группах в период беременности представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Средние значения массы тела самок опытных и контрольной групп в период беременности при введении препарата Мастигард (n = 16)

Показатель/Группа	ОГ №1	ОГ №2	Контрольная группа
Вес 1 день (г)	237,5 ±14,83	237,5±7,75	234,38±17,11
Вес 7 день (г)	253,75±19,36	258,44±12,61	258,13±15,37
Привес за неделю (г)	16,25*±9,04	20,94±11,29	23,75±8,85
Вес 14 день (г)	279,06±27,88	278,75*±18,39	290,94±18,1
Привес за неделю (г)	25,31*±10,56	20,31*±11,61	32,81±6,32
Вес 20 день (г)	312,56*±35,81	316,31*±29,51	332,38±22,41
Привес за неделю (г)	33,5±16,99	37,56±21,6	41,44±12,18
Итоговый привес (г)	75,06*±25,7	78,81*±28,56	98±19,99

Примечание: ОГ - опытная группа, М±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

На 20-й день беременности отмечали статистические различия в привесах и массе тела беременных крыс, получавших препарат в обеих дозах в сравнении с контрольной группой. При этом разница в среднем составила 5-7%, и объясняется количеством плодов, так как в опытных группах среднее

значение плодов меньше, чем у контрольной группы, но не выходит за интервал видовой нормы (в норме количество приплода у крыс составляет 1-20 особей).

По данным проведенной аутопсии (таблица 26) установлены статистические значимые отличия ( $p \leq 0,05$ ) по количеству эмбрионов в первой и во второй опытных группах. У опытных групп в среднем на 2 эмбриона было меньше в сравнение с контрольной группой. При этом данные показатели не отличаются от показателей видовой нормы (в норме количество приплода у крыс составляет 1-20 особей) [Беляков В. И., 2008]. Общее количество эмбрионов равно количеству живых эмбрионов, что говорит об отсутствии гибели плодов в опытных и контрольной группах (рисунок 13).



Рисунок 13 - Эмбрионы при аутопсии самки 2-й опытной группы

Таблица 26 – Средние значения показателей при аутопсии крыс опытных и контрольной группах при введении препарата Мастигард в период беременности (n=8)

Показатель/Группа	ОГ №1	ОГ №2	Контрольная группа
Кол-во эмбрионов	9,71*±2,06	9,86*± 3,02	11,88±2,3
Кол-во живых	9,71* ±2,06	9,86*±3,02	11,88±2,3

Продолжение таблицы 26

Показатель/Группа	ОГ №1	ОГ №2	Контрольная группа
Кол-во резорбированных	0,14 ±0,38	0,3±0,49	0,38±0,52
Кол-во мест имплантации	10,4* ±1,4	10±3,08	12,25±2,44
Кол-во желтых тел	12,3*±2,21	11,9*±1,86	14,38±2,2
Предимплантационная гибель (%)	18,88 ±17,5	11,9±27,3	14,65±10,49
Постимплантационная гибель (%)	0,6* ±1,64	2,69±4,7	2,88±4,05
Диаметр плаценты (мм)	12,3 ±0,54	12,07±0,39	12,32±0,49
Масса плаценты (г)	0,5±0,06	0,48±0,059	0,52±0,05
Краниокаудальный размер (мм)	25,2 ±1,96	25,18±1,21	24,48±1,63
Масса плодов (г)	1,47 ±0,3	1,5±0,13	1,49±0,19
Плодово -плацентарный индекс	0,34 ±0,04	0,32±0,03	0,35±0,04
Общая эмбриональная смертность (%)	20,1 ±16	14±27,02	17,24±10,51
Внутриутробная выживаемость (%)	79,9 ±16,2	85,6±27,02	82,76±10,51

Примечание: ОГ - опытная группа, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

Во всех группах в среднем количество желтых тел было больше на 2-2,3 экземпляра по отношению к количеству живых эмбрионов, что, по-видимому, характерно для данной линии крыс.

В опытных группах, получавших препарат в терапевтической и повышенной дозах, показатель постимплантационной гибели был ниже, чем в контрольной группе. Уменьшение данного показателя в опытных группах относительно контрольной группы подтверждает отсутствие эмбриотоксического действия.

Предимплантационная гибель, эмбриональная смертность, внутриутробная выживаемость, плодово-плацентарный индекс в опытных и контрольной группах не отличались (рисунок 14).



Рисунок 14 – Плацента самок крыс контрольной группы при аутопсии

В результате проведенного исследования эмбрионов по методике Вильсона в опытных и контрольной группах было выявлено, что органы головы, грудной и брюшной полости расположены правильно. Аномалий развития, гипертрофии внутренних органов, наличие кровоизлияний и патологических изменений в них отмечено не было (рисунок 15, 16).



Рисунок 15 – Эмбрионы после фиксации в растворе Буэна для исследования по методике Вильсона



Рисунок 16 – Исследование эмбрионов по методике Вильсона

В дополнении к данному исследованию были отобраны образцы печени от 45 эмбрионов (по 15 проб от каждой группы) для исследования массы печени и ее соотношения к средней массе тела эмбрионов. В контрольной группе в среднем масса печени эмбрионов составила  $0,122 \pm 0,028$  г, в первой опытной группе –  $0,122 \pm 0,016$  г, во второй опытной группе –  $0,124 \pm 0,024$  г ( $p \leq 0,05$ ). На основании полученных результатов было рассчитано соотношении средней массы печени к средней массе эмбрионов, которое составило 8,2% в контрольной группе и 8,3% в опытных группах соответственно. Анализ данных не выявил статистически значимых ( $p \leq 0,05$ ) отличий по данному показателю.

В результате проведенного исследования эмбрионов по методике Доусона (таблица 27) установлено, что статистически значимых отличий при исследовании в первой и во второй опытных группах в сравнении с контрольной группой не выявлено. Размер бедренной кости, степень оссификации и количество проксимальных и дистальных фаланг грудных и тазовых конечностей в опытных и контрольной группах не имеют различий Смещенных (неправильно сочлененных), сращенных, удвоенных, дефектных позвонков и ребер в опытных и контрольных группах не выявлено (рисунок 17).



Таблица 27 – Средние значения при исследовании эмбрионов по методике Доусона

Группа	Размер бедренной кости (см)	Осифицированных позвонков хвоста (%)	Осификация и количество ребер (числ.)	Осифицированных проксимальных фаланг на передней конечности (числ.)	Осифицированных дистальных фаланг на передней конечности (числ.)	Осифицированных пястных костей и костей плюсны (числ.)	Осифицированных дистальных фаланг на задней конечности (числ.)	Осифицированных проксимальных фаланг на задней конечности (числ.)
ОГ №1	0,1033±0,005	100±0	13±0	3±0	3±0	3±0	3±0	3±0
ОГ №2	0,10195±0,0069	100±0	13±0	3±0	3±0	3±0	3±0	3±0
Контрольная группа	0,10363±0,0021	100±0	13±0	3±0	3±0	3±0	3±0	3±0
Среднее значение (M±SD)	0,10297±0,009	100±0	13±0	3±0	3±0	3±0	3±0	3±0

Примечание: ОГ – опытная группа, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными



Роды у самок в первой и во второй опытных группах протекали без осложнений, продолжительность беременности у всех самок составила 21-22

дня, что не отличается от показателей видовой нормы (норма беременности у крыс составляет 21-24 дня) [Беляков В. И., 2008] и контрольной группы.

Таблица 28 – Средние значения массы тела лактирующих самок опытных и контрольной групп (n=8)

Показатель/Группа	ОГ №1	ОГ №2	Контрольная группа
Вес день родов (0 день) (г)	280,25±21,1	273,88±17,8	286,5±26,12
Вес 4 день ПР (г)	287,13±18,6	287,25±16,36	294,25±20,1
Привес (г)	6,88±9,34	13,38±7,5	7,75±9,44
Вес 7 день ПР (г)	298,75±25,2	298,3±17,85	308,88±14,9
Привес (г)	11,63±12,6	11,38±10,53	14,63±9,99
Вес 14 день ПР (г)	296,88±22,15	298,5±16,26	308,88±8,95
Привес (г)	-1,88±10,92	-0,13±5,8	0
Вес 20 день ПР (г)	295,63±21,8	293,125±15,0	298,63±10,13
Привес (г)	-1,25*±5,99	-11,5±15,38	-14,63±10,95
Итоговый привес (г)	15,38±12,02	19,25*±6,48	12,13±21,45

Примечание: ОГ - опытная группа, ПР – после родов, М±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\* $p \leq 0,05$ ) в сравнении с контрольными животными

По результатам исследования (таблица 28) видно, что массы тела беременных самок в первой и во второй опытных и контрольной группах в период лактации статистически не отличаются. Отмечена динамика уменьшения массы тела самок после 14 суток лактации во всех группах, что объясняется метаболическими процессами в послеродовом периоде, связанными с выкармливанием потомства и является физиологической нормой.

Привесы массы тела беременных самок опытных групп имела статистические отличия в сторону меньшей потери массы в сравнении с контролем, что также объясняется метаболическими процессами в организме в послеродовом периоде и не является патологией.

По результатам исследования физиологического развития потомства от самок, получавших препарат в период беременности (таблица 29) установлено, что в опытных группах самок, масса тела потомства статистически отличалась ( $p \leq 0,05$ ) на 14-й и 20-й день жизни и превышала массу тела потомства контрольной группы, при этом все значения не

выходили за границы видовой нормы (норма массы тела потомства крыс составляет 36-58 г) [Беляков В.И., 2008].

Таблица 29 – Средние значения физических показателей потомства от самок 1, 2 опытных и контрольной групп (n=8)

Группа	ОГ №1	ОГ №2	Контрольная группа
Кол-во приплода	9,25±2,82	10,13±2,1	10,75±1,49
Кол-во живых	9,25±2,82	10,13±2,1	10,75±1,49
Кол-во мертвых	0	0	0
Кол-во самок	4,5±1,31	5,88±1,36	4,9±1,73
Кол-во самцов	5,25±2,71	4,38*±1,92	7±2,14
Соотношение самки/самцы	0,70±0,39	1,94±1,74	0,75±0,37
Соотношение живых/мертвых	0	0	0
Вес 0 день потомства (г)	6,72±0,63	6,67±0,57	6,41±0,2
Вес 4 день потомства (г)	11,54±2,06	10,8±0,92	11,15±0,87
Вес 7 день потомства (г)	17,55±1,77	16,94±1,64	16,4±1,94
Вес 14 день потомства (г)	32,58*±2,81	31,74*±2,7	27,62±3,62
Вес 20 день потомства (г)	48,58*±4,2	46,58*±3,0	38,88±5,2

Примечание: ОГ – опытная группа, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

В ходе наблюдения за физическим развитием потомства в опытных и контрольной группах не было установлено статистически значимых (p≤0,05) отличий (таблица 30). Открытие влагалища у крысят опытных и контрольных групп произошло на 3 дня позже, чем видовая норма. Так как полученные результаты по данному показателю у крысят опытных групп не отличаются от данных контрольной группы, то открытие влагалища на 40-е сутки является нормой для данной линии крыс.

Таблица 30 – Средние значения показателей физиологического развития потомства самок 1, 2 опытных и контрольной групп (n=8)

Группа	ОГ №1	ОГ №2	Контрольная группа	Норма (дни)
Отлипание ушной раковины (день)	2,38±0,52	2,13±0,35	2,38±0,52	Со 2
Появление первичного покрова (день)	5,25±0,46	5,13±0,35	5±0	5
Прорезывание резцов (день)	8,35±0,52	8±0	8±0	8
Открытие глаз (день)	15±0,93	14,63±0,92	14,75±0,76	12-16
Опускание семенников (день)	25±0	25,13±0,35	25±0	25-28
Открытие влагалища (день)	40±0	40±0	40±0	30-37

Примечание: ОГ – опытная группа, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

В ходе наблюдения за развитием потомства, полученного от опытных и контрольных самок, оценили скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов (таблица 31).

Таблица 31 – Средние значения показателей сенсорно- двигательного развития потомства самок 1-й, 2-й опытных и контрольной группы (n=8)

Группа	ОГ №1	ОГ №2	Контрольная группа
Переворачивание на плоскости (день)	2,13±0,35	2±0	2,13±0,35
% выполнения на 2-ой день	95,31±13,23	100±0	92,19±22,1
Отрицательный геотаксис (день)	6,38±0,74	6,63±1,3	6,5±0,93
% выполнения на 5-ый день	61,83±25,1	68,3±24,9	62,5±24,1
Удержание на горизонтальной веревочке (день)	5,88±0,35	5,25*±0,46	5,75±0,46
Среднее значение удержания на веревочке (сек)	10,67*±1,99	11,69±2,23	12,53±3,92
Избегание обрыва (день)	6,5±0,76	6,75±1,04	6,75±0,89
% выполнения на 6-ой день	90,18±15,15	71,88±33,9	79,69±22,1

Примечание: ОГ – опытная группа, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

Формирования рефлекса переворачивание на плоскости у крысят во всех группах было завершено в среднем на 2-й день. Процент выполнения на 2-й день составил в среднем 96%. Значимых отличий ( $p \leq 0,05$ ) по данному рефлексу среди групп не выявлено.

Рефлекс отрицательный геотаксис был сформирован во всех группах в среднем на 6-й день, процент выполнения на 5-й день в среднем составил 64%. Значимых отличий ( $p \leq 0,05$ ) по данному рефлексу между группами не выявлено.

Рефлекс удержания на горизонтальной веревочке в среднем был сформирован на 6-й день, а время удержание в среднем составило 11,6 сек. Рефлекс удержания на горизонтальной веревочке в секундах у потомства в первой опытной группе был меньше ( $p \leq 0,05$ ) на 1,86 секунды в сравнении с контрольной группой. Данный показатель не оказывает влияние на степень формирования рефлекса и объясняется большой вариативностью значений полученных у потомства крыс (рисунок 18).

Рефлекс удержания на горизонтальной веревочке в днях во 2-й опытной группе был сформирован на 0,5 дня быстрее ( $p \leq 0,05$ ), чем в контрольной, при этом значения не отличались от видовой нормы (в среднем формирование рефлекса происходит на 5-й день);

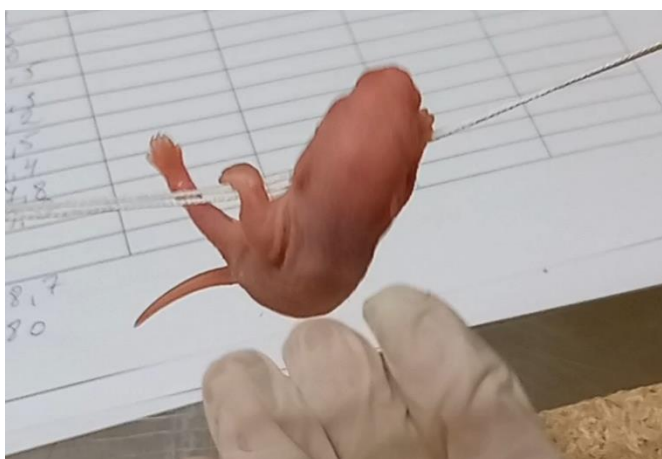


Рисунок 18 – Проведение теста «Удержание на горизонтальной веревочке» у крысят 2-й опытной группы

Рефлекс избегание обрыва в среднем у опытных и контрольной групп был сформирован на 7-е сутки, процент выполнения на 6-й день составил в среднем 80,6%. Отличий по данному рефлексу среди групп не выявлено ( $p \leq 0,05$ ).

Реакция на акустический стимул во всех группах была сформирована на 8-й день, процент выполнения составил 100%;

Избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом, во всех группах было исполнено на 14-й день, процент выполнения составил 100% (рисунок 19).



Рисунок 19 – Проведение теста «Избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом» у крысят 1-ой опытной группы

При проведении теста «Открытое поле» (таблица 32) установлено, что рефлекс поднимания головы во всех группах был сформирован в среднем на 8-9-й день, процент выполнения на 8-й день составил в среднем 83%. Отличий среди опытных и контрольной групп не выявлено.

Рефлекс ползания во всех группах был сформирован в среднем на 9-й день, процент выполнения на 9-й день составил 93%. Из данных таблицы 26 видно, что у потомства 2-й опытной группы рефлекс ползания был сформирован раньше, чем у потомства контрольной группы, при этом не отличался от видовой нормы (в среднем формирование рефлекса происходит на 9-й день).

Опора на задние конечности (рисунок 20) у потомства всех групп была сформирована в среднем на 14-й день. У потомства во 2-й опытной группе

количество пройденных квадратов в исследовании на 13-й – 15-й день на 4 квадрата больше, чем в контрольной группе. У потомства в 1-й опытной группе количество умываний в среднем на одно больше, чем в контрольной группе. Данные отличия объясняются большой вариативностью потомства крыс, и не являются показателями негативного влияния на развитие двигательной активности потомства.



Рисунок 20 – Проведение теста «Опора на задние конечности» у крысят контрольной группы

Количество пройденных крысятами квадратов, количество стоек, количество умываний, количество побегов, учитываемые в тесте «Открытое поле», у потомства во всех группах были сформированы на 20-й день. Из данных таблицы 26 видно, что имеются отличия ( $p \leq 0,05$ ) у потомства 1-й опытной группы – количество побегов на 2 меньше, чем в контрольной группе. Данные отличия объясняются большой вариативностью потомства крыс, и не являются показателями негативного влияния на развитие двигательной активности потомства.

Таблица 32 – Средние значения показателей теста «Открытое поле» потомства самок опытных и контрольной групп (n=8)

Показатель/Группа		ОГ №1	ОГ №2	Контрольная группа
Поднимание головы (дни)		8,38±0,52	8,63±0,52	8,5±0,76
% выполнения на 8-й день		85,5±20,8	82,37±16,6	81,25±25,88
Ползание (дни)		9±0	9,13*±0,35	9,5±0,76
% выполнения на 9-й день		100±0	92,19±22,1	87,5±18,9
Опора на задние конечности	Кол-во квадратов	38,17±5,04	40,26*±4,4	36±13,1
	Кол-во стоек	3,16±1,06	3,13±1,44	2,89±1,49
	Кол-во умываний	2,59*±0,68	1,5±0,38	1,4±0,43
	Кол-во побегов	1,51±0,42	1,46±0,61	1,4±0,6
	День выполнения	14,4±0,92	14,1±0,84	13,9±0,83
Открытое поле	Кол-во квадратов	48±0	47,6±1,06	48±0
	Кол-во стоек	12,4±2,17	14,6±1,77	13,9±2,34
	Кол-во умываний	1,44*±0,22	1,52±0,8	1,22±0,19
	Кол-во побегов	2,99*±0,55	5,07±1,55	4,2±1,55
	День выполнения	20±0	20±0	20±0

Примечание: ОГ – опытная группа, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

Таким образом, внутрижелудочное введение препарата Мастигард в терапевтической и двукратно повышенной дозах не оказывает тератогенного эффекта и эмбриотоксического действия на потомства в антенатальный и постнатальный период развития.

### 3.2.4.2 Оценка влияния лекарственного препарата Мастигард на постнатальное развитие потомства при введении самкам в период лактации

Роды у самок всех групп протекали без осложнений, продолжительность беременности у всех самок составила 21-22 дня, что не отличается от



показателей видовой нормы (норма беременности у крыс составляет 21-24 дня) [Беляков В.И., 2008].

В результате проведенного исследования (таблица 33) установлено, что массы тела самок в 4-й опытной группе статистически отличалась и имела тенденцию к меньшему снижению веса по сравнению с контрольной. Масса тела самок в 5-й опытной группе имела статистические отличия в день рождения потомства и была больше, чем в контрольной группе. Дальнейшая динамика масс тела самок 5-й опытной и контрольной групп в послеродовом периоде не отличалась.

Отмечена динамика уменьшения массы тела самок во всех группах после 14 суток лактации, что объясняется метаболическими процессами в послеродовом периоде, связанными с выкармливанием потомства, и является физиологической нормой.

Таблица 33 – Средние значения массы тела самок опытной и контрольной группы в послеродовом периоде (n=8)

Показатель/Группа	ОГ №4	ОГ №5	Контрольная группа
Вес день родов (0 день) (г)	297,38*±24,78	291,38*±12,8	273,9±28,1
Вес 4 день ПР (г)	305,63*±19,3	293,13±20,84	285,85±31,35
Привес (г)	8,25±9,08	1,75±12,37	12±8,2
Вес 7 день ПР (г)	308,25±27,89	293,88±20,88	288,57±19,46
Привес (г)	2,63±19,97	0,75±11,99	2,7±24,43
Вес 14 день ПР (г)	299,75±22,4	296,13±29,57	286,29±24,43
Привес (г)	-8,5±8,14	2,25±16,18	-2,29±11,9
Вес 20 день ПР (г)	296,38*±26,32	283,63±21,47	273,43±22,15
Привес (г)	-3,38*±9,77	-12,5±14,3	-12,5±13,32
Итоговый привес	-1±25,7	-7,75±17,86	-0,43±28,8

Примечание: ОГ – опытная группа, ПР – после родов, М±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

По результатам исследования физического развития потомства (таблица 34) установлено, что в четвертой и пятой опытной группе имеются

статистические отличия по показателю масса потомства на 20-й день. При этом масса потомства опытных групп выше, чем у контрольной. По остальным показателям статистически значимых отличий не выявлено.

Таблица 34 – Средние значения показатели развития потомства самок опытных и контрольной групп (n=8)

Показатель/Группа	ОГ №4	ОГ №5	Контрольная группа
Кол-во приплода	11,88±3,04	11±4,47	10,29±2,14
Кол-во живых	11,88±3,04	11±4,47	10,29±2,14
Кол-во мертвых	0	0	0
Кол-во самок	4,88±1,73	5,88±2,67	4,71±1,6
Кол-во самцов	7±2,14	4,5±2,56	5,57±0,98
Соотношение самки/самцы	0,75±0,4	1,06±0,85	0,86±0,3
Соотношение живых/мертвых	0	0	0
Вес 0 день потомства (г)	6,25±0,51	6,42±0,44	6,49±0,6
Вес 4 день потомства (г)	11,15±0,87	11,16±1,1	11,6±2,47
Вес 7 день потомства (г)	18,66±2,59	18,7±4,17	17,95±3,35
Вес 14 день потомства (г)	34,12±3,33	35,28±3,03	33,38±5,69
Вес 20 день потомства (г)	51,85*±3,58	57,24*±5,44	47,8±11,19

Примечание: ОГ - опытная группа, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

При наблюдении за физиологическим развитием потомства от самок четвертой и пятой опытных и контрольных групп не было выявлено статистически значимых отличий (таблица 35). Открытие влагалища у крысят опытных и контрольных групп произошло на 3 дня позже, чем видовая норма. Так как полученные результаты по данному показателю у крысят опытных групп не отличаются от данных контрольной группы, то открытие влагалища на 40-е сутки является нормой для данной линии крыс.

Таблица 35 – Средние значения показателей физиологического развития потомства самок опытных и контрольной групп (n=8)

Показатель/Группа	ОГ №4	ОГ №5	Контрольная группа	Норма (дни)
Отлипание ушной раковины (день)	2,13±0,35	2,13±0,35	2,29±0,49	Со 2
Появление первичного покрова (день)	5,13±0,35	5±0	5,14±0,38	5
Прорезывание резцов (день)	8±0	8±0	8±0	8
Открытие глаз (день)	14,5±0,76	14±0,53	14,43±0,77	12-16
Опускание семенников (день)	25±0	25±0	25±0	25-28
Открытие влагалища (день)	40±0	40±0	40±0	30-37

Примечание: ОГ - опытная группа, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

В ходе наблюдения за развитием потомства, полученного от опытных и контрольных самок, оценили скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов (таблица 36).

Формирования рефлекса переворачивание на плоскости у потомства во всех группах было завершено в среднем на 2-й день, процент выполнения на 2-й день составил в среднем 98,6%. Статистически значимых отличий (p≤0,05) по данному рефлексу среди групп не выявлено.

Рефлекс отрицательный геотаксис был сформирован у всех групп в среднем на 6-й день, процент выполнения на 5-й день в среднем составил 88%. Статистически значимых отличий (p≤0,05) по данному рефлексу среди групп не выявлено.

Рефлекс удержание на горизонтальной веревочке в среднем был сформирован на 5-й день, а время удержание в среднем составило 11,4 сек. У потомства крыс 4-й опытной группы отмечено увеличение (p≤0,05) длительности удержания крысят на горизонтальной веревочке на 1,9 секунды в сравнении с потомством контрольной группы.

Рефлекс удержания на горизонтальной веревочке в днях у потомства 5-ой опытной группы был сформирован на 0,3 дня быстрее, чем у потомства контрольной группы, при этом не отличался от видовой нормы (в среднем формирование рефлекса происходит на 5-й).

Рефлекс избегание обрыва в среднем у опытных и контрольной групп был сформирован на 6-е сутки, процент выполнения на 6-й день составил в среднем 93%. Статистически значимых отличий ( $p \leq 0,05$ ) по данному рефлексу среди групп не выявлено.

Реакция на акустический стимул у потомства от опытной и контрольной групп была сформирована на 8-ой день, процент выполнения составил 100%.

Избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом, у потомства во всех группах было выполнено на 14-й день, процент выполнения составил 100%.

Таблица 36 – Средние значения показателей сенсорно- двигательного развития потомства самок 4-й, 5-й опытной и контрольной групп

Показатель/Группа	ОГ №4	ОГ №5	Контрольная группа
Переворачивание на плоскости (день)	2,13±0,35	2,13±0,35	2±0
% выполнения на 2-ой день	98,44±4,42	97,5±7,1	100±0
Отрицательный геотаксис (день)	6±0,76	5,3±0,46	5,57±0,53
% выполнения на 5-ый день	81,3±11,57	93,3±12,44	89,29±11,23

## Продолжение таблицы 36

Показатель/Группа	ОГ №4	ОГ №5	Контрольная группа
Удержание на горизонтальной веревочке (день)	5,3±0,46	5,13*±0,35	5,43±0,53
Среднее значение удержания на веревочке (сек)	9,72*±2,11	16,8±21,82	7,79±2,03
Избегание обрыва (день)	6,38±0,52	6,3±0,46	6,14±0,38
% выполнения на 6-ой день	92,2±11,45	91,88±15,57	94,64±14,17

Примечание: ОГ – опытная группа,  $M \pm SD$  (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение), различия достоверны ( $*p \leq 0,05$ ) в сравнении с контрольными животными

При проведении теста «Открытое поле» (таблица 37) установлено, что рефлекс поднимание головы у потомства во всех группах был сформирован в среднем на 8-й день, процент выполнения на 8-й день составил в среднем 95%. Статистически значимых отличий ( $p \leq 0,05$ ) среди опытных и контрольной групп не выявлено.

Рефлекс ползания у крысят в опытных и контрольной группах был сформирован в среднем на 9-й день, процент выполнения на 9-й день составил 100%.

Опора на задние конечности у потомства во всех группах была сформирована в среднем на 13-й день. В опытных группах количество пройденных крысятами квадратов, количество стоек, количество умываний, количество побегов не имеет статистически значимых отличий в сравнении с контрольной группой.

Количество пройденных крысятами квадратов, количество стоек, количество умываний, количество побегов, учитываемые в тесте «Открытое поле», у потомства во всех группах были сформированы на 20-й день. Отличий в результатах исследования потомства от самок опытных и контрольной групп в тесте «Открытое поле» не выявлено.

Таблица 37 – Среднее значения показателей теста «Открытое поле» потомства самок 4-й, 5-й опытных и контрольной групп (n=8)

Показатель/Группа		ОГ №4	ОГ №5	Контрольная группа
Поднимание головы (дни)		8,13±0,35	8,13±0,35	8,14±0,38
% выполнения на 8-й день		95,31±13,26	94,64±15,15	96,43±9,45
Ползание (дни)		9±0	9±0	9±0
% выполнения на 9-й день		100±0	100±0	100±0
Опора на задние конечности	Кол-во квадратов	33,67±6,42	37,9±6,73	37,9±7,74
	Кол-во стоек	2,69±0,74	2,99±0,84	2,93±0,9
	Кол-во умываний	1,42±0,35	1,64±0,63	1,36±0,43
	Кол-во побегов	1,36±0,55	1,65±0,88	1,47±0,79
	День выполнения	13,5±0,53	13±0	13,14±0,38
Открытое поле	Кол-во квадратов	48±0	48±0	48±0
	Кол-во стоек	11,7±3	12,9±5,33	11,09±4,41
	Кол-во умываний	1,41±0,91	1,92±1,4	1,7±1,03
	Кол-во побегов	5,75±1,72	5,28±1,0	5,28±1,68
	День выполнения	20±0	20±0	20±0

Примечание: ОГ – опытная группа, M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

Таким образом, внутрижелудочное введение лактирующим крысам препарата Мастигард в терапевтической и двукратно повышенной дозах не влияет на физическое и сенсорно-двигательное развитие потомства в постнатальном периоде.

Таким образом по результатам проведенного исследования по оценки эмбриотоксического и тератогенного действия лекарственного препарата Мастигард при внутрижелудочном введении терапевтической и двукратно увеличенной дозы самкам в период беременности установлено, что:

- не выявлено общетоксического действия на организм беременных крыс;
- не оказывает эмбриолетального действия;
- не оказывает тератогенного эффекта;
- не оказывает эмбриотоксического действия;
- не влияет на физическое и сенсорно-двигательное развитие потомства.

По результатам проведенного исследования по оценке влияния лекарственного препарата Мастигард на потомство в постнатальный период развития при внутрижелудочном введении терапевтической и двукратно увеличенной дозах самкам в период лактации установлено, что:

- не выявлено общетоксического действия на организм лактирующих самок;
- не оказывает эмбриотоксического действия;
- не влияет на физическое и сенсорно-двигательное развитие потомства.

В результате проведенного исследования можно сделать вывод, что внутрижелудочное введение самкам крыс терапевтической и двукратно повышенной доз препарата Мастигард безопасно при применении в период беременности и лактации, так как не оказывает негативного влияния на развитие потомства в антенатальный и постнатальный период.

### 3.3 Эффективность препарата Мастигард в лечении мастита коров

Исследования терапевтической эффективности препарата Мастигард проведены на базе хозяйства Саратовской области (сельскохозяйственный производственный кооператив «Красавский» Лысогорского района) на 120 головах лактирующих коров симментальской породы в возрасте 4-5 лет (3-я, 4-я лактации), с диагнозами – субклинический и клинический (серозный, катаральный, фибринозный, гнойно-катаральный и геморрагический) мастит. Животных с идентичной формой мастита по принципу аналогов разделяли на опытную и контрольную группы (не менее 10 голов в группе).

Диагностика заболеваний осуществлялась комплексно на основании эпизоотологических данных, клинических признаков, экспресс-теста на мастит (диагностикум Кенотест или Масттест) и лабораторного исследования с выделением и идентификацией возбудителя (n=3). По мере выявления больные животные рандомизированно включались в опытные и контрольные группы (отдельно для каждой формы мастита).

В опытных группах животных лечили препаратом Мастигард. Препарат вводили интрацистернально в дозе 10 г (содержимое 1 шприца) на пораженную четверть вымени. Препарат вводили 1-2 кратно с интервалом 24 часа, при необходимости введение повторяли (рисунок 21).





Рисунок 21 – Интрацестернальное введение препарата Мастигард

Контрольной группе животных применяли препарат Мастигет Голд («Интервет Интернешнл БВ.», Нидерланды). Препарат вводили в пораженную четверть вымени коровы в разовой дозе 8 г (содержимое 1 шприца—дозатора) 2-4-кратно с интервалом 12 часов.

В период исследований у животных измеряли показатели температуры тела, пульса и дыхания, брали кровь для проведения общего клинического анализа. Клинические и гематологические показатели исследовали у 5 голов в каждой группе.

Отбор проб молока из пораженных долей (для выделения микрофлоры ( $n=3$ ) и определения количества соматических клеток ( $n=10$ )) и крови из-под хвостовой вены ( $n=5$ ) проводили утром до лечения и через 5 суток после завершения применения препаратов.

Для взятия крови (рисунок 22) использовали чистые одноразовые полимерные пробирки с антикоагулянтом (КЗ ЭДТА). Гематологические показатели стабилизированной крови определяли с помощью автоматического гематологического анализатора.



Рисунок 22 – Отбор проб крови из-под хвостовой вены у опытной группы животных

При оценке результатов лечения учитывали изменение клинического состояния животных и сроки выздоровления. Эффективность лечения оценивали, как отношение между выздоровевшими и больными животными, выраженное в процентах. Выздоровевшими считали животных, у которых на

5 сутки исследований отсутствовали клинические признаки заболевания и был отрицательный результат экспресс-теста на мастит.

### 3.3.1 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении субклинического мастита лактирующих коров

При обследовании животных до начала лечения в опытной и контрольной группах не было выявлено отклонений при клиническом осмотре (таблица 38). Температура, пульс, частота дыхательных движений и сокращения рубца находились в пределах видовой нормы.

Таблица 38 – Результаты клинического осмотра коров (n=5)

Группы животных	Опыт	Контроль	Норма
1 сутки			
Температура, °С	39,5 ± 0,5	39,1 ± 1,4	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	55,2 ± 1,0	56,3 ± 1,7	50-80
Дыхание, дд/мин	13,6 ± 1,2	13,7 ± 1,1	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	4,04 ± 1,8	4,05 ± 1,0	2-5
5 сутки			
Температура, °С	38,1 ± 0,5	38,4 ± 1,1	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	54,6 ± 1,0	55,3 ± 0,8	50-80
Дыхание, дд/мин	14,2 ± 0,9	13,7 ± 1,6	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	4,5 ± 0,5	4,1 ± 1,0	2-5

Примечание: M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

В результате клинического осмотра вымени не было выявлено патологических изменений. Кожа вымени имела бледно-розовый цвет, без повреждений, местная температура не была повышена, соски мягкие, молоко выдаивалось легко, внешний вид молока – соответствует норме, без посторонних примесей. Доли вымени безболезненны при пальпации, консистенция – упругая.

По результатам отбора проб молока (n=10) на определение количества соматических клеток было выявлено их увеличение как в опытной, так и в

контрольной группам в диапазоне >170 000 – 500 000, что свидетельствует о наличии субклинической формы мастита.

В результате гематологического исследования проб крови больных животных отклонений контролируемых показателей от видовой нормы не было обнаружено (таблица 39).

Таблица 39 – Результаты гематологического исследования крови коров до и после терапии (n=5)

Показатель	Норма	Опытная		Контрольная	
		1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)	1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)
Лейкоциты, $10^9/л$	4,0-12,0	8,08±0,52	5,92±0,34	7,80±0,25	6,72±0,20
Лимфоциты, %	50,0-62,5	47,28±1,04	56,78±0,84	51,68±1,6	59,78±0,32
Моноциты, %	0,6-6,6	4,96±0,23	3,78±0,18	5,56±0,22	4,70±0,29
Эозинофилы, %	0,0-20,0	5,04±0,25	4,98±0,27	6,14±0,45	5,30±0,41
Гранулоциты, %	15,0-34,3	42,72±1,30	34,46±0,81	36,62±2,04	30,22±0,70
Эритроциты, $10^{12}/л$	5,0-10,0	5,70±0,19	5,78±0,16	5,76±0,17	6,18±0,19
Гемоглобин, г/л	80,0-150,0	102,2±2,15	104,0±2,02	101,40±2,04	105,60±1,47
Гематокрит, %	24,0-46,0	24,04±0,53	24,28±0,46	26,04±0,60	27,74±0,42
СОЭ, мм/ч	0,5-1,5	3,2±0,58	1,0±0,2	1,70±0,12	0,88±0,18

Примечание: M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), при \* $p \leq 0,05$  в сравнении с контрольными животными

По результатам бактериологического исследования образцов молока (n=3) от больных животных были выделены следующие возбудители как в виде монокультуры, так и в виде ассоциаций: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *E. coli* (таблица 40).

Таблица 40 – Результаты бактериологического исследования проб молока при субклиническом мастите (n=3)

Группа	№ пробы	Микроорганизм КОЕ/мл	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>E. coli</i>
Контроль	1	до	$6,3 \times 10^5$	-	-
		после	$2,1 \times 10^2$	-	-
	2	до	-	$5,2 \times 10^5$	$1,2 \times 10^2$
		после	-	$1,8 \times 10^2$	$1,4 \times 10^1$
	3	до	$6,2 \times 10^5$	-	-
		после	$1,8 \times 10^2$	-	-
Опытная группа	1	до	$3,4 \times 10^3$	-	$1,8 \times 10^2$
		после	$1,5 \times 10^1$	-	$1,1 \times 10^1$
	2	до	$7,3 \times 10^6$	-	-

		после	$2,1 \times 10^2$	-	-
	3	до	$2,3 \times 10^5$	$2,0 \times 10^1$	-
		после	$1,2 \times 10^2$	$1,1 \times 10^1$	-

Примечание: «-» - в 0,1 мл методом посева на поверхность питательной среды микроорганизмов не обнаружено.

По результатам проведенного исследования у коров был установлен диагноз субклинический мастит и назначено лечение в опытной группе препаратом Мастигард – 1 шприц в каждую пораженную четверть вымени, однократно, при необходимости повторение через 24 часа, в контрольной группе Маститет Голд в соответствии с инструкцией по применению.

При наблюдении за животными опытной и контрольной групп в период лечения общее состояние и клинические показатели животных находились в границах нормы (таблица 38), местные изменения со стороны вымени отсутствовали.

По результатам определения количества соматических клеток в молоке их количество уменьшилось до диапазона нормы (0 – 170 000) после первого введения в опытной группе у 6 животных, в контрольной группе у 5 животных (рисунок 23).

У коров как в опытной, так и в контрольной группах с повышенным количеством соматических клеток (после первых суток лечения), повторно вводили лекарственные препараты. По результат лечения коров количество соматических клеток после двукратного введения препарата Мастигард и четырехкратного введения препарата Маститет Голд соответствовало физиологической норме (0 – 170 000) (рисунок 23).

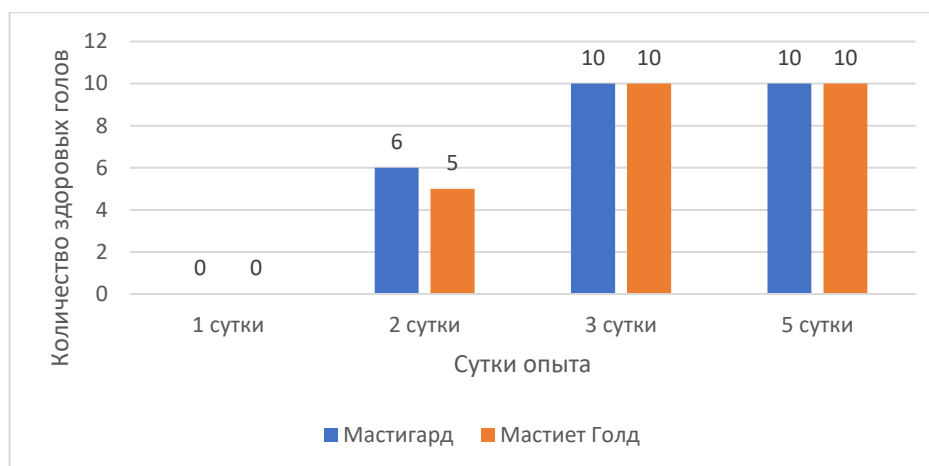


Рисунок 23 – Динамика выздоровления коров в опытной и контрольной группе с субклиническим маститом на основании определения количества соматических клеток в молоке

Гематологические показатели крови после лечения в опытной и контрольной группах находились в пределах видовой нормы (таблица 39).

В результате бактериологического исследования образцов молока после терапии было выявлено значительное снижение количества КОЕ/мл возбудителей в сравнении с образцами до лечения в опытной и контрольной группах (таблица 40)

Таким образом, в опытной группе после применения препарата Мастигард выздоровление отмечалось у 60% животных после 1-го введения препарата, у 40% – после 2-го введения с интервалом в 24 часа. Эффективность терапии составила 100%. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания не наблюдалось, что подтвердили исследованием количества соматических клеток в молоке (рисунок 24).

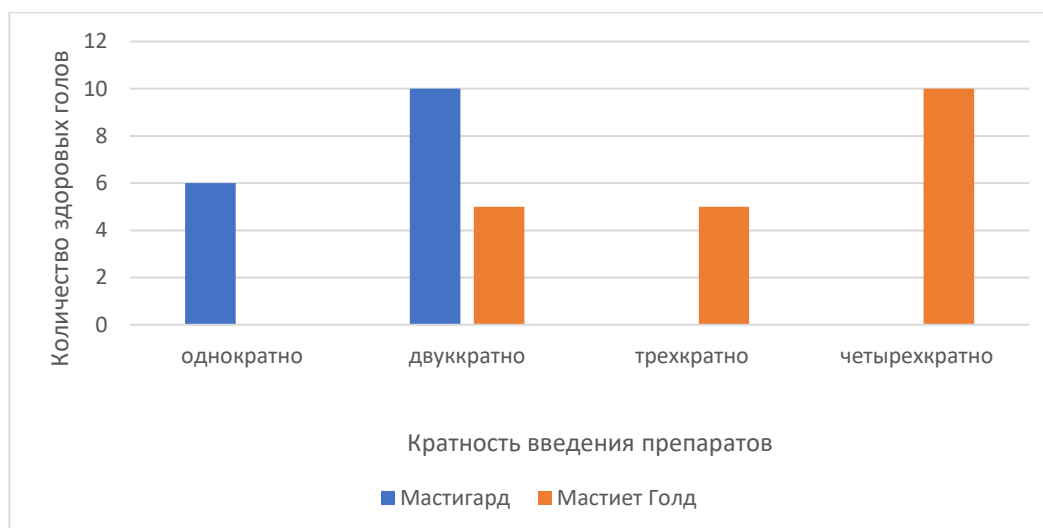


Рисунок 24 – График кратности применения лекарственных препаратов в опытной и контрольной группах

Скорость выздоровления в контрольной группе, после применения препарата сравнения после двукратного введения с интервалом в 12 часов составила 50% и после четырехкратного введения каждые 12 часов (на вторые сутки) еще 50%. Эффективность терапии составила 100%. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания не наблюдали, что подтвердили исследованием количества соматических клеток в молоке.

Анализ полученных результатов исследования терапии субклинического мастита коров продемонстрировал, что отличительной особенностью применение препарата Мастигард является значительное уменьшение кратности его введения для достижения терапевтической эффективности.

### 3.3.2 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении серозного мастита лактирующих коров

При обследовании животных опытной и контрольной групп до начала лечения, отклонений в клинических показателях и общем состоянии не было выявлено (таблица 41). Температура, пульс, частота дыхательных движений и сокращения рубца находились в пределах видовой нормы.

Таблица 41 – Результаты клинического осмотра коров (n=5)

Группы животных	Опыт	Контроль	Норма
1 сутки			
Температура, °С	39,4 ± 0,4	39,0 ± 1,1	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	54,9 ± 0,9	56,3 ± 1,8	50-80
Дыхание, дд/мин	13,3 ± 1,5	13,5 ± 1,2	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	4,2 ± 1,6	3,9 ± 1,0	2-5
5 сутки			
Температура, °С	38,3 ± 0,4	38,5 ± 0,9	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	54,5 ± 1,0	55,7 ± 0,8	50-80
Дыхание, дд/мин	14,4 ± 1,0	13,4 ± 1,4	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	4,6 ± 0,7	4,1 ± 1,1	2-5

Примечание: M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), при  $p \leq 0,05$  в сравнении с контрольными животными

В результате клинического осмотра было установлено, что кожа вымени имела бледно-розовый цвет, без повреждений, местная температура не повышена, соски мягкие, молоко выдаивается легко, внешний вид молока – в начале доения выделяется полупрозрачное водянистое молоко с примесью хлопьев фибрина (объем  $\approx$  100 мл). Доли вымени умеренно отечны, слабо болезненны при пальпации, консистенция – упругая.

По результатам исследования соматических клеток в образцах молока было выявлено их увеличение в диапазоне  $>500\ 000$ -1 000 000, что свидетельствует о проявлении клинической формы мастита.

В результате гематологического исследования проб крови больных животных отклонений контролируемых показателей от нормальных значений не обнаружено (таблица 42).

Таблица 42 – Гематологические показатели коров до и после терапии (n=5)

Показатель	Норма	Опытная		Контрольная	
		1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)	1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)
Лейкоциты, $10^9$ /л	4,0-12,0	7,46±0,17	5,48±0,28	7,16±0,21	5,34±0,27
Лимфоциты, %	50,0-62,5	49,02±0,74	57,96±0,42	51,68±1,6	59,78±0,32
Моноциты, %	0,6-6,6	5,36±0,16	3,86±0,19	5,46±0,14	4,24±0,10



## Продолжение таблицы 42

Эозинофилы, %	0,0-20,0	5,50±0,39	5,20±0,31	4,72±0,55	5,76±0,13
Гранулоциты, %	15,0-34,3	32,12±0,97	32,98±0,60	30,14±2,05	30,22±0,35
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	5,0-10,0	6,38±0,07	6,62±0,05	6,47±0,10	6,68±0,07
Гемоглобин, г/л	80,0-150,0	112,2±2,15	115,4±1,60	115,8±1,56	118,4±1,21
Гематокрит, %	24,0-46,0	30,24±1,05	32,08±1,12	28,84±0,80	31,48±1,07
СОЭ, мм/ч	0,5-1,5	0,9±0,3	0,8±0,15	0,8±0,4	0,8±0,25

Примечание: M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), при p≤0,05 в сравнении с контрольными животными

По результатам бактериологического исследования образцов молока от больных животных были выделены следующие возбудители как в виде монокультуры, так и в виде ассоциаций: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *E. coli* (таблица 43).

Таблица 43 – Результаты бактериологического исследования проб молока при серозном мастите (n=3)

Группа	№ пробы	Микроорганизм			
		КОЕ/мл	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>E. coli</i>
Контрольная группа	1	до	6,8x10 <sup>5</sup>	-	17x10 <sup>1</sup>
		после	2,6x10 <sup>4</sup>	-	1,3x10 <sup>1</sup>
	2	до	-	3,6x10 <sup>4</sup>	1,9x10 <sup>1</sup>
		после	-	2,3x10 <sup>2</sup>	-
	3	до	7,5x10 <sup>5</sup>	-	2,4x10 <sup>1</sup>
		после	3,2x10 <sup>4</sup>	-	2,1x10 <sup>1</sup>
Опытная группа	1	до	2,7x10 <sup>4</sup>	-	-
		после	1,5x10 <sup>2</sup>	-	-
	2	до	6,9x10 <sup>6</sup>	-	2,4x10 <sup>1</sup>
		после	-	-	1,1x10 <sup>1</sup>
	3	до	2,3x10 <sup>5</sup>	2,0x10 <sup>1</sup>	-
		после	1,4x10 <sup>3</sup>	1,2x10 <sup>1</sup>	-

Примечание: «-» - в 0,1 мл методом посева на поверхность питательной среды микроорганизмов не обнаружено.

По результатам проведенного исследования у коров был установлен диагноз серозный мастит и назначено лечение в опытной группе препаратом Мастигард – 1 шприц в каждую пораженную четверть вымени, однократно, при необходимости повторение через 24 часа, в контрольной группе Мастигет Голд в соответствии с инструкцией по применению.

При наблюдении за животными опытной и контрольной групп в период лечения общее состояние и клинические показатели животных находились в

границах нормы (таблица 41). Стоит отметить, что динамика уменьшения местных изменений со стороны вымени, а именно отечность и характеристики секрета молока, в опытной и контрольной группе имела свои отличия (рисунок 25). Так, в опытной группе после применения препарата Мастигард через 12 часов после первого введения было отмечено значительное снижение отечности вымени и выделение водянистого молока с примесью хлопьев фибрина у 100% животных. Тогда как, в контрольной группе при применении препарата Мастьет Голд схожую динамику улучшения состояния животных только после двукратного введения препарата, т.е. через 24 часа от начала лечения у 60% коров, и через 36 часов у оставшихся 40% голов.

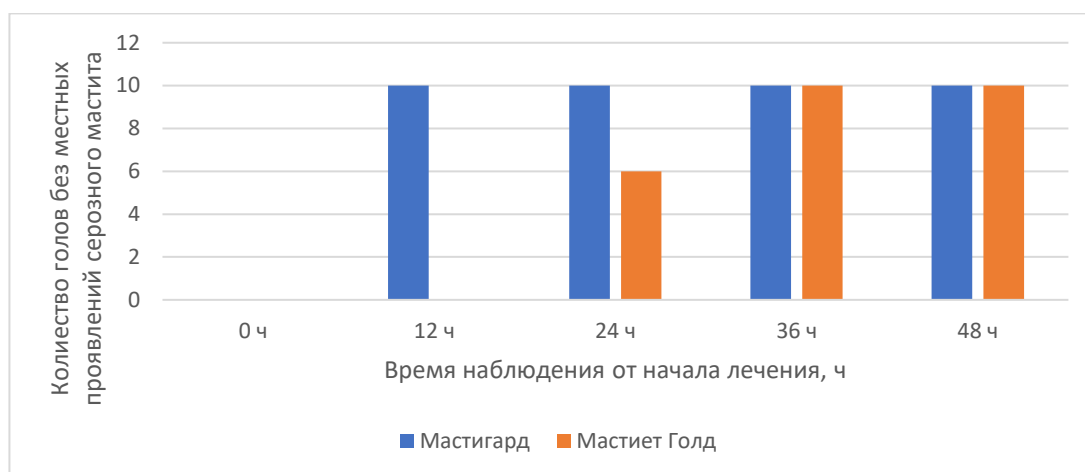


Рисунок 25 – Динамика уменьшения клинических симптомов серозного мастита в опытной и контрольной группах

По результатам определения количества соматических клеток в молоке (рисунок 26) их количество уменьшилось до диапазона нормы (0 – 170 000) после первого введения препарата Мастигард в опытной группе у 5 животных, схожее значение было получено и в контрольной группе – 5 голов.

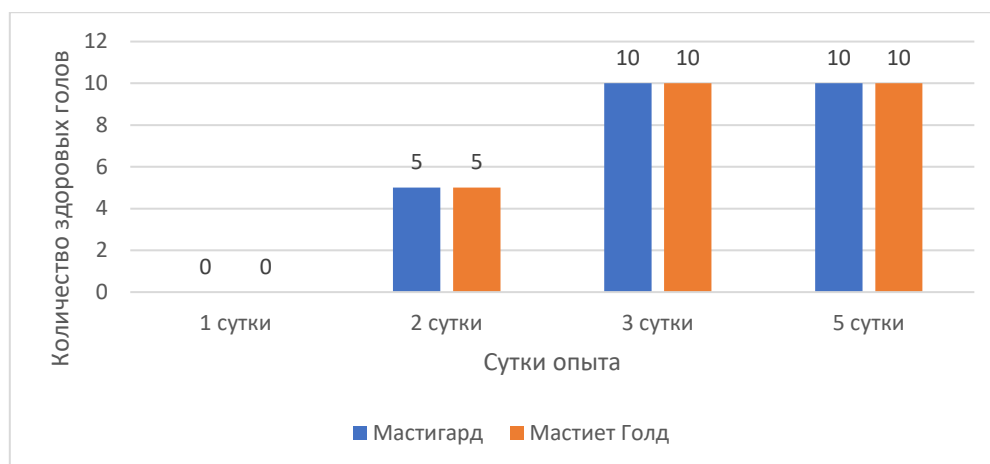


Рисунок 26 – Динамика выздоровления коров в опытной и контрольной группе с серозным маститом на основании определения количества соматических клеток в молоке

У оставшихся коров как в опытной, так и в контрольной группе с повышенным количеством соматических клеток (после первого дня лечения), повторно вводили лекарственные препараты. По результатам лечения коров количество соматических клеток в опытной группе после двукратного введения препарата Мастигард с интервалом 24 часа и в контрольной группе после четырехкратного введения с интервалом в 12 часов, соответствовало физиологической норме (0 – 170 000) (рисунок 26).

Гематологические показатели крови после лечения в опытной и контрольной группах находились в пределах видовой нормы (таблица 42).

В результате бактериологического исследования образцов молока после терапии было выявлено значительное снижение количества КОЕ/мл возбудителей в сравнении с образцами до лечения в опытной и контрольной группах (таблица 43).

В опытной группе, после применения препарата Мастигард, выздоровление отмечалось у 50% животных после 1-го введения препарата, однократно с интервалом в 24 часа, у второй половины животных после 2-го введения препарата также с интервалом в 24 часа. Эффективность лечения составила 100%. Уменьшение клинических симптомов серозного мастита наблюдали уже через 12 часов после применения препарата у всех коров. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания не наблюдалось, что

подтвердили исследованием количества соматических клеток в молоке (рисунок 27).

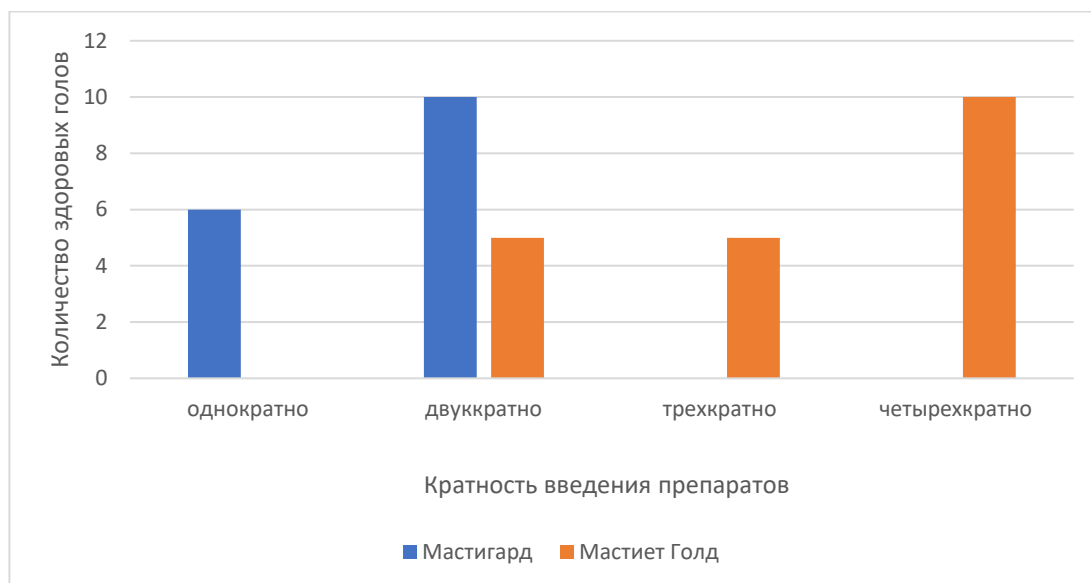


Рисунок 27 – График кратности применения лекарственных препаратов в опытной и контрольной группах при лечении серозного мастита

Скорость выздоровления в контрольной группе несколько отличалась – 50% животных выздоровело после двукратного введения препарата Мастьет Голд с интервалом в 12 часов, оставшаяся часть после – четырехкратного введения с интервалом в 12 часов. Эффективность лечения составила 100%. Однако, клиническая картина динамики улучшения характеристик молока и отежности вымени наблюдали у 60% животных только через 24 часа от начала лечения, у оставшихся 40% только через 36 часов. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания не наблюдали, что подтвердили исследованием количества соматических клеток в молоке.

Таким образом, особенностью применения препарата Мастигард при серозном мастите коров является уменьшение кратности применения, а также снижение клинической симптоматики уже через 12 часов после начала применения препарата.

### 3.3.3 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении катарального мастита у лактирующих коров

При клиническом осмотре коров до начала лечения отмечали угнетение, снижение аппетита, при этом гематологические показатели находились в границе нормы (таблица 44).

Таблица 44 – Результаты клинического осмотра коров (n=5)

Группы животных	Опыт	Контроль	Норма
1 сутки			
Температура, °С	38,7 ± 1,1	38,2 ± 0,8	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	54,7 ± 1,4	56,3 ± 2,0	50-80
Дыхание, дд/мин	13,6 ± 1,2	13,7 ± 1,1	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	3,1 ± 0,6	3,5 ± 1,3	2-5
5 сутки			
Температура, °С	38,2 ± 0,6	38,3 ± 0,5	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	54,8 ± 1,5	55,6 ± 1,7	50-80
Дыхание, дд/мин	14,2 ± 0,9	13,7 ± 1,6	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	3,1 ± 1,5	3,0 ± 0,6	2-5

Примечание: M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), при  $p \leq 0,05$  в сравнении с контрольными животными

В результате осмотра коров опытной и контрольной группы было выявлено поражение долей вымени, характеризующиеся отечностью, умеренной гиперемией, умеренной болезненностью при пальпации, повышением местной температуры, отмечали уплотнение консистенции долей, при сдаивании не отмечали беспокойство у животного. Стоит отметить, что из пораженных долей вымени выделялось жидкое (водянистое) молоко с примесью слизи. Все выше указанные изменения были выявлены в результате нарушений технологии доения у животных.

По результатам исследования соматических клеток в образцах молока (n=10) было выявлено их увеличение в диапазоне > 1 000 000 – 5 000 000, что свидетельствует о проявлении клинической формы мастита.

При гематологическом исследовании проб крови больных животных отклонений от границ нормы не обнаружено (таблица 45).

Таблица 45 – Гематологические показатели коров до и после терапии (n=5)

	Норма	Опытная		Контрольная	
		1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)	1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	4,0-12,0	8,28±0,50	7,39±0,44	8,52±0,60	7,74±0,39
Лимфоциты, %	50,0-62,5	53,74±1,03	58,66±0,61	53,56±1,58	55,36±1,58
Моноциты, %	0,6-6,6	4,54±0,23	4,00±0,25	4,82±0,39	4,54±0,31
Эозинофилы, %	0,0-20,0	5,02±0,63	5,16±0,41	4,92±1,01	3,72±1,08
Гранулоциты, %	15,0-34,3	32,70±1,45	32,18±0,90	32,70±2,14	32,38±2,27
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	5,0-10,0	6,26±0,20	6,36±0,14	5,99±0,33	5,96±0,35
Гемоглобин, г/л	80,0-150,0	107,0±2,88	109±2,59	93,0±5,07	93,2±5,54
Гематокрит, %	24,0-46,0	26,62±1,31	28,00±1,00	23,26±1,27	23,3±1,30
СОЭ, мм/ч	0,5-1,5	0,8±0,4	0,7±0,3	0,9±0,3	0,8±0,2

Примечание: M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), при p≤0,05 в сравнении с контрольными животными

По результатам бактериологического исследования образцов молока от больных животных были выделены следующие возбудители как в виде монокультуры, так и в виде ассоциаций: *Staphylococcus spp.* и *E. coli* (таблица 46).

Таблица 46 - Результаты бактериологического исследования проб молока при катаральном мастите (n=3)

Группа	№ пробы	Микроорганизм			
		КОЕ/мл	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>E. coli</i>
Контрольная группа	1	до	4,9x10 <sup>3</sup>	-	1,9x10 <sup>1</sup>
		после	2,5x10 <sup>2</sup>	-	1,1x10 <sup>1</sup>
	2	до	4,1x10 <sup>4</sup>	-	-
		после	2,1x10 <sup>2</sup>	-	-
	3	до	2,5x10 <sup>3</sup>	-	1,2x10 <sup>1</sup>
		после	1,6x10 <sup>2</sup>	-	1,0x10 <sup>1</sup>
Опытная группа	1	до	2,4x10 <sup>3</sup>	-	-
		после	2,1x10 <sup>1</sup>	-	-
	2	до	2,6x10 <sup>3</sup>	-	-
		после	1,4x10 <sup>2</sup>	-	-
	3	до	1,5x10 <sup>3</sup>	-	-
		после	1,2x10 <sup>2</sup>	-	-

Примечание: «-» - в 0,1 мл методом посева на поверхность питательной среды микроорганизмов обнаружено

По результатам проведенного исследования у коров был установлен диагноз катаральный мастит и назначено лечение в опытной группе

препаратом Мастигард – 1 шприц в каждую пораженную четверть вымени, однократно, при необходимости повторение через 24 часа, в контрольной группе Мастьет Голд в соответствии с инструкцией по применению.

При наблюдении за животными опытной группы с диагнозом катаральный мастит установлено, что общее состояние у 70% животных нормализовалось через 24 часа после первого введения препарата, у оставшихся 30% через 36 часов. Первые улучшения со стороны вымени отмечены также через 24 часа после первого введения препарата. Выздоровление по клиническим признакам (полное исчезновение отека и болезненности вымени, нормализация секреции молока) отмечены через 36 часов у 100% животных (рисунок 28).

Динамика выздоровления животных контрольной группы была несколько хуже. Нормализацию общего состояния и первые улучшения со стороны вымени у 60% животных наблюдали через 48 часов. Выздоровление по клиническим признакам (нормализация общего состояния, полное исчезновение отека и болезненности вымени, нормализация секреции молока) отмечены через 60 часов у 100% коров от начала лечения (рисунок 28).

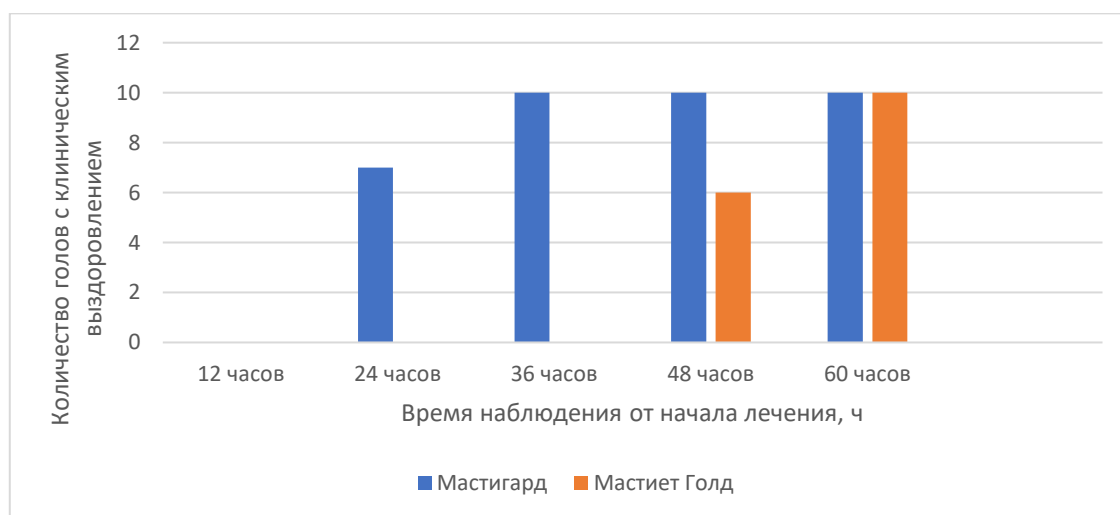


Рисунок 28 – Динамика уменьшения клинических симптомов катарального мастита в опытной и контрольной группах

По результатам определения количества соматических клеток в молоке после однократного введения препарата Мастигард было выявлено их

снижение в опытной группе у 7 голов до диапазона  $>170\ 000 - 500\ 000$  (субклинический мастит), у оставшихся 3 животных полученные результаты находились в диапазоне  $> 1\ 000\ 000 - 5\ 000\ 000$ . В контрольной же группе у всех животных после двукратного введения препарата Мастигет Голд количество соматических клеток соответствовало клинической форме мастита ( $> 1\ 000\ 000 - 5\ 000\ 000$ ) (рисунок 29).

Следовательно, всем животным было назначено повторное введение лекарственных препаратов.

После двукратного введения лекарственного препарата Мастигард с интервалом 24 часа в опытной группе отмечали выздоровление у 7 голов животных, количество соматических клеток соответствовало физиологической норме ( $0 - 170\ 000$ ), у оставшихся 3 коров полученные значения соматических клеток соответствовали субклиническому маститу ( $>170\ 000 - 500\ 000$ ). В контрольной же группе динамика выздоровления была значительно ниже. Так, в контрольной группе только у 6 голов после четырехкратного введения препарата Мастигет Голд с интервалом в 12 часов отмечали уменьшение количества соматических клеток до диапазона ( $>170\ 000 - 500\ 000$ ), у оставшихся 4 голов значения были равны ( $> 1\ 000\ 000 - 5\ 000\ 000$ ) (рисунок 29).

В опытной группе оставшимся 3 головам повторно ввели препарат Мастигард, в контрольной же группе всем животным продолжали введение препарата Мастигет Голд.

После трехкратного введения препарата Мастигард с интервалом в 24 часа у оставшихся 3 голов животных отмечали клиническое выздоровление характеризующиеся уменьшением количества соматических клеток до физиологической нормы. В контрольной же группе после шестикратного введения препарата Мастигет Голд с интервалом в 12 часов, отмечали выздоровление у 6 голов животных, что также подтвердилось уменьшением количества соматических клеток до нормы, однако у 4 голов отмечали снижение количества соматических



клеток лишь до уровня, соответствующего субклиническому маститу ( $>170\ 000 - 500\ 000$ ) (рисунок 29).

Оставшимся 4 животным контрольной группы продолжили введение препарата Мастигет Голд. Таким образом, после восьмикратного введения данного препарата отмечали выздоровление у оставшихся животных в контрольной группе, что подтвердили количеством соматических клеток, соответствующие физиологической норме (рисунок 30).

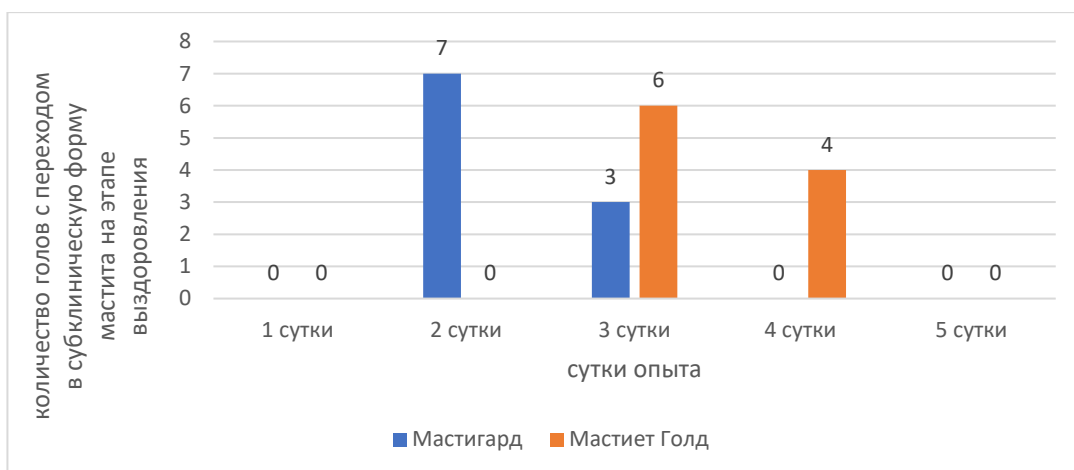


Рисунок 29 – Динамика перехода катарального мастита в субклинический в опытных и контрольных группах на основании определения количества соматических клеток в молоке

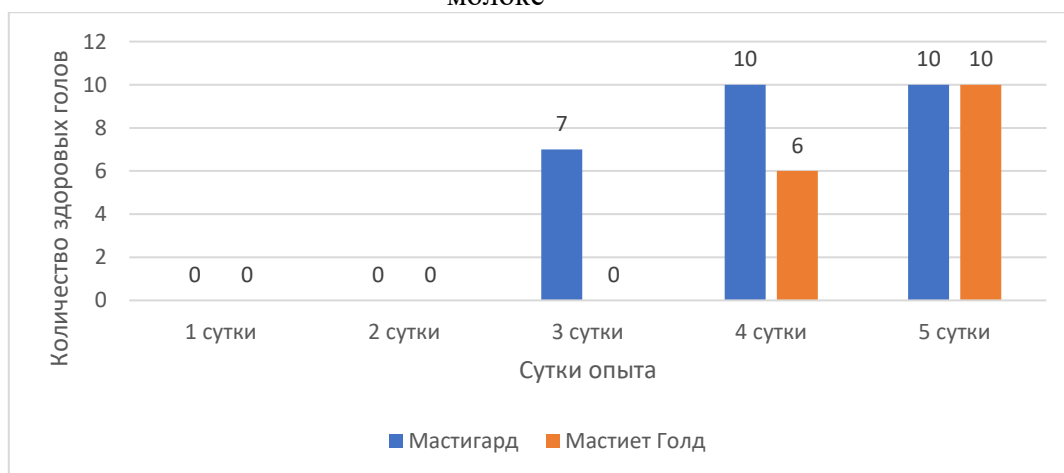


Рисунок 30 – Динамика выздоровления коров в опытной и контрольной группе с катаральным маститом на основании определение количества соматических клеток в молоке

Гематологические показатели крови после лечения в опытной и контрольной группах находились в пределах видовой нормы (таблица 45).

В результате бактериологического исследования образцов молока после терапии было выявлено значительное снижение количества КОЕ/мл

возбудителей в сравнении с образцами до лечения в опытной и контрольной группах (таблица 46).

Таким образом в опытной группе выздоровление 70% животных отмечалось после двукратного введения препарата Мастигард, с интервалом 24 часа, 30% – после трехкратного введения. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания не наблюдалось, что подтверждалось исследованием количества соматических клеток. Эффективность терапии препаратом Мастигард составила 100% (рисунок 31).

Скорость выздоровления в контрольной группе была значительно ниже и составила: 60% животных выздоровело после шестикратного введения препарата Мастьет Голд с интервалом в 12 часов, 40% коров – после восьмикратного введения. Эффективность лечения препаратом сравнения равнялась 100%. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания не наблюдалось, что подтверждалось исследованием количества соматических клеток (рисунок 31).

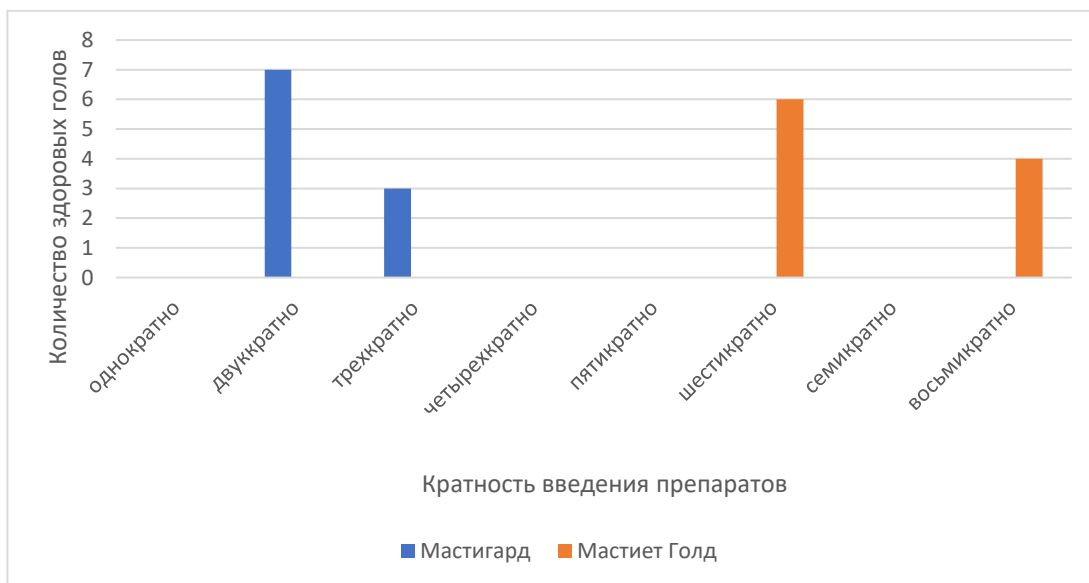


Рисунок 31 – График кратности применения лекарственных препаратов в опытной и контрольной группах при лечении катарального мастита

Таким образом, преимуществом лекарственного препарата Мастигард является сокращение кратности введения (в 2-3 раза) и длительность терапии (на 1 сутки). Стоит отметить, что улучшение клинического состояния также наступала в 2-3 раза быстрее относительно препарата сравнения.

### 3.3.4 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении фибринозного мастита у лактирующих коров

В результате осмотра больных животных в опытных и контрольной группах до введения лекарственных препаратов было отмечено угнетение, снижение аппетита, повышение клинических показателей – температуры тела ( $40,3 \pm 3,2$  и  $40,7 \pm 2,5$  °С соответственно), пульса ( $88,8 \pm 1,2$  и  $87,1 \pm 3,2$  уд/мин соответственно) и частоты дыхания ( $28,2 \pm 2,5$  и  $27,4 \pm 4,4$  дд/мин соответственно) (таблица 47).

Таблица 47 – Результаты клинического осмотра коров (n=5)

Группы животных	Опыт	Контроль	Норма
1 сутки			
Температура, °С	$40,3 \pm 3,2$	$40,7 \pm 2,5$	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	$88,8 \pm 1,2$	$87,1 \pm 3,2$	50-80
Дыхание, дд/мин	$28,2 \pm 2,5$	$27,4 \pm 4,4$	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	$2,40 \pm 0,6$	$2,8 \pm 1,52$	2-5
5 сутки			
Температура, °С	$38,2 \pm 0,8$	$38,0 \pm 0,4$	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	$60,4 \pm 3,6$	$59,7 \pm 2,4$	50-80
Дыхание, дд/мин	$17,5 \pm 1,2$	$18,4 \pm 2,9$	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	$4,0 \pm 0,7$	$4,3 \pm 1,0$	2-5

Примечание: M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), при  $p \leq 0,05$  в сравнении с контрольными животными

Также, в результате осмотра животных было выявлено поражение долей вымени, которые были отечны, умеренно гиперемированы, горячие на ощупь, болезненны, при пальпации ощущалась крепитация, по консистенции доли вымени – тестоватые, при попытке сдаивания животное беспокоилось, из пораженных долей выделялось жидкое (водянистое) молоко с примесью крупинок фибрина (в большом количестве).

По результатам исследования соматических клеток в образцах молока было выявлено их увеличение в диапазоне  $> 1\ 000\ 000 - 5\ 000\ 000$ , что свидетельствует о проявлении клинической формы мастита (рисунок 32).



Рисунок 32 – Исследование проб молока экспресс-тестом Кенотест для оценки количества соматических клеток (клинический мастит)

При гематологическом исследовании проб крови больных животных в опытной и контрольной группах обнаружен умеренный лейкоцитоз (до  $16,44 \times 10^9/\text{л}$  и  $16,26 \times 10^9/\text{л}$  соответственно) за счет гранулоцитоза, умеренная лимфопения (до 30% и 36% соответственно) и увеличение СОЭ (до 3,8 и 5,2 мм/ч соответственно), что свидетельствует о наличии острого воспалительного процесса в организме (таблица 48) [Гавришин В. Г., 1996; Линева А. Н., 2003; Кондрахин И. П., 2004].

Таблица 48 – Гематологические показатели коров до и после терапии (n=5)

Показатель	Норма	Опытная		Контрольная	
		1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)	1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	4,0-12,0	$16,44 \pm 1,03^*$	$10,34 \pm 0,43$	$16,26 \pm 0,83^*$	$10,88 \pm 0,65$
Лимфоциты, %	50,0-62,5	$30,00 \pm 2,52^*$	$51,88 \pm 1,23$	$36,04 \pm 1,13^*$	$54,86 \pm 1,45$
Моноциты, %	0,6-6,6	$5,14 \pm 0,41$	$4,20 \pm 0,25$	$7,82 \pm 0,46$	$5,26 \pm 0,62$
Эозинофилы, %	0,0-20,0	$5,84 \pm 0,47$	$4,66 \pm 0,48$	$5,7 \pm 0,62$	$5,7 \pm 0,60$
Гранулоциты, %	15,0-34,3	$59,02 \pm 2,50^*$	$39,26 \pm 0,96$	$50,44 \pm 0,92^*$	$34,18 \pm 2,24$
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	5,0-10,0	$5,92 \pm 0,23$	$5,86 \pm 0,20$	$5,99 \pm 0,33$	$5,96 \pm 0,35$
Гемоглобин, г/л	80,0-150,0	$94,6 \pm 4,86$	$93,00 \pm 4,57$	$93,0 \pm 5,07$	$93,2 \pm 5,54$
Гематокрит, %	24,0-46,0	$23,22 \pm 1,19$	$22,7 \pm 0,69$	$23,26 \pm 1,27$	$23,3 \pm 1,30$
СОЭ, мм/ч	0,5-1,5	$3,8 \pm 0,24^*$	$1,2 \pm 0,17$	$5,20 \pm 0,37^*$	$1,44 \pm 0,27$

Примечание:  $M \pm SD$  (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение), различия достоверны ( $*p \leq 0,05$ ) в сравнении с контрольными животными

По результатам бактериологического исследования образцов молока от больных животных были выделены следующие возбудители как в виде монокультуры, так и в виде ассоциаций: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *E. coli* (таблица 49).

Таблица 47 – Результаты бактериологического исследования проб молока при фибринозном мастите (n=3)

Группа, д/з	№ пробы	Микроорганизм			
		КОЕ/мл	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>E. coli</i>
Контрольная группа	1	до	1,2x10 <sup>1</sup>	2,8x10 <sup>4</sup>	-
		после	0,5x10 <sup>1</sup>	1,2x10 <sup>3</sup>	-
	2	до	1,5x10 <sup>2</sup>	-	6,0x10 <sup>1</sup>
		после	1,1x10 <sup>1</sup>	-	1,7x10 <sup>1</sup>
	3	до	6,2x10 <sup>5</sup>	2,4x10 <sup>3</sup>	-
		после	2,3x10 <sup>3</sup>	1,5x10 <sup>2</sup>	-
Опытная группа	1	до	2,4x10 <sup>3</sup>	-	2,1x10 <sup>1</sup>
		после	1,1x10 <sup>2</sup>	-	0,1x10 <sup>1</sup>
	2	до	5,2x10 <sup>3</sup>	-	1,2x10 <sup>1</sup>
		после	2,2x10 <sup>2</sup>	-	0,7x10 <sup>1</sup>
	3	до	3,6x10 <sup>3</sup>	-	-
		после	1,6x10 <sup>1</sup>	-	-

Примечание: «-» - в 0,1 мл методом посева на поверхность питательной среды микроорганизмов не обнаружено

По результатам проведенного исследования у коров был установлен диагноз фибринозный мастит и назначено лечение в опытной группе препаратом Мастигард – 1 шприц в каждую пораженную четверть вымени, однократно, при необходимости повторение через 24 часа, в контрольной группе Маститет Голд в соответствии с инструкцией по применению.

При наблюдении за животными опытной группы с диагнозом фибринозный мастит выздоровление по клиническим признакам (нормализация общего состояния, исчезновение отека и болезненности вымени, нормализация секреции молока) отмечены через 24-48 часов от начала лечения. Скорость купирования симптомов мастита в контрольной группе была несколько ниже, так уменьшение проявлений клинических признаков отмечали только через 48-96 часов от начала лечения препаратом Маститет Голд.

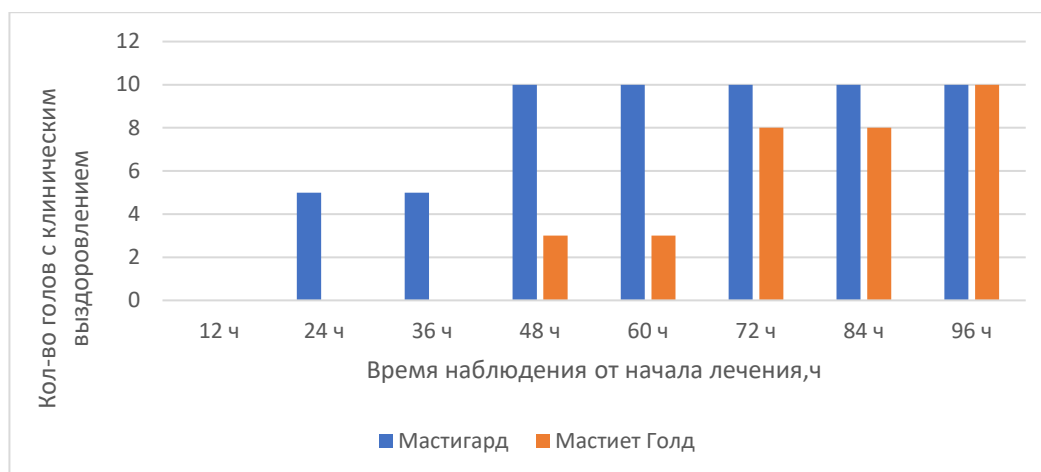


Рисунок 33 – Динамика уменьшения клинических симптомов фибринозного мастита в опытной и контрольной группах

По результатам проведенного исследования экспресс-тестом на определение количества соматических клеток в молоке на вторые сутки опыта не было отмечено их снижения, диапазон значений соответствовал клинической форме мастита  $> 1\ 000\ 000 - 5\ 000\ 000$  в опытной и контрольной группах.

После двукратного введения (с интервалом 24 часа) лекарственного препарата Мастигард у 5 животных в опытной группе отмечали уменьшение количества соматических клеток до диапазона значений  $> 170\ 000 - 500\ 000$  (субклиническая форма), у оставшейся половины коров полученные результаты количества соматических клеток соответствовали клинической форме мастита. В контрольной же группе после четырехкратного применения препарата Мастьет Голд (с интервалом в 12 часов) диапазон значений соответствовал клинической форме мастита  $> 1\ 000\ 000 - 5\ 000\ 000$  (рисунок 34).

В опытной и контрольной группах продолжали введение препаратов.

После трехкратного введения препарата Мастигард (с интервалом 24 часа) отмечали выздоровление 50% животных, что подтверждалось количеством соматических клеток, соответствующих значениям физиологической нормы, у оставшейся половины голов отмечали субклиническую форму мастита. В контрольной группе после шестикратного

применения препарата Мастигет Голд с интервалом 12 часов только у 3 коров количество соматических клеток снизилось до  $> 170\ 000 - 500\ 000$  (субклиническая форма), у оставшихся 70% животных наблюдали клиническую форму мастита ( $> 1\ 000\ 000 - 5\ 000\ 000$ ) (рисунок 34).

В опытной группе после оставшимся 5 коров вводили препарата Мастигард четырехкратно с интервалом 24 часа. В контрольной группе введение препарата Мастигет Голд продолжили всем животным.

После четырёхкратного введения препарата Мастигард в опытной группе отмечали 100% выздоровление оставшихся животных, что подтвердили результатами определения количества соматических клеток, которые соответствовали физиологической норме. В контрольной же группе после восьмикратного введения препарата Мастигет Голд было установлено, что выздоровление наступило только у 3 животных (количество соматических клеток соответствовало норме), однако у 5 голов отмечали субклинический мастит и еще у 2 голов клинический мастит на основании количества соматических клеток в молоке (рисунок 35).

В контрольной группе продолжили введение препарата, так после десятикратного введения Мастигета Голд выздоровление отмечали у 5 голов животных, а у двух коров отмечали наличие субклинического мастита (рисунок 35).

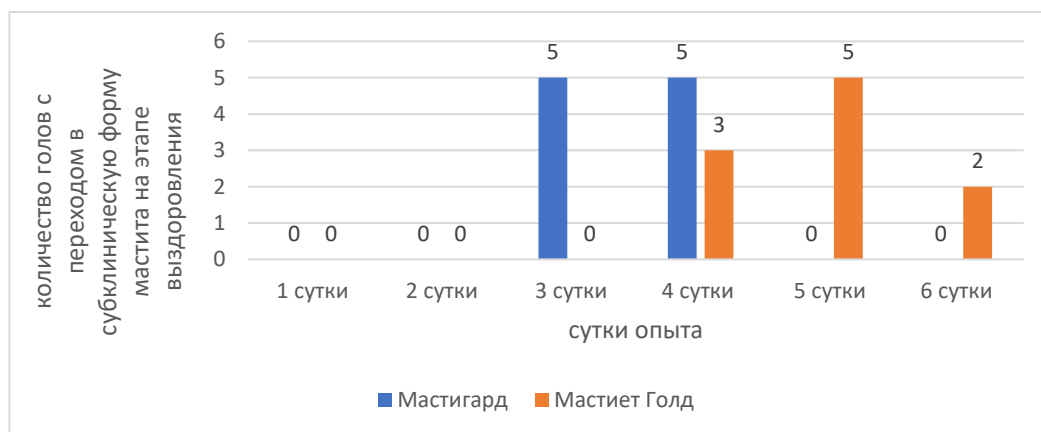


Рисунок 34 – Динамика перехода фибринозного мастита в субклинический в опытных и контрольных группах на основании определения количества соматических клеток в молоке

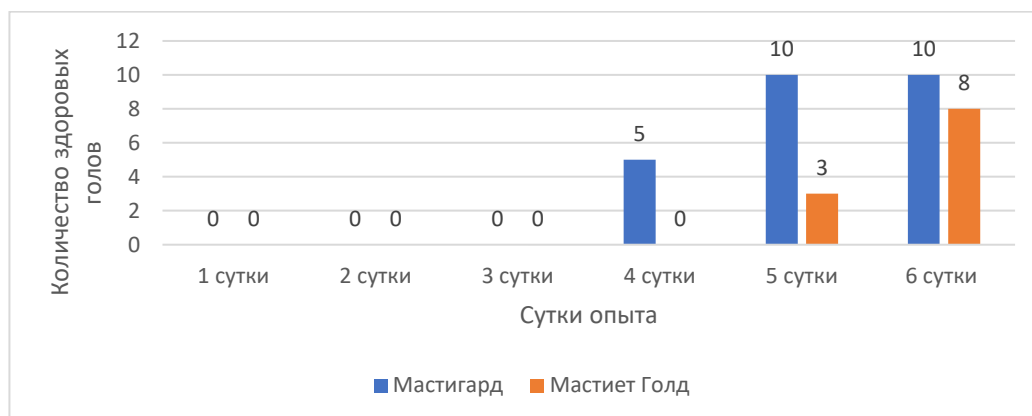


Рисунок 35 – Динамика выздоровления коров в опытной и контрольной группе с фибринозным маститом на основе определение количества соматических клеток в молоке

После проведенного курса лечения отмечена нормализация морфологических показателей крови (лейкоциты, лимфоциты, гранулоциты и СОЭ) как в опытной, так и в контрольной группах (таблица 48).

В результате бактериологического исследования образцов молока после терапии было выявлено значительное снижение количества КОЕ/мл возбудителей в сравнении с образцами до лечения в опытной и контрольной группах (таблица 49)

Таким образом, в опытной группе после применения препарата Мастигард выздоровление отмечалось у 50% животных после 3-го введения препарата с интервалом 24 часа, у 50% голов - после 4-го введения. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания у выздоровевших животных не наблюдалось, что подтверждалось исследованием количества соматических клеток в молоке. Эффективность терапии составила - 100% (рисунок 36).

Скорость выздоровления в контрольной группе была медленнее, чем в опытной – 30% животных выздоровело после восьмикратного введения препарата с интервалом 12 часов, 50% голов - после десятикратного введения. Эффективность терапии составила - 80%, так как у 20% сохранялась субклиническая форма мастита. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания у выздоровевших животных не наблюдалось, что подтверждалось исследованием количества соматических клеток в молоке (рисунок 36).





Рисунок 36 – График кратности применения лекарственных препаратов в опытной и контрольной группах при лечении фибринозного мастита

Таким образом, преимуществом лекарственного препарата Мастигард является сокращение кратности введения (в 2-3 раза) и длительность терапии (на 1 ступи). Стоит отметить, что улучшение клинического состояния также наступало в 2-3 раза быстрее относительно препарата сравнения, что также отразилось на эффективности терапии – 100% при лечении препаратом Мастигард и 80% при лечении препаратом Мастьет Голд.

### 3.3.5 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении гнойно-катарального мастита у лактирующих коров

У больных животных в опытных и контрольной группах до введения лекарственных препаратов при осмотре наблюдали угнетение, снижение аппетита, клинические показатели были повышены, в частности температура тела ( $40,6 \pm 2,0$  и  $40,9 \pm 2,3$  соответственно), пульс ( $88,3 \pm 1,1$  и  $87,3 \pm 3,6$  уд/мин) и частота дыхания ( $28,0 \pm 2,2$  и  $27,0 \pm 3,5$  дд/мин) (таблица 50).

Таблица 48 – Результаты клинического осмотра коров (n=5)

Группы животных	Опыт	Контроль	Норма
	1 сутки		
Температура, °С	$40,6 \pm 2,0$	$40,9 \pm 2,3$	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	$88,3 \pm 1,1$	$87,3 \pm 3,6$	50-80

## Продолжение таблицы 48

Группы животных	Опыт	Контроль	Норма
Дыхание, дд/мин	28,0 ± 2,2	27,0 ± 3,5	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	2,60 ± 0,7	2,4 ± 0,7	2-5
5 сутки			
Температура, °С	38,1 ± 0,8	38,2 ± 0,2	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	60,6 ± 4,1	59,4 ± 2,3	50-80
Дыхание, дд/мин	17,9 ± 0,7	18,0 ± 1,6	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	4,0 ± 0,7	4,3 ± 0,9	2-5

Примечание: M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), при  $p \leq 0,05$  в сравнении с контрольными животными

В результате осмотра больных животных также было установлено, что пораженные доли вымени были отечны, умеренно гиперемированы, горячие на ощупь, болезненны при пальпации, консистенция долей – тестоватая, при попытке сдаивания животные беспокоятся, из пораженных долей выделяется жидкий полупрозрачный секрет с примесью гноя.

По результатам исследования соматических клеток в образцах молока было выявлено их увеличение в диапазоне  $> 5\ 000\ 000$ , что свидетельствует о проявлении клинической формы мастита.

По результатам гематологическом исследовании проб крови больных животных в опытной и контрольной группе обнаружен лейкоцитоз (до  $17,16 \times 10^9/\text{л}$  и  $16,32 \times 10^9/\text{л}$  соответственно) за счет гранулоцитоза (до 51,02% и 49,44% соответственно) и моноцитоза (до 8,42% и 8,36% соответственно), небольшая лимфопения и увеличение СОЭ до 4,0 мм/ч и 2,86 соответственно, что свидетельствует о наличии острого воспалительного процесса в организме (таблица 51) [Гавришин В. Г., 1996; Линева А. Н., 2003; Кондрахин И. П., 2004].

Таблица 51 - Гематологические показатели коров до и после терапии (n=5)

Показатели	Норма	Опытная		Контрольная	
		1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)	1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	4,0-12,0	17,16±0,75*	10,28±0,45	16,32±0,83*	10,64±0,57

## Продолжение таблицы 51

Показатели	Норма	Опытная		Контрольная	
		1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)	1 сутки (до лечения)	5 сутки (после лечения)
Лимфоциты, %	50,0-62,5	36,68±1,07*	46,38±10,28	37,06±1,11*	55,62±1,39
Моноциты, %	0,6-6,6	8,42±0,35*	5,66±0,29	8,36±0,45*	6,46±0,49
Эозинофилы, %	0,0-20,0	3,88±0,57	4,18±0,62	5,14±0,41	4,20±0,25
Гранулоциты, %	15,0-34,3	51,02±1,41*	43,78±10,39	49,44±1,66*	33,72±1,26
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	5,0-10,0	5,7±0,19	6,19±0,07	5,50±0,13	6,08±0,03
Гемоглобин, г/л	80,0-150,0	95,8±3,38	104,0±1,55	91,0±1,52	102,4±0,93
Гематокрит, %	24,0-46,0	24,04±0,53	26,48±0,88	23,48±0,58	6,98±0,70
СОЭ, мм/ч	0,5-1,5	4,00±0,55*	1,02±0,16	2,86±0,37*	0,74±0,07

Примечание: М±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

По результатам бактериологического исследования образцов молока от больных животных были выделены следующие возбудители как в виде монокультуры, так и в виде ассоциаций: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *E. coli* (таблица 52).

Таблица 52 - Результаты бактериологического исследования проб молока при гнойно-катаральном мастите (n=3)

Группа, д/з	№ пробы	Микроорганизм			
		КОЕ/мл	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>E. coli</i>
Контрольная группа	1	до	4,1x10 <sup>3</sup>	-	0,4x10 <sup>1</sup>
		после	2,3x10 <sup>2</sup>	-	0,1x10 <sup>1</sup>
	2	до	1,8x10 <sup>3</sup>	1,6x10 <sup>2</sup>	-
		после	1,1x10 <sup>2</sup>	1,4x10 <sup>1</sup>	-
	3	до	7,4x10 <sup>4</sup>	-	-
		после	1,5x10 <sup>3</sup>	-	1,1x10 <sup>3</sup>
Опытная группа	1	до	2,4x10 <sup>2</sup>	-	0,8x10 <sup>1</sup>
		после	6,6x10 <sup>3</sup>	-	-
	2	до	7,4x10 <sup>4</sup>	-	-
		после	7,2x10 <sup>4</sup>	-	-
	3	до	5,6x10 <sup>3</sup>	-	-
		после	-	-	-

Примечание: «-» - в 0,1 мл методом посева на поверхность питательной среды микроорганизмов не обнаружено.

По результатам проведенного исследования у коров был установлен диагноз гнойно-катаральный мастит и назначено лечение в опытной группе препаратом Мастигард - 1 шприц в каждую пораженную четверть вымени,

однократно, при необходимости повторение через 24 часа, в контрольной группе Маститет Голд в соответствии с инструкцией по применению.

При наблюдении за животными опытной группы с диагнозом гнойно-катаральный мастит выздоровление по клиническим признакам (нормализация общего состояния, исчезновение отека и болезненности вымени, нормализация секреции молока) (рисунок 37) отмечены через 24-48 часов от начала лечения. Скорость купирования симптомов мастита в контрольной группе была несколько ниже, так уменьшение проявления клинических признаков отмечали только через 48-96 часов от начала лечения препаратом Маститет Голд.

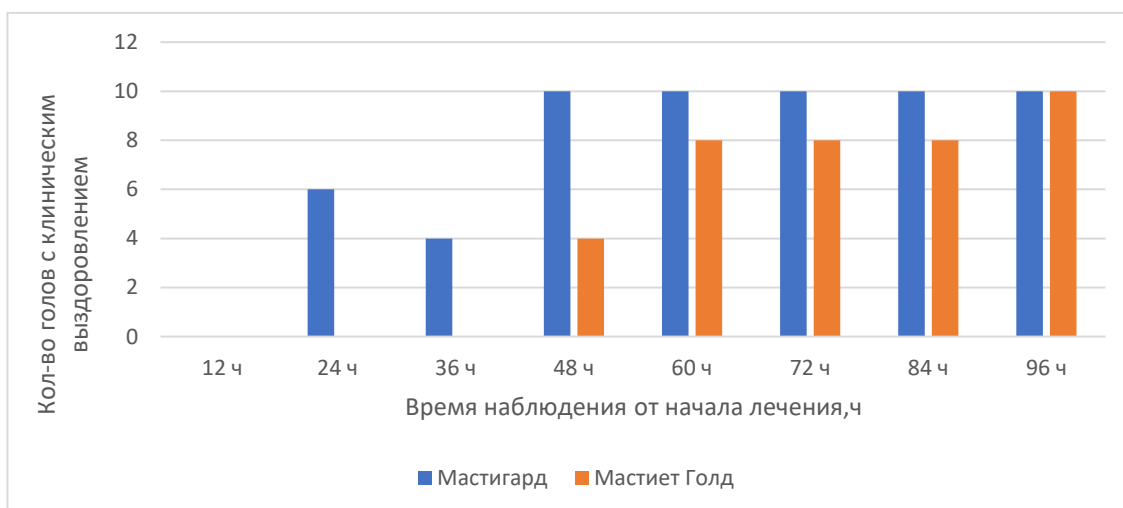


Рисунок 37 – Динамика уменьшения клинических симптомов гнойно-катарального мастита в опытной и контрольной группах

После двукратного введения (с интервалом 24 часа) лекарственного препарата Мастигард у 6 животных в опытной группе отмечали уменьшение количества соматических клеток до диапазона значений  $> 170\ 000 - 500\ 000$  (субклиническая форма), у оставшейся половины коров полученные результаты количества соматических клеток соответствовали клинической форме мастита. В контрольной же группе после четырехкратного применения препарата Маститет Голд (с интервалом в 12 часов) у всех коров диапазон значений соответствовал клинической форме мастита  $> 1\ 000\ 000 - 5\ 000\ 000$  (рисунок 38).

В опытной и контрольной группах продолжали введение препаратов.

После трехкратного введения препарата Мастигард (с интервалом 24 часа) отмечали выздоровление 60% животных, что подтверждалось количеством соматических клеток, соответствующих значениям физиологической нормы, у оставшихся 4 голов отмечали субклиническую форму мастита. В контрольной группе после шестикратного применения препарата Мастьет Голд с интервалом 12 часов только у 4 коров количество соматических клеток снизилось до  $> 170\ 000 - 500\ 000$  (субклиническая форма), у оставшихся 60% животных наблюдали клиническую форму мастита ( $> 1\ 000\ 000 - 5\ 000\ 000$ ) (рисунок 38).

В опытной группе оставшимся 4 коровам вводили препарата Мастигард четырехкратно с интервалом 24 часа. В контрольной группе введение препарата Мастьет Голд продолжили всем животным (рисунок 38).

После четырёхкратного введения препарата Мастигард в опытной группе отмечали 90% выздоровление оставшихся животных, что подтвердили результатами определения количества соматических клеток, которые соответствовали физиологической норме. У одной коровы сохранялась субклиническая форма мастита (рисунок 39).

В контрольной же группе после восьмикратного введения препарата Мастьет Голд было установлено, что выздоровление наступило только у 4 животных (количество соматических клеток соответствовало норме), однако у 4 голов отмечали субклинический мастит и еще у 2 голов клинический мастит на основании количества соматических клеток в молоке (рисунок 39).

В контрольной группе продолжили введение препарата, так после десятикратного введения Мастьет Голд выздоровление отмечали у 4 голов животных, а у двух коров отмечали наличие субклинического мастита.

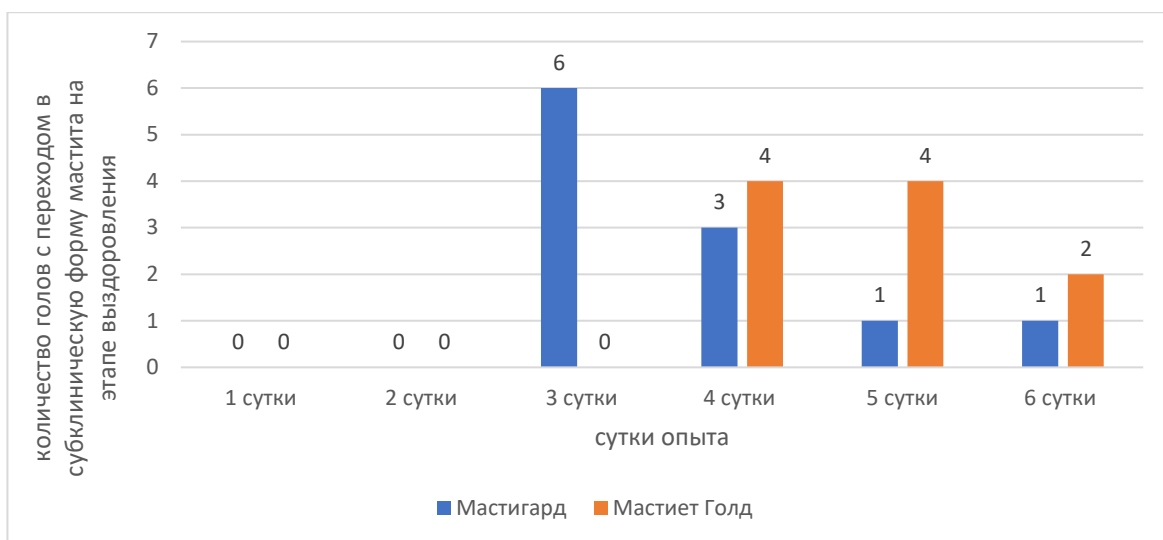


Рисунок 38 – Динамика перехода гнойно-катарального мастита в субклинический в опытных и контрольных группах на основании определения количества соматических клеток в молоке

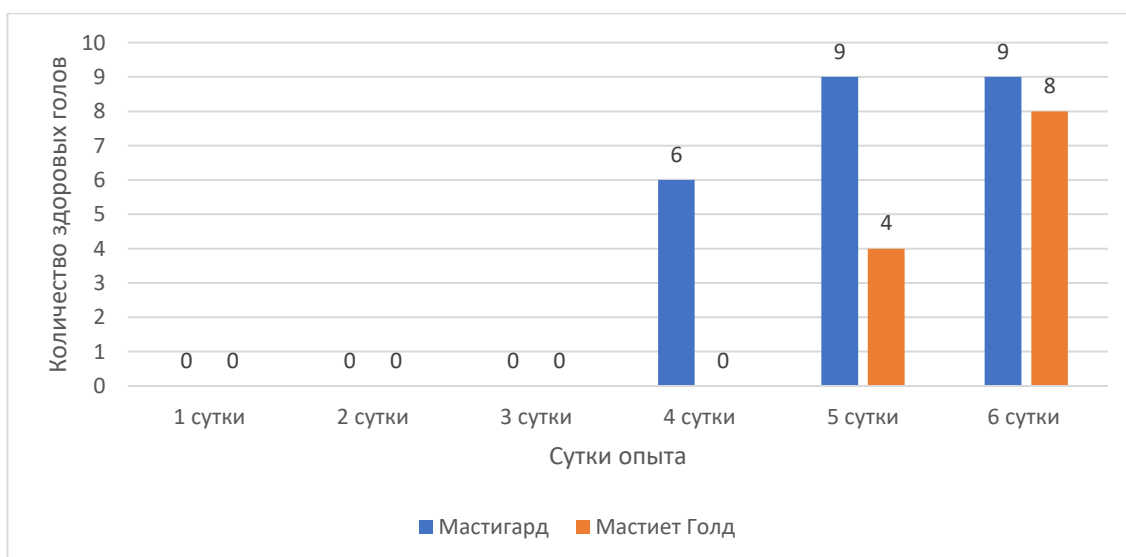


Рисунок 39 – Динамика выздоровления коров в опытной и контрольной группе с гнойно-катаральным маститом на основании определение количества соматических клеток в молоке

После проведенного курса лечения отмечена нормализация морфологических показателей крови (лимфоциты, лейкоциты, гранулоциты и СОЭ) как в опытной, так и в контрольной группах (таблица 51).

В результате бактериологического исследования образцов молока после терапии было выявлено значительное снижение количества КОЕ/мл возбудителей в сравнении с образцами до лечения в опытной и контрольной группах (таблица 52)

Таким образом, в опытной группе после применения препарата Мастигард выздоровление отмечалось у 60% животных после 3-го введения препарата с интервалом 24 часа, у 30% голов – после 4-го введения. У одной коровы сохранялась субклиническая форма мастита. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания у выздоровевших животных не наблюдалось, что подтверждалось исследованием количества соматических клеток в молоке. Эффективность терапии составила - 90% (рисунок 40).

Скорость выздоровления в контрольной группе была медленнее, чем в опытной – 40% животных выздоровело после восьмикратного введения препарата с интервалом 12 часов, 40% голов - после десятикратного введения. Эффективность терапии составила - 80%, так как у 20% сохранялась субклиническая форма мастита. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания у выздоровевших животных не наблюдалось, что подтверждалось исследованием количества соматических клеток в молоке (рисунок 40).

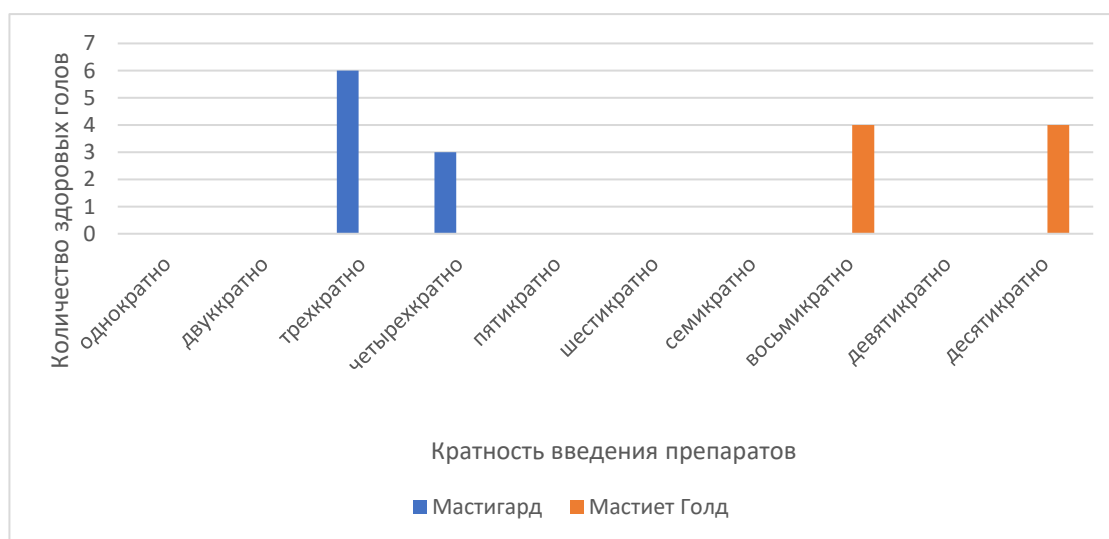


Рисунок 40 – График кратности применения лекарственных препаратов в опытной и контрольной группах при лечении гнойно-катарального мастита

Таким образом, преимуществом лекарственного препарата Мастигард является сокращение кратности введения (в 2-3 раза) и длительность терапии (на 1 сутки). Стоит отметить, что улучшение клинического состояния также наступало в 2 - 3 раза быстрее относительно препарата сравнения, что отразилось на эффективности – 90% при применении препарата Мастигард и 80% при применении препарата Мастийет Голд.

### 3.3.6 Терапевтическая эффективность препарата Мастигард в лечении геморрагического мастита у лактирующих коров

Коровы с симптомами геморрагического мастита до введения лекарственных препаратов были угнетены, аппетит снижен, клинические показатели были повышены, а именно температура тела ( $40,6 \pm 1,8$  и  $41,1 \pm 2,1$  соответственно), пульса ( $89,0 \pm 1,0$  и  $88,5 \pm 3,0$  уд/мин соответственно) и частоты дыхания ( $28,1 \pm 2,1$  и  $27,1 \pm 4,4$  дд/мин соответственно) (таблица 53).

Таблица 53 – Результаты клинического осмотра коров (n=5)

Группы животных	Опыт	Контроль	Норма
1 сутки			
Температура, °C	$40,6 \pm 1,8$	$41,1 \pm 2,1$	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	$89,0 \pm 1,0$	$88,5 \pm 3,0$	50-80
Дыхание, дд/мин	$28,1 \pm 2,1$	$27,1 \pm 4,4$	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	$2,30 \pm 0,7$	$2,1 \pm 0,3$	2-5
5 сутки			
Температура, °C	$38,3 \pm 0,8$	$38,3 \pm 0,3$	37,5-39,5
Пульс, уд/мин	$59,8 \pm 4,3$	$58,5 \pm 2,5$	50-80
Дыхание, дд/мин	$17,7 \pm 0,8$	$17,8 \pm 1,4$	12-25
Сокращения рубца, сокр/2 мин	$4,2 \pm 0,8$	$4,5 \pm 0,8$	2-5

Примечание: M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), при  $p \leq 0,05$  в сравнении с контрольными животными

В результате осмотра было выявлено поражение не менее 2 долей вымени; кожа долей с выраженной гиперемией, местная температура повышена, пораженные доли вымени отечны, чувствительны при пальпации, консистенция долей – тестоватая, при попытке сдаивания животные беспокоились, из пораженных долей выделяется водянистое молоко с примесью крови.

По результатам исследования соматических клеток в образцах молока было выявлено их увеличение в диапазоне  $> 5\ 000\ 000$ , что свидетельствует о проявлении клинической формы мастита.

В результате гематологического исследования проб крови больных животных в опытной и контрольной группах обнаружен лейкоцитоз ( $18,86 \times 10^9/\text{л}$  и  $19,12 \times 10^9/\text{л}$  соответственно) за счет гранулоцитоза (до 54,7% и 55,06%



соответственно) и моноцитоза (до 7,1% и 7,22% соответственно) и увеличение СОЭ до 4,2 и 4 мм/ч соответственно, что свидетельствует о наличии острого воспалительного процесса в организме (таблица 54) [Гавришин В. Г., 1996, Линева А. Н., 2003, Кондрахин И. П., 2004].

Таблица 54 – Гематологические показатели коров до и после терапии (n=5)

Показатели	Норма	Опытная		Контрольная	
		1 сутки (до лечения)	5 суток (после лечения)	1 сутки (до лечения)	5 суток (после лечения)
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	4,0-12,0	18,86±0,28*	11,78±0,35	19,12±0,45*	11,56±0,38
Лимфоциты, %	50,0-62,5	33,24±1,8*	51,66±0,94	32,88±1,55*	57,18±0,85
Моноциты, %	0,6-6,6	7,10±0,29*	4,24±0,33	7,22±0,3*	5,34±0,33
Эозинофилы, %	0,0-20,0	4,96±0,48	7,9±0,13	4,84±0,5	6,8±0,12
Гранулоциты, %	15,0-34,3	54,7±1,41*	36,2±0,88	55,06±1,6*	30,68±0,68
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	5,0-10,0	5,99±0,33	5,96±0,35	5,70±0,19	6,04±0,19
Гемоглобин, г/л	80,0-150,0	93,8±3,46	101,8±2,71	94,1±3,46	106,6±2,01
Гематокрит, %	24,0-46,0	23,26±1,27	23,3±1,3	24,04±0,53	24,28±0,46
СОЭ, мм/ч	0,5-1,5	4,2±0,37*	1,33±0,27	4,0±0,55*	1,02±0,16

Примечание: M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), различия достоверны (\*p≤0,05) в сравнении с контрольными животными

По результатам бактериологического исследования образцов молока от больных животных были выделены следующие возбудители как в виде монокультуры, так и в виде ассоциаций: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *E. coli* (таблица 55).

Таблица 55 – Результаты бактериологического исследования проб молока при геморрагическом мастите

Группа, д/з	№ пробы	Микроорганизм КОЕ/мл	<i>Staphylococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>E. coli</i>
			<i>spp.</i>	<i>spp.</i>	
Контрольная	1	до	1,2x10 <sup>2</sup>	2,3x10 <sup>4</sup>	-
		после	6,3x10 <sup>3</sup>	2,2x10 <sup>3</sup>	-
	2	до	2,4x10 <sup>2</sup>	-	-
		после	2,1x10 <sup>2</sup>	-	-
	3	до	-	7,6x10 <sup>2</sup>	-
		после	-	1,4x10 <sup>1</sup>	-
Опытная	1	до	-	7,3x10 <sup>6</sup>	1,4x10 <sup>1</sup>
		после	1,1x10 <sup>2</sup>	2,1x10 <sup>2</sup>	0,5x10 <sup>1</sup>
	2	до	-	5,2x10 <sup>5</sup>	-
		после	-	1,8x10 <sup>2</sup>	-
	3	до	-	3,4x10 <sup>8</sup>	-
		после	1,3x10 <sup>2</sup>	1,5x10 <sup>3</sup>	-

Примечание: «-» - в 0,1 мл методом посева на поверхность питательной среды микроорганизмов не обнаружено

По результатам проведенного исследования у коров был установлен диагноз геморрагический мастит и назначено лечение в опытной группе препаратом Мастигард – 1 шприц в каждую пораженную четверть вымени, однократно, при необходимости повторение через 24 часа, в контрольной группе Маститет Голд в соответствии с инструкцией по применению.

При наблюдении за животными опытной группы с диагнозом геморрагический мастит установлено, что первые улучшения со стороны вымени отмечены через 24-36 часов после первого введения препарата. Выздоровление по клиническим признакам (нормализация общего состояния, исчезновение отека и болезненности вымени, нормализация секреции молока) отмечены через 24-48 часов от начала лечения (рисунок 41).

Динамика выздоровления животных контрольной группы была длительнее, клиническое улучшение состояния животных отмечали через 48-72 часа от начала лечения (рисунок 41).

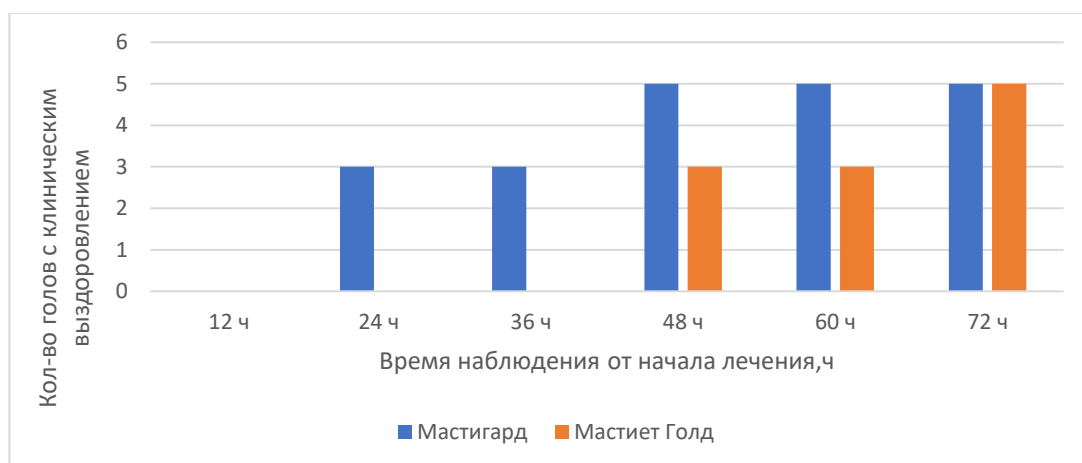


Рисунок 41 – Динамика уменьшения клинических симптомов геморрагического мастита в опытной и контрольной группах

По результатам проведенного исследования экспресс-тестом на определение количества соматических клеток в молоке, на вторые сутки опыта, не было отмечено их снижения у животных как в опытной, так и в контрольной группах. На основании полученных результатов лечение в опытной и контрольной группе было продолжено (рисунок 42).

После двукратного введения препарата с интервалом в 24 часа в опытной группе отмечали уменьшение количества соматических клеток у 3 животных до показателей нормы, еще у двух отмечали сохранение субклинической формы мастита. В контрольной же группе после четырехкратного введения препарата Мастийет Голд с интервалом 12 часов у всех 5 животных отмечали сохранение количества соматических клеток в диапазоне, соответствующему клиническому маститу (рисунок 42).

После трехкратного введения препарата Мастигард (с интервалом 24 часа) в опытной группе количество соматических клеток соответствовало диапазону нормы 0 – 170 000. В контрольной группе выздоровление 4 животных из 5 было отмечено только после шестикратного введения препарата, у одного животного сохранялась субклиническая форма мастита (рисунок 43).

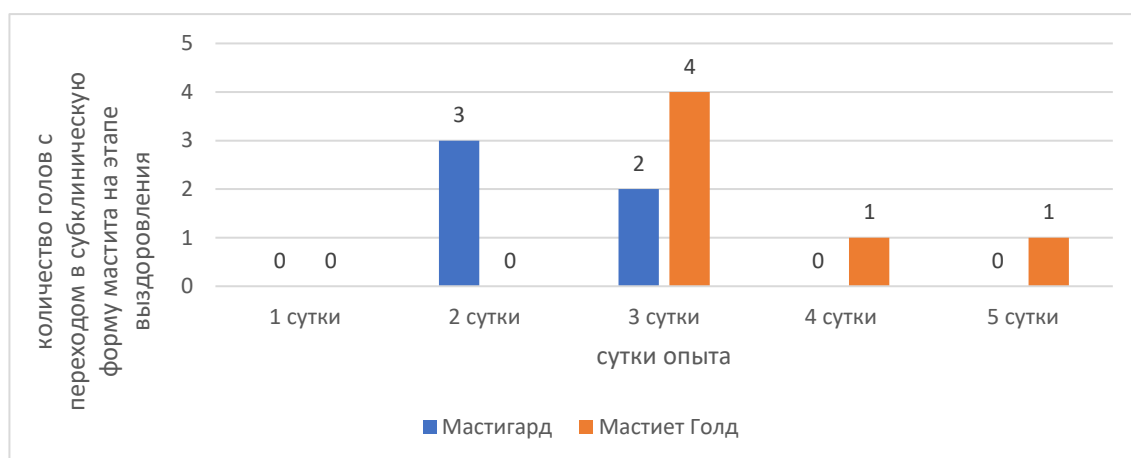


Рисунок 42 – Динамика перехода геморрагического мастита в субклинический в опытных и контрольных группах на основании определения количества соматических клеток в молоке

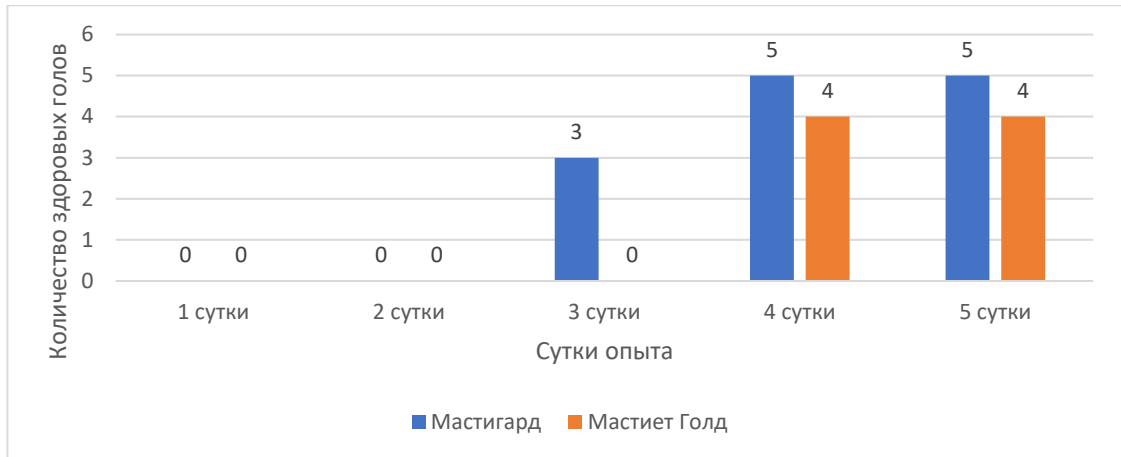


Рисунок 43 – Динамика выздоровления коров в опытной и контрольной группе с геморрагическим маститом на основании определения количества соматических клеток в молоке

После проведенного курса лечения отмечена нормализация морфологических показателей крови как в опытной, так и в контрольной группах (таблица 54).

В результате бактериологического исследования образцов молока после терапии было выявлено значительное снижение количества КОЕ/мл возбудителей в сравнении с образцами до лечения в опытной и контрольной группах (таблица 55)

Таким образом, в опытной группе после применения препарата Мастигард выздоровление отмечалось у 60% животных после 2-го введения препарата, еще у 40% – после 3-го введения с интервалом 24 часа. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания у выздоровевших животных не наблюдалось, что подтверждалось исследованием количества соматических клеток в молоке. Эффективность терапии составила 100% (рисунок 44).

Скорость выздоровления в контрольной группе была немного хуже – 60% животных выздоровело после шестикратного введения, 20% – после восьмикратного введения с интервалом 12 часов. Эффективность терапии препаратом сравнения составила 80%. У одного животного сохранялась субклиническая форма мастита. Через 5 суток после завершения лечения рецидивов заболевания у выздоровевших животных не наблюдалось, что подтверждалось исследованием количества соматических клеток в молоке (рисунок 44).



Рисунок 44 – График кратности применения лекарственных препаратов в опытной и контрольной группах при лечении геморрагического мастита

Таким образом, преимуществом лекарственного препарата Мастигард является сокращение кратности введения (в 2-3 раза) и длительность терапии (на 1-2 суток меньше). Стоит отметить, что улучшение клинического состояния также наступала в 2 -3 раза быстрее относительно препарата сравнения, что отразилось на эффективности терапии – 100% при применении препарата Мастигард и 80% при применении препарата Мастьет Голд.

### 3.3.7 Обобщающие выводы по оценке терапевтической эффективности лекарственного препарата Мастигард в терапии различных видов мастита коров

Анализируя полученные результаты исследования эффективности лечения препаратом Мастигард различных форм (субклинической, серозной, катаральной, фибринозной, гнойно-катаральной, геморрагической) мастита коров, установлена высокая терапевтическая эффективность равная 90-100% (рисунок 45).

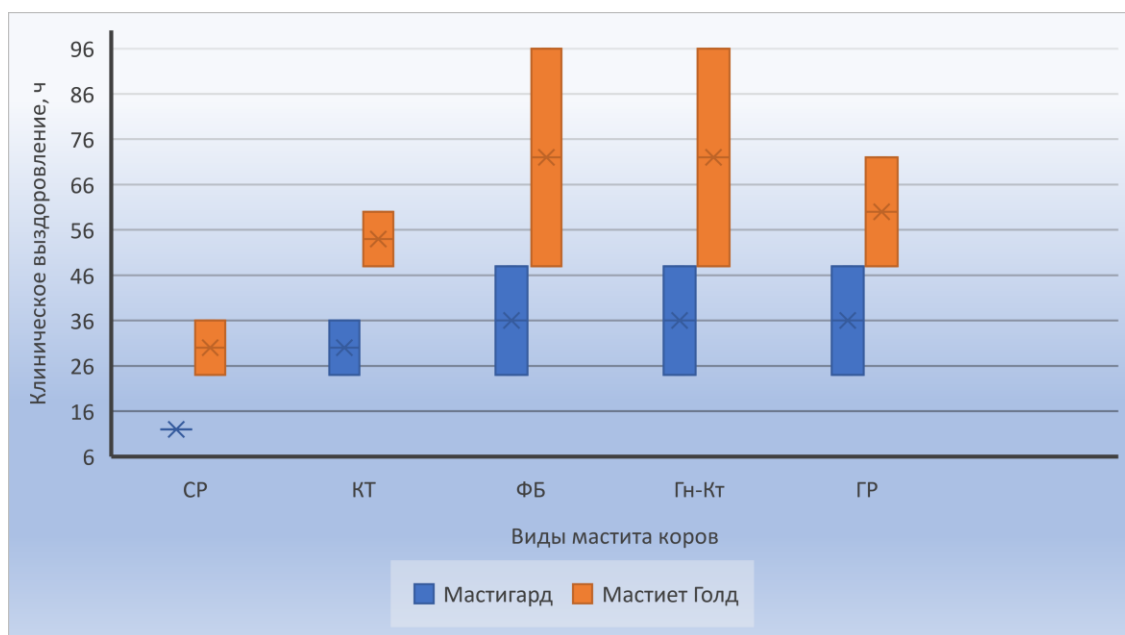


Рисунок 45 – Клиническое выздоровление коров после лечения препаратами Мастигард и Мастьет Голд различных форм мастита. Примечания: CP-серозный, КТ-катаральный, ФБ-фибринозный, Гн-Кт- гнойно-катаральный, ГР-геморрагический

Из рисунка 45 видно, что клинические выздоровление коров при применении препарата Мастигард наступала гораздо быстрее от 12 до 48 ч в зависимости от формы мастита, в сравнение с препаратом Мастьет Голд от 24 до 96 ч.

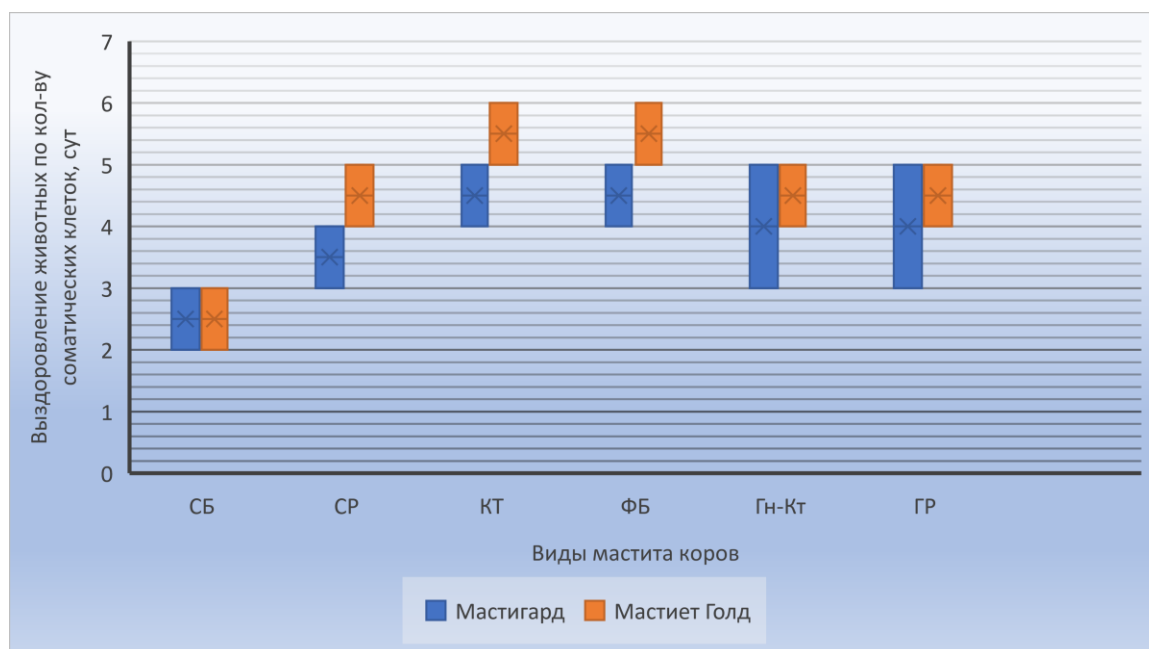


Рисунок 46 – Выздоровление коров, подтвержденное количеством соматических клеток, после лечения препаратами Мастигард и Мастьет Голд различных форм мастита представленное в сутках. Примечания: СБ-субклинический, CP-серозный, КТ-катаральный, ФБ-фибринозный, Гн-Кт- гнойно-катаральный, ГР-геморрагический

Результаты изучения эффективности продемонстрировали, что при применении препарата Мастигард выздоровление наступала на 2 – 5 сутки в зависимости от вида мастита и тяжести течения заболевания, тогда как применение препарата Мастьет Голд приводило к выздоровлению на 2 – 6 сутки. Рисунок 46 наглядно демонстрирует, что во всех случаях клинического мастита выздоровление при применении препарата Мастигард наступало на 1-2 суток быстрее, чем при применении препарата Мастьет Голд.

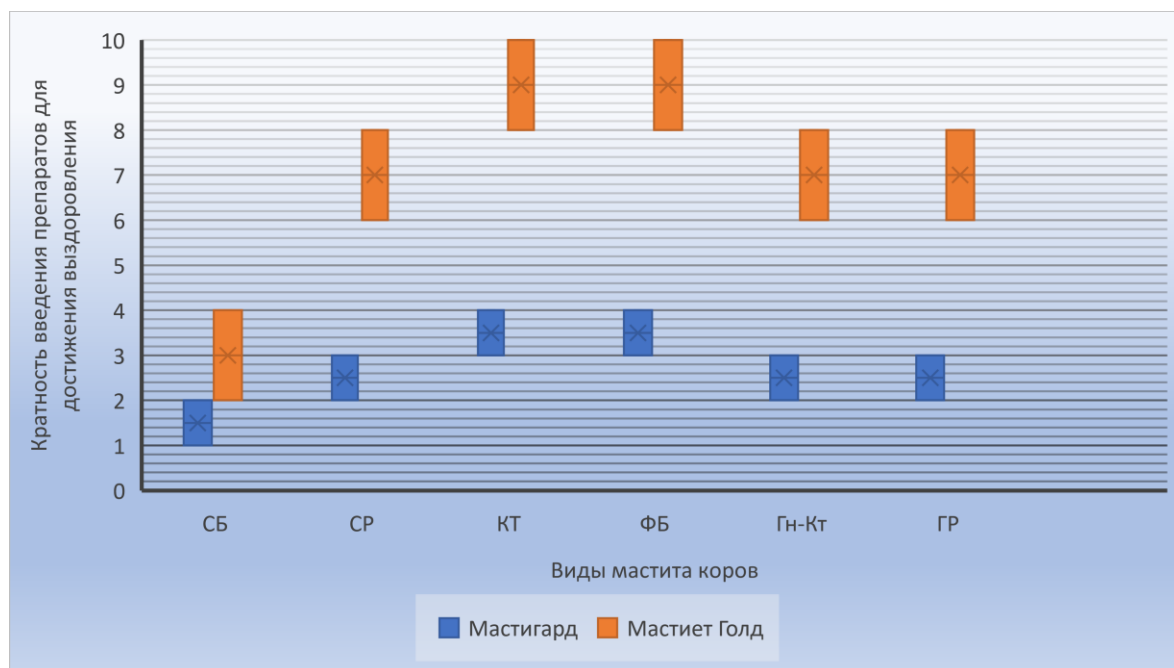


Рисунок 47 – Кратность введения препаратов Мастигард и Мастьет Голд при различных формах мастита для достижения выздоровления коров. Примечания: СБ- субклинический, СР-серозный, КТ-катаральный, ФБ-фибринозный, Гн-Кт- гнойно-катаральный, ГР-геморрагический

Преимуществом лечения различных форм мастита коров препаратом Мастигард является также кратность его применения. Так, для достижения выздоровления животных потребовалось от 1 до 4 введений препарата Мастигард с интервалом в 24 часа, тогда как применение препарата Мастьет Голд равнялось от 2 до 10 раз с интервалом в 12 часов. (рисунок 47)

Таким образом, проведенное исследование сравнительной эффективности позволяет сделать вывод, что применение препарата Мастигард обеспечивает быстрое уменьшение клинических симптомов заболевания, сокращает сроки выздоровления животных и кратность введения лекарственного препарата. Достижение 90-100% терапевтического эффекта даже в случае тяжелых форм клинического мастита (серозный,

геморрагический, катаральный, гнойно-катаральный) обеспечивается за счет комбинации действующих веществ, направленных не только на устранение причины (этиологический фактор) мастита, но и на патогенетические факторы, купируя воспаление, за счет механизмов действия преднизолона.



### 3.4 Экономическая эффективность использования средств и способов терапии мастита коров

Расчет экономической эффективности применения ветеринарных препаратов для лечения мастита у коров проводили в соответствии с «Методикой определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий», разработанной Ю.Е. Шатохиным, И.Н. Никитиным, П.А. Чулковым, В.Ф. Воскобойником и утвержденной Департаментом ветеринарии МСХ РФ 21 февраля 1997 г.

Нами был проведен расчет экономической эффективности применения при субклиническом мастите у коров нового препарата Мастигард и зарегистрированного препарата Мастьет Голд.

Фактический экономический ущерб складывается из потери молочной продуктивности и снижения качества продукции. Потерю молочной продуктивности при лечении группы коров, больных субклиническим маститом, рассчитывали по формуле:

$$У1 = M_3 \times (B_3 - B_0) \times T \times Ц, \quad (6)$$

где  $M_3$  – количество заболевших животных;  $B_3$  – среднесуточная продуктивность здоровых животных;  $B_0$  – среднесуточная продуктивность больных животных;  $T$  – средняя продолжительность наблюдения за изменением продуктивности животных;  $Ц$  – цена одного кг продукции.

Так, при применении противомаститного препарата Мастигард ущерб составил 25200 руб., а препарата Мастьет Голд – 33600 руб.

Ущерб от снижения качества продукции рассчитывали по формуле:

$$У2 = B_p \times (Ц_3 - Ц_6), \quad (7)$$

где  $B_p$  – количество реализованной продукции пониженного качества,  $Ц_3$  – цена реализации единицы продукции, получаемой от здоровых животных,  $Ц_6$  – цена реализации единицы продукции, получаемой от больных животных.

Экономический ущерб от снижения качества продукции при применении противомаститного препарата Мастигард составил 19200 руб., в то время как препарата Мастьет Голд – 25600 руб.

Таким образом, фактический экономический ущерб при использовании нового препарата Мастигард был равен 44400 руб., а препарата Мастьет Голд – 59200 руб.

Предотвращенный экономический ущерб в результате лечения мастита у коров, рассчитывали по формуле:

$$\Pi_y = M \times K_z \times K_{пп} \times Ц - У, \quad (8)$$

где: М – число животных в стаде, группе;  $K_z$  – коэффициент заболеваемости;  $K_{пп}$  – коэффициент потери продукции; Ц – закупочная цена единицы продукции; У – суммарный экономический ущерб.

Предотвращенный экономический ущерб при применении препарата Мастигард составил 81600 руб., а препарата Мастьет Голд – 108800 руб.

Ветеринарные затраты на лечение группы коров, больных маститом, (n=10) составили при применении препарата Мастигард 22600 руб. и 29000 руб. при применении препарата Мастьет Голд.

Экономическая эффективность проводимых ветеринарных мероприятий на один рубль затрат при лечении субклинического мастита коров рассчитывалась по формуле:

$$\text{Эр} = \text{Эв} / \text{Зв}, \quad (9)$$

где Эв – экономический эффект; Зв – затраты на проведение ветеринарных мероприятий. Было установлено, что при лечении воспаления вымени противомаститным препаратом Мастигард экономическая эффективность на 1 рубль затрат составила 2,6 руб., в то время как препаратом Мастьет Голд – 2,8 руб.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одной из самых распространенных патологий среди молочного скота является мастит. Заболевание данной патологией у коров по данным статистики может достигать до 73,4%. В связи с тем, что молочное скотоводство является наиболее перспективной отраслью агропромышленного комплекса в России, основной целью которой является увеличение объемов надоя молока, сохранение и повышение его биологической ценности, лечение мастита коров остается актуальной проблемой [Хромова Л. Г., Востроилов А. В., Байлова Н. В., 2020; Волостнова А. А., Грехнева, К. С., Волошина Н. М. и др., 2022; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М., 2023; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2024]. Основными причинами, вызывающие развитие воспаления молочной железы, являются системные заболевания, ушибы, травмы и инфицирование микроорганизмами. Важную роль в этиологии мастита играет высокая продуктивность, наследственность, неравномерное развитие четвертей вымени, нарушение технологии кормления и содержания, а также технологии и гигиены доения [Скопичев В. Г., 2017; Лучко И. Т., 2019; Христова Л. Г., Востроилов А. В., Байлова Н. В., 2020; Волостнова А. А., Грехнева, К. С., Волошина Н. М. и др., 2022; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М., 2023; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2024]. Основными возбудителями мастита крупного рогатого скота являются грамотрицательные виды *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, грамположительные виды *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* и *Staphylococcus aureus*, а также *Corynebacterium bovis*, виды *Mycoplasma*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia*, *Pseudomonas*, виды *Proteus* [Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М., 2024; Zadoks R. N., Middleton J. R., McDougall S., 2011; Klaas I. C., Zadoks R. N., 2017; Krishnamoorthy P., Suresh K. P., Jayamma K. S., 2021].

Основным способом лечения воспаления молочной железы у коров является антибиотикотерапия, так как данное заболевание обусловлено бактериальными возбудителями. На рынке широко представлены антибактериальные препараты различными группами и их комбинациями как отечественного, так и зарубежного производства форме инъекций, а также для интрамаммарного введения.

При этом несмотря на большое количество лекарственных средств, присутствующих на рынке, ветеринарные специалисты регулярно сталкиваются со снижением эффективности лечения, обусловленным в первую очередь выработкой механизмов устойчивости у патогенных микроорганизмов к действующим веществам. Поэтому для успешного лечения мастита необходимо использование лекарственных средств широкого спектра действия и регулярная их ротация с учетом высокой видовой чувствительности бактерий к антибиотикам [Алиев А. Ю., 2020; Люсин Е. А., 2021; Sharun K., 2021; Gomes F., Henriques M., 2016].

Использование комбинации действующих веществ, усиливающих терапевтическую эффективность, а также обеспечение симптоматической терапии, направленной на уменьшение воспаления является одним из ключевых ресурсов в решении проблемы развития резистентности микроорганизмов при антибактериальной терапии маститов [Ладанова М. А., 2021; Овсянников А. П., Хайруллин Д. Д., Домолазов С. М. и др., 2022; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М., 2023; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2024; Sharun K., 2021; Chuzhebaeva G., 2020].

С этой целью был разработан лекарственный препарат Мастигард, который в 1 шприце в качестве действующих веществ содержит левофлоксацин гемигидрат – 1000 мг, нозигептид – 5 мг, преднизолон натрия фосфат – 20 мг и вспомогательные вещества. Комбинация левофлоксацин + нозигептид обладает синергизмом действия, усиливая антибактериальную активность, что было доказано собственными исследованиями в отношении

основных возбудителей мастита *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter* spp. и *Escherichia coli*. Введение в состав препарата преднизолона обеспечивает местное противовоспалительное действие, сокращая сроки выздоровления животного и восстановления продуктивности. Интрацистернальное введение лекарственного препарата Мастигард обеспечивает местное действие на ткани вымени, воздействуя именно в месте элиминации возбудителя, не оказывая системного воздействия на организм.

При изучении острой токсичности на крысах препарата Мастигард вводили однократно перорально, с помощью атравматического внутрижелудочного зонда, в дозе 2000 мг/кг. В результате гибели животных и признаков интоксикации не отмечали. Регулярный контроль массы тела свидетельствовал о равномерных привесах всех опытных животных на протяжении 14 суток наблюдений, по результатам аутопсии патологий внутренних органов выявлено не было. Полученные данные позволяют сделать вывод, что  $LD_{50}$  испытуемого препарата составляет более 2 000 - 5 000 мг/кг, что соответствует 5 классу токсичности согласно СГС.

Исследование субхронической токсичности при многократном введении проводили на лабораторных крысах, препарата Мастигард применяли внутрижелудочно в нативном виде, с помощью атравматического зонда, в дозах (по препарату) 1800 мг/кг, 900 мг/кг и 90 мг/кг массы тела в течение 12 суток. В результате проведенного исследования установлено, что применение препарата в максимальной терапевтической дозе не оказывает влияния на организм животных, не вызывает системных реакций и хорошо переносится. Введение повышенных доз препарата 1800 мг/кг и 900 мг/кг оказывает влияние на метаболические процессы в печени, характеризующиеся увеличением показателей АСТ и ЩФ, а также при макроскопическом исследовании внутренних органов. Стоит отметить, что все выявленные изменения были обратимы после отмены препарата.

Оценка переносимости (субхронической токсичности) на целевых видах животных – коровах при интрацистернальном введении в течение 6 суток

препарата Мастигард в дозе 40 г/голову и 80 г/голову не выявила патологического системного влияния на организм коров как в терапевтической, так и в повышенной дозах. Местно-раздражающего действия на молочную железу при длительном применении терапевтической дозы препарата Мастигард не установлено. При увеличении дозы и кратности введения препарата, рекомендуемых инструкцией, приводит к незначительному раздражению тканей молочной железы, однако данные изменения самостоятельно купируются после отмены препарата.

Эмбриотоксическое и тератогенное действие было изучено при многократном пероральном введении с помощью атравматического внутрижелудочного зонда лекарственного препарата Мастигард в дозе 0,11 мл/100 г и 0,22 мл/100 г в течение всей беременности и лактации. Подтверждает отсутствие эмбриотоксического и тератогенно действия на потомство. Установлено, что в терапевтической и двукратно повышенной дозах препарат Мастигард не оказывает тератогенного эффекта и эмбриотоксического действия, а также не влияет на физическое и сенсорно-двигательное развитие потомства в антенатальный и постнатальный период развития.

Исследования терапевтической эффективности препарата Мастигард были проведены на базе хозяйства Саратовской области на лактирующих коровах симментальской породы в возрасте 4-5 лет (3-я, 4-я лактации), с диагнозами – субклинический и клинический (серозный, катаральный, фибринозный, гнойно-катаральный и геморрагический) мастит. По результатам бактериологического исследования образцов молока от больных животных были выделены следующие возбудители как в виде монокультуры, так и в виде ассоциаций: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *E. coli*. При субклинической и серозной формах потребовалось двукратное введение препарата, при катаральной и геморрагической – 2-3 раза, при фибринозной и гнойно-катаральной – 3-4 раза. Эффективность терапии при различных формах мастита составила от 90 до 100%.

С учетом проведенных исследований ветеринарной практике предложен новый препарат Мастигард, обладающий выраженным антибактериальным и противовоспалительным действием. На Мастигард разработана и зарегистрирована нормативная документация – инструкция по применению препарата в ветеринарии.

Таким образом, проведенные исследования позволили разработать комбинированный оригинальный препарат Мастигард и получить данные о его фармако-токсикологических свойствах. Совокупный анализ полученных результатов и широкий спектр антибактериальной активности дает основание рекомендовать применение Мастигарда в лечении мастита различной этиологии, позволяя быстро достигать терапевтического эффекта и восстанавливать молочную продуктивность целевых животных.

## ВЫВОДЫ

1. Разработан комбинированный антибактериальный лекарственный препарат Мاستигард для интрацестернального введения, представляющий собой прозрачный или слабо опалесцирующий гель от зеленовато-желтого до желтого цвета, содержащий в 1 шприце (10 г) в качестве действующих веществ левофлоксацин гемигидрат – 1000 мг, нозигептид – 5 мг, преднизолона натрия фосфат – 20 мг и вспомогательные вещества.
2. По результатам изучения острой токсичности на крысах после однократного перорального введения препарата Мастигард в дозе 2 000 мг/кг гибели животных не было выявлено. Полученные данные позволяют сделать вывод, что  $LD_{50}$  испытуемого препарата составляет более 2 000 - 5 000 мг/кг, что соответствует 5 классу токсичности согласно СГС.
3. В результате изучения субхронической токсичности при многократном внутрижелудочном введении, с помощью атравматического зонда, препарата Мастиград в дозах 1800 мг/кг, 900 мг/кг и 90 мг/кг массы тела в течение 12 суток установлено, что применении максимальной терапевтической дозы (90 мг/кг) не вызывает побочных реакций и системных изменений в организме у лабораторных животных и хорошо переносится ими. Введение высоких доз 900 и 1800 мг/кг массы тела (10-кратная и 20-кратная терапевтические дозы) препарата может оказывать влияние на метаболические процессы в печени, характеризующиеся увеличением таких показателей как АЛТ и ЩФ, которые являются обратимыми после его отмены и не отличались от видовой нормы.
4. Оценка субхронической токсичности (переносимости) на целевых видах животных – коровах при введении здоровым животным в течение 6 суток препарата Мастигард в дозе 40 г/голову и 80 г/голову подтвердило, что препарат в терапевтической и повышенной дозах не оказывает патологического системного влияния на организм коров. Длительное применение терапевтической дозы препарата Мастигард не вызывает местно-раздражающего действия на молочную железу. При увеличении дозы и



кратности введения препарата, рекомендуемых инструкцией, приводит к незначительному раздражению тканей молочной железы, однако данные изменения самостоятельно купируются после отмены препарата.

5. Исследование эмбриотоксического и тератогенного действия при многократном пероральном введении с помощью атравматического внутрижелудочного зонда лекарственного препарата Мастигард в дозе 0,11 мл/100 г и 0,22 мл/100 г в период беременности и лактации подтверждает отсутствие эмбриотоксического и тератогенно действия на потомство.

6. По результатам оценки эффективности терапии препаратом Мастигард в дозе 10 г (содержимое 1 шприца) на пораженную четверть вымени различных форм (субклинической, серозной, катаральной, фибринозной, гнойно-катаральной, геморрагической) мастита коров установлена высокая терапевтическая эффективность равная 90-100%.

7. Результаты оценки экономической эффективности продемонстрировали, что при лечении воспаления вымени противовоспалительным препаратом Мастигард экономическая эффективность на 1 рубль затрат составляет 2,6 руб., в то время как препаратом Маститет Голд – 2,8 руб.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Ветеринарной практике предложен новый препарат Мастигард, обладающий широким спектром антибактериальной активности и местным противовоспалительным действием в лечении маститов различной этиологии.

Рекомендуется применять Мастигард двух-четырёхкратно с интервалом в 24 часа по 1 шприцу (10 г) в каждую пораженную четверть вымени при маститах различных форм (субклинической, серозной, катаральной, фибринозной, гнойно-катаральной, геморрагической) сельскохозяйственным животным – коровам, в зависимости от тяжести течения заболевания.

На Мастигард разработана нормативная документация (инструкция по применению препарата в ветеринарии), определяющая условия его применения, рассмотренная и зарегистрированная Россельхознадзором от 09 июня 2022 г.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Алиев, А. Ю. Микрофлора молока больных субклиническим маститом коров и овцематок и её антибиотикочувствительность / А. Ю. Алиев // Ветеринарная патология. – № 2. – 2019. – С. 43-47.
2. Алиев, А. Ю. Эффективный метод лечения мастита у коров / А. Ю. Алиев // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2020. – № 2(34). – С. 263-267. – DOI 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202002023. – EDN EYQVJM.
3. Анкудинова, В. В. Распространение мастита среди коров в ООО "ЗапСибХлеб-Исеть" / В. В. Анкудинова, А. В. Плахотник, Л. А. Глазунова // Роль аграрной науки в развитии АПК РФ : материалы международной научно-практической конференции, посвященной 105-летию ФГБОУ ВО Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, Воронеж, 01–02 ноября 2017 года. Том Часть 1. – Воронеж: Воронежский государственный аграрный университет, 2017. – С. 247-250. – EDN YVCEKB.
4. Балковой, И. И. Биологические принципы лечения электромагнитным полем УВЧ коров при мастите / И. И. Балковой, В. П. Иноземцев, А. Г. Самоделкин // Ветеринария, 1993. – №6. – С. 40-43.
5. Балковой, И. И. Влияние лазерного излучения на время проявления иммунного ответа в организме коров при заболевании маститом / Балковой И. И., Иноземцев В. П., Нежданов А. Г // теоретич. и практ. аспекты возник, и развития болезней животных и защиты здоровья в современных условиях : матер. международ. конф. – Воронеж, 2000. – Т.1 – С. 137-139.
6. Барышев, В. А. Токсико-фармакологическая характеристика препарата Мастифит : автореферат дис. кандидата ветеринарных наук : 06.02.03 / Барышев Виктор Анатольевич // [Место защиты: С.-Петербург. гос. акад. вет. медицины]. – Санкт-Петербург. – 2017. – 17 с.

7. Белкин, Б. Л. Мастит коров : монография / Б. Л. Белкин, В. Ю. Комаров, В. Б. Андреев // Изд-во : LAPLAMBERT Academic Publishing, 2015. – с. 113.
8. Белоусов, Ю. Б., Мухина, М. А. Клиническая фармакология левофлоксацина. – РМЖ. – 10 (23). – 2002. – С. 1057–1062.
9. Бабенко, Ю. В. Незаразные болезни с.-х. животных : маститы коров / Ю. В. Бабенко. – Москва : Вет. консультант, 2004. – № 13 (сент.). – 15 с.
10. Березняков, И. Г. Фторхинолоны: уникальный класс антибактериальных средств / И. Г. Березняков // Инфекции и антибиотики. – Харьков : Константа. – 2004. – С. 146–164.
11. Беляков, В. И. Лабораторные крысы: содержание, разведение, кормление и использование в биомедицинских исследованиях : учеб. пособие. Федеральное агентство по образованию. – Самара. – Изд-во : «Самарский университет». – 2008. – 40 с.
12. Волостнова, А. А., Грехнева, К. С., Волошина, Н. М., Монастырева, А. Н. Эффективность комплексной терапии маститов у коров / А. А. Волостнова, К. С. Грехнева, Н. М. Волошина, А. Н. Монастырева // Colloquium-journal. – 2022. – №2 (125). – URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/effektivnost-kompleksnoy-terapii-mastitov-u-korov>.
13. Гавриш, В. Г. Настой листа толокнянки в терапии мастита у коров / В. Г. Гавриш // Эколог. аспекты производства и переработки с./х. сырья при создании продуктов питания 21 века : матер. межвед. науч.-практ. конф. – Волгоград. – 2000. – С. 284-286.
14. Гавриш, В. Г., Калюжный, И. И. Справочник ветеринарного врача / В. Г. Гавриш, И. И. Калюжный // Ростов-на-Дону. – Изд-во : Феникс. – 1996. – 576 с.
15. Гамаюнов, В. М. Эффективность Ваккамаста при мастите у лактирующих коров / В. М. Гамаюнов, А. Х. Амиров // Ветеринария. – 2016. – № 5. – С. 32-34. – EDN WJGEYJ.
16. Гируцкий, И. И., Ракевич, Ю. А., Сеньков, А. Г. Экспериментальные исследования термографического метода диагностики мастита дойных

- коров. Механизация и электрификация сельского хозяйства. – 2020. – (54). – С. 203-210.
17. Глотова, Т. И. Частота выделения бактерий рода *Salmonella* от крупного рогатого скота на молочных комплексах / Т. И. Глотова, С. В. Котенева, А. В. Нефедченко, А. Г. Гловтов // Ветеринария. – 2021. – № 1. – С. 19– 23.
18. Гловтов, А. Г. Этиологическая структура массовых респираторных болезней молодняка крупного рогатого скота в хозяйствах, занимающихся производством молока / А. Г. Гловтов [и др.] // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2008. – № 3. – С. 72– 78.
19. Глотова, Т. И. Возбудители мастита у коров на крупных молочных комплексах и их резистентность к антибактериальным препаратам / Т. И. Глотова [и др.] // Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка : материалы Международной научно-практической конференции (г. Витебск, 2-4 ноября 2022 г.) / Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии. – Витебск : ВГАВМ. – 2022. – С. 72-79.
20. Горбенко, А. В. Возбудители клинических маститов коров и их чувствительность к антибактериальным препаратам / А. В. Горбенко [и др.] // Ветеринарная медицина. – 2013. – № 97. – С. 176–179
21. Грабовский, К. Ю. Опыт лечения мастита у коров в условиях хозяйств Тюменской области / К. Ю. Грабовский, К. А. Сидорова // Достижения молодежной науки для агропромышленного комплекса : сборник LVI научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Тюмень, 01 марта 2023 года. – Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья. – 2023. – С. 19-22. – EDN MEUIJL.
22. Грицюк, В. А. Терапевтическая эффективность препарата "Субмастин-КРС" при субклиническом мастите у коров / В. А. Грицюк [и др.] // Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак Почета"

- государственная академия ветеринарной медицины". – 2022. – Т. 58, вып. 1. – С. 8-11. – DOI : 10.52368/2078-0109-2022-58-1-8-11.
23. Давыдова, Ю. В. Эффективность применения левофлоксацина в современной клинической практике / Ю. В. Давыдова, А. Ю. Лиманская // Здоровье женщины. – 2015. – № 8 (104). – С. 73–76.
24. Доровских, В. А. Глюкокортикоиды : от теории к практике: учебное пособие // Благовещенск: АГМА. – 2006. – 77 с.
25. Донник, И. М. Влияние технологии доения на молочную продуктивность и качество молока коров / И. М. Донник, О. Г. Лоретц // Аграрный вестник Урала. – 2014. – № 12 (130). – С. 13-16.
26. Дорофеев, В. Л. Инфракрасные спектры и строение молекул лекарственных веществ группы фторхинолонов [Текст] / В. Л. Дорофеев // Химико-фармацевтический журнал. – 2004. – Т. 38. – №12. – С.45-49.
27. Забровская, А. В. Эпизоотологический анализ распространения антибиотикорезистентных штаммов возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных в Северо-Западном Федеральном округе Российской Федерации : автореф. дисс. д-ра вет. наук / А. В. Забровская. – Санкт-Петербург. – 2019. – 41 с.
28. Зимников, В. И. Результаты изучения безвредности (переносимости) препарата "рекомбинантный интерферон-лямбда" / О. Б. Павленко, Г. Г. Чусова, Л. В. Ческидова // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2022. – № 2 (19). – С. 8-20. – DOI : 10.17238/issn2541-8203.2022.2.8. – EDN ORLADQ.
29. Зимников, В. И. Показатели секрета молочной железы клинически здоровых лактирующих коров при применении препарата "Проаутовак" для профилактики мастита / [и др.] // Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины". – 2022. – Т. 58, вып. 3. – С. 34-38. – DOI : 10.52368/2078-0109-2022-58-3-34-38.

30. Иванюк, В. П., Бобкова, Г. Н. Этиологические аспекты и разработка лечебных приёмов при остром катаральном мастите у коров // Известия ОГАУ. – №1 (81). – 2020. – С. 136-139. – URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/etiologicheskie-aspekty-i-razrabotka-lechebnyh-priyomov-pri-ostrom-kataralnom-mastite-u-korov>
31. Исаченкова, А. В. Антимикробный эффект разных схем лечения коров, больных маститом / А. В. Исаченкова, А. С. Димова, М. А. Леонова // Теория и практика современной аграрной науки : Сборник VI национальной (всероссийской) научной конференции с международным участием, Новосибирск, 27 февраля 2023 года. – Новосибирск: ИЦ НГАУ «Золотой колос». – 2023. – С. 1059-1063. – EDN ELSZKS.
32. Казеев, Г. В. Лазеротерапия и лазеропунктура при акушерскогинекологических заболеваниях коров / Г. В. Казеев, И. И. Балковой, В. Н. Миронов [и др.] // Ветеринария. – 2002. – №2. – С. 34-36.
33. Камышанов, А. С. Влияние субклинического и клинически выраженного мастита, перенесенного в период беременности, на проявление родовых и послеродовых патологий у высокопродуктивных коров / А. С. Камышанов // Universum: химия и биология : электронный научный журнал. – 2021. – № 2 (80). – С. 21–25.
34. Кассирский, И. А. Клиническая гематология / И. А. Кассирский, Г. А. Алексеев // М. : – 1970. – 800 с.
35. Кашковская, Л. М., Сафарова, М. И., Панков, И. Ю. Комплексная терапия маститов коров и ММА-синдрома свиней : Практические рекомендации. – М. : МаркетМаш Принт. – 2014. – 26 с.
36. Кирсанов, В. В. Способы и технические средства определения ранней диагностики мастита у коров и отделения аномального молока в потоке при доении на доильных установках / В. В. Кирсанов, О. В. Милешина // Техника и технологии в животноводстве. – 2011. – №. 2 (2). – С. 54-58.
37. Климов, Н. Т. Мастит коров. Симптомы, профилактика и лечение / Н. Т. Климов // БИО. – 2020. – № 4 (235). – С. 16– 19.

38. Климов, Н. Т. Роль нарушения технологии доения в возникновении мастита у коров в современных доильных залах / Н. Т. Климов, В. А. Париков, В. И. Михалев [и др.] // Актуальные проблемы повышения эффективности агропромышленного комплекса : материалы международной научно-практической конференции, Курск, 23–25 января 2008 года. Том Часть 3. – Курск: Курская государственная сельскохозяйственная академия им. профессора И.И. Иванова. – 2008. – С. 219-221. – EDN VITDFD.
39. Климов, Н. Т. и др. Разработка состава и оптимальной схемы применения иммуностимулирующего препарата АМСФ. – 2019. – С. 52-55.
40. Коба, И. С. Распространение и этиология мастита у коров в Краснодарском крае // И. С. Коба, Е. Н. Новикова // Научное обеспечение агропромышленного комплекса. – 2017. – С. 179-180.
41. Кондрахин, И. П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. М. : КолосС. – 2004. – 520 с.
42. Красовский, Г. Н. Методические указания МУ № 2926-83 «Методические указания по изучению эмбриотоксического действия химических веществ при гигиеническом обосновании их ПДК в воде водных объектов» / Под ред. Г. Н. Красовского // М. – 1984.
43. Красочко, П. А. Изучение видового состава микроорганизмов и их чувствительность к антибактериальным препаратам при маститах у коров / П. А. Красочко [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных и пути их решения : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной Дню белорусской науки и 95-летию кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней (15-16 декабря 2022 г.) / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ. – 2023. – С. 67-69.
44. Ладанова, М. А. Микрофлора молока при мастите у коров / М. А. Ладанова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 2. – С. 54-56. – DOI : 10.17238/issn2072-6023.2021.2.54. – EDN JCXSRP.



45. Лаушкина, Н. Н. Методы диагностики субклинического мастита коров в лактационный период в условиях молочного комплекса / Н. Н. Лаушкина, С. А. Скребнев, К. С. Скребнева // Вестник ОрелГАУ. – 2020. – № 6 (87). – С. 62–65. – DOI :10.17238/issn2587- 666X.2020.6.61.
46. Ларионов, Г. А. Поражение вымени коров при субклиническом мастите / Г.А. Ларионов, Л.М. Вязова, О.Н. Дмитриева // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2015. – № 2 (14). – С. 62-66.
47. Ливерко, Н. В. Клиническая оценка методов квантовой терапии при заболеваниях молочной железы / Ливерко Н. В., Калюжный И. И., Авдеев В. С. // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: Материалы междунар. науч.-практ. конф. – Ульяновск. – 2003. – С.33-35.
48. Линева, А. Н. Физиологические показатели нормы животных / Справочник // М. : Аквариум ЛТД, К. : ФГУИППВ. – 2003. – 256 с.
49. Лозовая, Е. Г. Терапевтическая эффективность препаратов Мультиджект ИММ и Ваккамаст при лечении коров джерсейской и монбельярдской пород, больных маститом / Е. Г. Лозовая, Е. Н. Стрельникова // Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства : материалы национальной научно-практической конференции, 22 января 2021 года. Том Часть I. – Брянск : Брянский государственный аграрный университет. – 2021. – С. 115-119. – EDN YUNMMF.
50. Лузова, А. В., Степанова, О. В. Современные доильные установки в ранней диагностике мастита коров // Перспективные технологии и инновации в АПК в условиях цифровизации. – 2023. – С. 290-293.
51. Лучко, И. Т. Воспаление молочной железы у коров (этиология, патогенез, диагностика, лечение и профилактика) : монография / И. Т. Лучко ; рец. : А. Ф. Трофимов, Р. Г. Кузьмич ; Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Учреждение образования "Гродненский государственный аграрный университет". – Гродно : ГГАУ, 2019. – 183 с. : рис., табл. - Библиогр. : с. 148-183 (319 назв.). – ISBN 978-985-537-141-1.

52. Люсин, Е. А. Критерии выбора антибактериальных препаратов при лечении мастита крупного рогатого скота / Аграрная наука. – 2021. – 347 (4). – С. 50–52. – DOI : <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-347-4-50-52>.
53. Магомедов, А. С. Экономический ущерб от субклинического мастита у коров / А. С. Магомедов, А. Ю. Алиев // Горное сельское хозяйство. – 2018. – № 2. – С. 102-107. – DOI : 10.25691/GSH.2018.2.021. – EDN ХРИЕМР.
54. Манжурина, О. А. и др. Микрофлора молока клинически здоровых и больных маститом коров // Ветеринария. – 2020. – №. 3. – С. 38-40.
55. Мицук, Е. А. Эффективность лечения катарального мастита у коров препаратами "цефтонит-форте" и "байоклав" / Е. А. Мицук, В. В. Семенютин // Молодёжный аграрный форум – 2018 : Материалы международной студенческой научной конференции, Белгород, 20–24 марта 2018 года. Том 1. – Белгород : Белгородский государственный аграрный университет имени В.Я. Горина. – 2018. – С. 73. – EDN UOWTIG.
56. Михайлов, А. А. Оценка эффективности иммуностимулирующего препарата в комплексном лечении субклинического мастита у лактирующих коров в условиях ООО «Колосс» Липецкой области, Задонского района, села Рогожки / В. А. Степанов, В. Т. Лопатин [и др.] // Ветеринарно-санитарные аспекты качества и безопасности сельскохозяйственной продукции : Материалы V международной научно-практической конференции, Воронеж, 16 декабря 2021 года. Том Часть 2. – Воронеж : Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 2021. – С. 209-213. – EDN ХРТVTN.
57. Муллаярова, И. Р. К вопросу лечения клинического мастита / И. Р. Муллаярова О. Н. Николаева, М. М. Рязанов, Е. Т. Муратова // Сборник научных трудов двенадцатой международной межвузовской конференции по клинической ветеринарии в формате Partners : материалы конференции, Москва, 17–18 ноября 2022 года. – Москва : Сельскохозяйственные технологии. – 2022. – С. 306-310. – EDN СОКХХZ.

58. Муллаярова, И. Р. Результаты комплексного лечения мастита у крупного рогатого скота / И. Р. Муллаярова // Ветеринарная медицина в XXI веке: роль биотехнологий и цифровых технологий : Материалы Международной научно-практической конференции студентов, магистрантов и молодых ученых, Витебск-Самарканд, 02 февраля 2021 года. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ". – 2021. – С. 74-75. – EDN JLJFYZ.
59. Мозгов, И. Е. Антибиотики в ветеринарии / Мозгов И. Е. // Изд-во : М. : «Колос». – 1971. – 288 с.
60. Навашин, С. М., Фомина, И. П. Рациональная антибиотикотерапия. – М. : Медицина. – 1982. – С. 201-215.
61. Нефедова, Е. В. Совершенствование терапии субклинического мастита коров препаратами различных фармакологических групп / Е. В. Нефедова // Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых : Сборник материалов VIII международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию создания Совета молодых ученых при СО ВАСХНИЛ, р.п. Краснообск, 24 марта 2021 года / Сост. : Н. С. Чуликова [и др.]. Под редакцией Н. Г. Власенко, К. С. Голохваста [и др.]. – Новосибирск: Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук. – 2021. – С. 210-212. – EDN NVNHOY.
62. Никитина, М. В. Лечебно-профилактические мероприятия при мастите крупного рогатого скота / М. В. Никитина, О. А. Столбова, Л. Н. Скосырских // Молочнохозяйственный вестник. – 2019. – № 3 (35). – С. 31 – 39.
63. Николаева, О. Н., Кочетовский, Д. С. Эффективность методов лечения мастита коров // Вклад молодых ученых в аграрную науку. – 2021. – С. 317-318.
64. Овсянников, А. П. Сравнительная эффективность комплексного лечения серозного мастита у коров // А. П. Овсянников, Д. Д. Хайруллин, С. М. Домолазов, Ф. Ф. Зиннатов, Г. С. Фролов, М. И. Гилемханов // Ученые

- записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2022. – №3. – URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitel'naya-effektivnost-kompleksnogo-lecheniya-seroznogo-mastita-u-korov>
65. Осипова, Н. И. Мастит и бесплодие у коров при нарушении технологии машинного доения / Н. И. Осипова // Ветеринария. Реферативный журнал. – 2007. – № 3. – С. 706. – EDN IAOSNB.
66. Осколкова, М. В. Видовой состав микрофлоры молока коров больных маститом / М. В. Осколкова, К. А. Сидорова // Интеграция науки и практики для развития агропромышленного комплекса. – 2017. – С. 311-317.
67. Осколкова, М. В. Этиология мастита и его взаимосвязь с гинекологическими заболеваниями крупного рогатого скота / М. В. Осколкова, Э. В. Кузьмина // Известия ОГАУ. – 2014. – №4 (48). – URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/etiologiya-mastita-i-ego-vzaimosvyaz-s-ginekologicheskimi-zabolevaniyami-kрупного-rogatogo-skota>
68. Павлюк, А. А. Лечение мастита коров голштинской породы в условиях ООО "Сибирская Нива" Новосибирская область / А. А. Павлюк, А. С. Иванова // Интеграция науки и образования в аграрных вузах для обеспечения продовольственной безопасности России : сборник трудов национальной научно-практической конференции, Тюмень, 01–03 ноября 2022 года. – Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья. – 2022. – С. 162-165. – EDN AUAYWI.
69. Патент № 2713927 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/10, А61К 31/723, А61К 33/30. Способ лечения субклинического мастита у коров : № 2019112692 : заявл. 25.04.2019 : опубл. 11.02.2020 / Н. В. Кузнецова, И. С. Коба, И. И. Зоткин [и др.] : заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина". – EDN JJRQYB.
70. Патент № 2756125 С1 Российская Федерация, МПК А61К 35/26, А61К 38/21, А61D 7/00. Способ комплексной терапии мастита у лактирующих

- коров : № 2020125601 : заявл. 27.07.2020 : опубл. 28.09.2021 / А. С. Шабунин, Н. Т. Климов, Г. А. Востроилова [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии". – EDN DAYBEV.
71. Парахин, А. В. Субклинический мастит коров в хозяйствах Орловской области и эффективность электропунктурной терапии / А. В. Парахин, Ю. В. Корягина // Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных: материалы междунар. научно-практич. конф. – Воронеж. – 2005. – С. 285-287.
72. Романова, Е. П. Классификация Маститов, основные принципы их лечения // Е. П. Романова // Материалы XV Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум». – URL : <https://scienceforum.ru/2023/article/2018034059?ysclid=loa4wxh63g33022143>  
9
73. Ремизова Е. В. Распространение и этиология маститов и эндометритов у коров // Эффективное животноводство. – 2021. – № 8 (174). – С. 96-98.
74. Семиволос, С. А. Сравнительная оценка фармакологических методов лечения коров при субклиническом мастите / С. А. Семиволос, А. А. Федорин, А. Н. Трифонов // Современные научные тенденции в ветеринарии : Сборник статей Международной научно-практической конференции, Пенза, 01–02 декабря 2022 года / Под научной редакцией И. В. Зирук, Н. А. Пудовкина. – Пенза : Пензенский государственный аграрный университет. – 2023. – С. 91-94. – EDN CHEMCN.
75. Сидоренко, И. П. Сравнение методов лечения мастита у коров препаратами "Канамикан-п" и "Эроксимаст" / И. П. Сидоренко // Проблемы интенсивного развития животноводства и их решение : Брянск, 25–26 марта 2021 года. Брянск: Брянский государственный аграрный университет. – 2021. – С. 370-373. – EDN ITPVKG.

76. Сидоренко С. В. Роль хинолонов в антибактериальной терапии. Механизм действия, устойчивость микроорганизмов, фармакокинетика и переносимость // Рус. мед. журн. – 2003. – №. 2.
77. Сидорова, К. А. К вопросу о функциональных нарушениях яичников молочных коров / К. А. Сидорова, М. Е. Анисимова, Н. А. Татарникова и др. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 1. – С. 161-164.
78. Сидорова, К. А. Терапевтические мероприятия при маститах коров // К. А. Сидорова, О. А. Драгич, А. Т. Роткин // Известия ОГАУ. – 2022. – №3 (95). – URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/terapevticheskie-meropriyatiya-pri-mastitah-korov>.
79. Скопичев, В. Г. Мастит: физиология, этиология, профилактика, диагностика, лечение // В. Г. Скопичев [и др.] // СПб. : Издательство ФГБОУ ВО СПбГАВМ. – 2017. – 248 с.
80. Солодкова, К. В. Оценка острой пероральной токсичности лекарственного препарата «Мастигард<sup>®</sup>» / К. В. Солодкова, А. Х. Шантыз, Л. М. Кашковская // Аграрный научный журнал. – 2023. – № 9. – С. 112-115. – DOI : 10.28983/asj.y2023i9pp112-115. – EDN HJUFDT.
81. Солодкова, К. В. Оценка субхронической токсичности лекарственного препарата Мастигард / К. В. Солодкова, А. Г. Кощев, А. Х. Шантыз [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2023. – № 104. – С. 208-214. – DOI : 10.21515/1999-1703-104-208-214. – EDN DHAMRE.
82. Солодкова, К. В. Оценка влияния лекарственного препарата Мастигард<sup>®</sup> на потомство при применении самкам крыс в период лактации / К. В. Солодкова, А. Х. Шантыз, Л. М. Кашковская // Молодые ученые - науке и практике АПК : Материалы научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых, Витебск, 27–28 апреля 2023 года / Редколлегия: Н.И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: Учреждение образования

- "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ". – 2023. – С. 198-200. – EDN TSLIWF.
83. Солодкова, К. В., Шантыз, А. Х., Кашковская, Л. М., Сафарова, М. И. терапевтическая эффективность препарата Мастигард при субклиническом мастите лактирующих коров // Материалы VII Международной научно-практической конференции (г. Красноярск, 18-19 мая 2023 г.) – КрасНИИСХ ФИЦ КНЦ СО РАН. – Красноярск, 2023. – с. 283-286.
84. Солодкова, К. В., Шантыз, А. Х., Кашковская, Л. М., Сафарова, М. И. Терапевтическая эффективность препарата Мастигард при геморрагическом мастите лактирующих коров // Сборник материалов II Международной научно-практической конференции «Инновационное развитие современной науки: новые подходы и актуальные исследования» (шифр –МКИРСН) г. Москва 31 января 2024 года. – Изд.: ЦРОН; АЛЕФ 2024. – с. 101-104.
85. Солодкова, К. В., Шантыз, А. Х., Кашковская, Л. М., Сафарова, М. И., Балышев, А. В. Изучение субхронической токсичности препарата Мастигард на коровах // Ученые записки казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана. – Казань, 2024. – с. 228-232.
86. Солодкова, К. В., Шантыз, А. Х., Кашковская, Л. М., Сафарова, М. И. // Оценка эмбриотоксического и тератогенного действия лекарственного препарата Мастигард. – 2024 г. – с. 54-58.
87. Солодкова, К. В., Шантыз, А. Х., Кашковская, Л. М., Сафарова, М. И. Терапевтическая эффективность препарата Мастигард при серозном мастите лактирующих коров // XXV научно-практической конференции «Развитие науки и практики в глобально меняющемся мире в условиях рисков» (г. Москва, 30 января 2024 г.). – Изд.: АЛЕФ, 2024 г. – с. 153-156.
88. Сулейманов, С. М. Лечение "Ваккамастом" и "прималактом" мастита у коров / С. М. Сулейманов, Л. П. Миронова, Е. В. Семененко // Ветеринарно-санитарные аспекты качества и безопасности сельскохозяйственной

- продукции : Материалы V международной научно-практической конференции, Воронеж, 16 декабря 2021 года. Том Часть 2. – Воронеж: Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 2021. – С. 429-431. – EDN UNMLYG.
89. Терентьева, Т. Е. Видовой спектр бактерий рода *Clostridium*, выделенных от крупного рогатого скота на молочных комплексах / Т. Е. Терентьева [и др.] // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2016. – № 1. – С. 5-8.
90. Федотов, С. В. Ветеринарная маммология // С.В. Федотов, В.С. Авдеев, Н.С. Белозерцева. – 2021. – 232 с.
91. Фисенкова, И. В. Разработка и совершенствование методов лечения коров при мастите / И.В. Фисенкова // автореф. дис. на присвоение степени канд.вет.наук. спец. 16.00.07. СПб. – 1997. – 18 с.
92. Хабриева, Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией член-корреспондента РАМН, профессора Хабриева Р.У. – 2 изд., перераб. и доп. – М. : Изд-во : «Медицина». – 2005. – 832 с.
93. Хромова, Л. Г. Молочное дело / Л. Г. Хромова, А. В. Востроилов, Н. В. Байлова // Санкт-Петербург : Лань. – 2020. – 332 с.
94. Шабунин, С. В., Кириллова, Е. Э., Сулейманов, С. М., Паршин, П. А. Эффективность Эроксимаста при мастите коров и его фармакотоксикология // Ветеринарная патология. – 2009. – №1 (28). – URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/effektivnost-eroksimasta-pri-mastite-korov-i-ego-farmakotoksikologiya>
95. Шевченко, А. А. Распространение бактериальных инфекций крупного рогатого скота в Краснодарском крае и их профилактика // А. А Шевченко, А. Р. Литвинова, О. Ю. Черных, Д. Ю. Зеркалев, Е. Р. Украина // Ветеринарная патология. – 2019. – № 1 (67). – URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/rasprostranenie-bakterialnyh-infektsiy-krupnogo-rogatogo-skota-v-krasnodarskom-krae-i-ih-profilaktika>



96. Шнейдер, Э. Д., Макавчик, С. А. Идентификация и диагностика возбудителей микоплазменных маститов коров при помощи бактериологических и молекулярно-генетических методов / Э. Д. Шнейдер, С. А. Макавчик // Бактериология. – 2018. – Т. 3. – № 1. – С. 22-25.
97. Черненко, В. В. Эффективность разных методов диагностики мастита у коров / В.В. Черненко, М.А. Ткачев., Ю.Н. Черненко // Вестник ФГОУ ВПО Брянская ГСХА. - 2019. - № 4 (74). – URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/effektivnost-raznyh-metodov-diagnostiki-mastita-u-korov>
98. Чучин, В. Н., Чжень-Цзю. Терапия больных серозным маститом коров / В. Н. Чучин // Материалы науч.-практич. конференции ИВМиБ. – Саратов. – 2002. – С. 58- 60.
99. Яковлев, В. П. Антимикробные препараты группы фторхинолонов / CONSILIUM MEDICUM // Том 14. – № 4. – 2010. – URL : [www.consilium-medicum.com](http://www.consilium-medicum.com). Consilium12 (2010)\_fin.qxd (omnidocor.ru)
100. Ятусевич, А. И. Дифференциальная диагностика болезней сельскохозяйственных животных / А. И. Ятусевич [и др.] // КубГАУ, Краснодар. – 2021. – 808 с.
101. Abebe, R. Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia / R. Abebe [et al.] // BMC Vet. Res. – 2016. – Vol. 12. – P. 270.
102. Abdi Gillespie, B. E., Ivey, S., Pighetti, G. M., Almeida, R. A., Kerro Dego, O. Antimicrobial Resistance of Major Bacterial Pathogens from Dairy Cows with High Somatic Cell Count and Clinical Mastitis. *Animals*. – 2021. – 11(1). – 131. – DOI : <https://doi.org/10.3390/ani11010131>.
103. Abulkibash, A. M., Sultan, S. M., Al-Olyan, A. M., Al-Ghannam, S. M. Differential electrolytic titration method for the determination of ciprofloxacin in drug formulations // *Talanta*. – 2003. – V. 61, № 2. – P. 239–244.
104. Alan L. Chicoine. An investigation of intraperitoneal procaine penicillin g administration in lactating dairy cows. A thesis submitted to the College of

- Graduate Studies and Research in partial fulfillment of the requirements for the degree of Masters of Science, Canada. – 2007. – p. 99.
105. Ali, T. Prevalence of mastitis pathogens and antimicrobial susceptibility of isolates from cattle and buffaloes in Northwest of Pakistan // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2021. – T. 8. – C. 746-755.
  106. Al-Deeb, O. A., Abdel-Moety, E. M., Abounassif, M. A., Alzaben, S. R. Stability-indicating high-performance liquid chromatographic method for determination of norfloxacin in bulk form and tablets // *Boll. Chim. Farm.* – 1995. – V. 134, № 9. – P. 497–502.
  107. Alovero, F. L., Pan, X., Morris, J. E., Manzo, R. H., Fisher, L. M. Engineering the specificity of antibacterial fluoroquinolones: benzenesulfonamide modifications at C-7 of ciprofloxacin change its primary target in *Streptococcus pneumoniae* from topoisomerase IV to gyrase. *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2000. – T.44, № 2. – P. 320–325.
  108. Antignac, J. P, Le Bizec B., Monteau F., Poulain F., Andre F. Multi-residue extraction–purification procedure for corticosteroids in biological samples for efficient control of their misuse in livestock production. *J Chromatogr B*. – 2001. – 757. – P. 11–19.
  109. Anderson, K. L. Mastitis therapy and pharmacology of drugs in the bovine mammary gland // *American Association of Bovine Practitioners Conference Proceedings*. – 1987. – P. 64-70.
  110. Axelrod, L. Glucocorticoids / Axelrod L., Kelley W.N., Harris E.D., Jr. Ruddy S., Sledge C.B. // *Textbook of rheumatology*, 4th ed. Philadelphia : WB Saunders – 1993. – P. 779.
  111. Bechthold, A., Floss, H. G. Overexpression of the thiostrepton-resistance gene from *Streptomyces azureus* in *Escherichia coli* and characterization of recognition sites of the 23S rRNA A1067 20- methyltransferase in the guanosine triphosphatase center of 23S ribosomal RNA. *Eur. J. Biochem.* – 1994. – 224. – P. 431–437.

112. Benazet, F., Cartier, J. R. Effect of nosiheptide as a feed additive in chicks on the quantity, duration, prevalence of excretion, and resistance to antibacterial agents of *Salmonella typhimurium*; on the proportion of *Escherichia coli* and other coliforms resistant to antibacterial agents; and on their degree of resistance. – 1980. – *Poult. Sci.* 59. – P. 1405-1415.
113. Borreani, G. Dairy farm management practices and the risk of contamination of tank milk from *Clostridium* spp. and *Paenibacillus* spp. spores in silage, total mixed ration, dairy cow feces, and raw milk / G. Borreani [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2019. – Vol. 102. – P. 8273-8289.
114. Bush, K., Goldschmidt, R. Effectiveness of fluoroquinolones against Gram-positive bacteria. *Current Opinion in Investigational Drugs.* – 2000. – № 1. – P. 22-30.
115. Carbon, C. Clinical relevance of intracellular and extracellular concentrations of macrolides. *Infection.* – 1995. – 23 Suppl. 1. – P. 10-14.
116. Cameron, D. M., Thompson, J., March, P. E., and Dahlberg, A. E. Initiation factor IF2, thiostrepton and micrococcin prevent the binding of elongation factor G to the *Escherichia coli* ribosome. *J. Mol. Biol.* – 2002. – 319. – P. 27–35.
117. Chakraborty, S., Dhama, K., Tiwari, R., Yattoo, M. I., Khurana, S. K., Khandia, R., Munjal, A., Palanivelu, M., Kumar, M. A., Singh, M. Technological interventions and advances in the diagnosis of intramammary infections in animals with emphasis on bovine population—a review. – 2019. – *Vet Q.* – 39(1). – P. 76-94.
118. Cheng, W. N., Han, S. G. Bovine mastitis: Risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments // A review. *Asian Australas J. Anim. Sci.* – 2020. – 33. – P. 1699-1713.
119. Chuzhebaeva, G. et al. Study of the antibacterial sensitivity of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy cattle // *Ecol. Envir. Con.* – 2020. – T. 26. – P. 1688-1692.

120. Courtheyn, D., Le Bizec, B., Brambilla, G., De Brabander H. F., Cobbaert, E., Van de Wiele M., Vercammen, J., De Wasch, K. Recent developments in the use and abuse of growth promoters. *Anal Chim Acta.* – 2002. – 473. – P. 21-82.
121. Dalanezi, F. M. Influence of pathogens causing clinical mastitis on reproductive variables of dairy cows / F. M. Dalanezi [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2020. – № 103 (4). – P. 3648-3655.
122. Davis, R., Bryson, H. M. Levofloxacin: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic efficacy. *Drugs.* – 1994. – 47. – P. 677-700. – DOI : 10.2165/00003495-199447040-00008.
123. Dalanezi, F. M. et al. Concentrations of acute-phase proteins in milk from cows with clinical mastitis caused by different pathogens // *Pathogens.* – 2020. – T. 9. – №. 9. – P. 706.
124. Deventer, K., Delbeke, F. T. Validation of a screening method for corticosteroids in doping analysis by liquid chromatography/ tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* – 2003. – 17. – P. 2107-2114.
125. Dufour, S., Labrie, J., Jacques, M. The mastitis pathogens culture collection // *Microbiology resource announcements.* – 2019. – T. 8. – №. 15. – P. 10.
126. Duse, A., Persson-Waller, K., Pedersen, K. Microbial Aetiology, Antibiotic Susceptibility and Pathogen-Specific Risk Factors for Udder Pathogens from Clinical Mastitis in Dairy Cows. *Animals.* – 2021. – 11 (7). – 2113. – DOI : 10.3390/ani11072113.
127. Egebjerg, J., Douthwaite, S. R., Liljas, A., Garrett, R. A. Characterization of the binding sites of protein L11 and theL10 3 (L12) 4 pentameric complex in the GTPase domain of 23 S ribosomal RNA from Escherichia coli. *J. Mol. Biol.* – 1990. – 213. – P. 275-288.
128. Egorova, S. Prevalence and characterization of extended-spectrum cephalosporin resistant non-typhoidal Salmonella isolates in adults in St-Petersburg, Russia (2002—2005) / S. Egorova [et al.] // *Microb. Drug. Resist.* – 2007. – № 13. – P. 102-107.

129. Feng, M. et al. Recombinant high-density lipoprotein complex as a targeting system of nosiheptide to liver cells // *Journal of drug targeting*. – 2008. – T. 16. – №. 6. – P. 502-508.
130. Fukuda, H., Kishii, R., Takei, M. Hosaka, M. Contributions of the 8-methoxy group of gatifloxacin to resistance selectivity, target preference, and antibacterial activity against *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45. – 2001. - 1649–53.
131. Fukushima, Y., Kino, E., Furutani, A. et al. Epidemiological study to investigate the incidence and prevalence of clinical mastitis, peracute mastitis, metabolic disorders and peripartum disorders, on a dairy farm in a temperate zone in Japan. – *BMC Vet Res* 16. – 389. – 2020. – URL : <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02613-y>.
132. Froyman, R., Wetzstein, H-G., Fraatz, K., Wiehl, W. National Center for Biotechnology Information. PubChem Patent Summary for EP-2866812-A1, Pharmaceutical compositions and treatment of mastitis. – 2023. – URL : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/patent/EP-2866812-A1>.
133. Gaja, M., Higa, F., Yamashiro, T., et al. Penetration of levofloxacin, a new quinolone antibacterial agent, into human neutrophils. *Chemotherapy* – 1992. - 40 Suppl. 3. – P. 64.
134. Goncalves, J. L., Kamphuis, C., Vernooij, H., Araújo, J. P., Grenfell, R. C., Juliano, L., Santos, M. V. Pathogen effects on milk yield and composition in chronic subclinical mastitis in dairy cows // *The Veterinary Journal*. – 262. – 2020. – P. 1-25. – DOI : 10.1016/j.tvjl.2020.10547.
135. Gomes, F., Henriques, M. Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches. *Curr Microbiol*. – 2016. – 72(4). – P. 377 – 382.
136. Gladue, R. P., Bright, G. M., Isaacson, R. E., et al. In vitro and in vivo uptake of azithromycin (CP-62,993) by phagocytic cells: possible mechanism of delivery and release at sites of infection. *Antimicrob Agents Chemother*. – 1989. – 33. – P. 277-282.

137. Haste, N. M., et al. Activity of the thiopeptide antibiotic nosiheptide against contemporary strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // *The Journal of antibiotics*. – 65.12. – 2012. – P. 593-598.
138. Hawkey, P. M. Mechanisms of quinolone action and microbial response // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2003. – T. 51. – № 1. – P. 29-35.
139. Heaton, V. J., Ambler, J. E. Fisher, L. M. Potent antipneumococcal activity of gemifloxacin is associated with dual targeting of gyrase and topoisomerase IV, and in vivo target preference for gyrase, and enhanced stabilization of cleavable complexes in vitro // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44. – 2000. – P. 3112-3117.
140. Heddle J., Maxwell A. Quinolone-binding pocket of DNA gyrase: role of GyrB // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2002. – T. 46. – №. 6. – P. 1805-1815.
141. Heringstad, B., Klemetsdal, G., Ruane, J. Selection for mastitis resistance in dairy cattle: A review with focus on the situation in the Nordic countries // *Livest. Prod. Sci.* – 2000. – 64. – P. 95-106.
142. Hogeveen, H., Huijps, K., Lam, T. J. Economic aspects of mastitis: New developments // *N. Z. Vet. J.* – 2011. – 59. – P. 16-23.
143. Holschbach, C. L. *Salmonella in Dairy Cattle* / C. L. Holschbach, S. F. Peek // *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. – 2018. – № 34 (1). – P. 133 -154.
144. Hussein, H. A., Abd El-Razik, K. A., Gomaa, A. M., Elbayoumy, M. K., Abdelrahman, K. A., Hosein, H. I. // Milk amyloid : A as a biomarker for diagnosis of subclinical mastitis in cattle. *Vet World*. – 2018. – 11(1). – P. 34-41.
145. Jagielski, T. Short communication: antimicrobial susceptibility profiling and genotyping of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in Poland / T. Jagielski [et al.] // *J. Dairy. Sci.* – 2014. – № 97. – P. 6122-6128.

146. Jamali, H. Short communication: prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis / H. Jamali, B. Radmehr, S. Ismail // *J. Dairy. Sci.* – 2014. – № 97. – P. 2226-2230.
147. Jain, V. K. et al. Effect of extended intramammary antibiotic therapy on bacteriological cure in bovine clinical mastitis // *Haryana Veterinarian.* – 2020. – T. 59. – №. 1. – P. 120-123.
148. Kabelitz, T. et al. The role of *Streptococcus* spp. in bovine mastitis // *Microorganisms.* – 2021. – T. 9. – №. 7. – P. 1497.
149. Kochetova, O. V. Morphometric indexes of a wall of arterial vessels of various bodies at animals / O. V. Kochetova, S. N. Kostarev, K. A. Sidorova et al // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, conference proceedings. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations.* – 2020. – P. 520-523.
150. Klaas, I. C., Zadoks, R. N. An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transboundary and Emerging Diseases.* – 2017. – 65. – P. 166-185. – DOI :10.1111/tbed.12704.
151. Krishnamoorthy, P., Suresh, K. P., Jayamma, K. S., Shome, B. R., Patil, S. S., Amachawadi, R. G. An Understanding of the Global Status of Major Bacterial Pathogens of Milk Concerning Bovine Mastitis : A Systematic Review and Meta-Analysis (Scientometrics). *Pathogens.* – 2021. – 10. – P. 545. – URL : <https://doi.org/10.3390/pathogens10050545>.
152. León-Galván, M., Barboza-Corona, J. E., Lechuga-Arana, A. A., Valencia-Posadas, M., Aguayo, D. D, Cedillo-Pelaez, C., Martínez-Ortega, E. A., Gutierrez-Chavez, A. J. Molecular detection and sensitivity to antibiotics and bacteriocins of pathogens isolated from bovine mastitis in family dairy herds of central Mexico. *BioMed Res Int.* – 2015. – P. 1-9. – URL : <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/2015/615153>.
153. Berry, L., Domalaon, R., Brizuela, M., George G. Zhanelb, Schweizer, F. Polybasic peptide–levofloxacin conjugates potentiate fluoroquinolones and other

- classes of antibiotics against multidrug-resistant Gram-negative bacteria – MedChemComm. Issue 4. – 2019.
154. Lynch, J. P., File, T. M., Zhanel, G. G. Levofloxacin for the treatment of community-acquired pneumonia. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* – 2006. – 4. – P. 725-742.
155. Maalik, A. et al. Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and risk factors for bovine subclinical mastitis in District Kasur, Punjab, Pakistan // *Pakistan Journal of Zoology.* – 2019. – T. 51. – №. 3. – P. 11-23.
156. Masoud, W. The fate of indigenous microbiota, starter cultures, *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus* in Danish raw milk and cheeses determined by pyrosequencing and quantitative real time (qRT)-PCR / W. Masoud [et al.] // *Int. J. Food. Microbiol.* – 2012. – Vol. 153. – P. 192–202.
157. Mahendra Ram, Vishakha Singh, Birendra Kumar Roy, Raju Prasad, Hawkey, P.M. Mechanisms of quinolone action and microbial response. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* – 2003. – 51 Suppl 1 (90001). – P. 29-35. – DOI : 10.1093/jac/dkg207.
158. Morrissey, I., George, J. T. Purification of pneumococcal type II topoisomerases and inhibition by gemifloxacin and other quinolones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 45. – 2000. – Suppl. S1. – P. 101–106.
159. Morrissey, I. George, J. Activities of fluoroquinolones against *Streptococcus pneumoniae* type II topoisomerases purified as recombinant proteins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43. – 1999. – P. 2579 - 2585.
160. Mohanty, N. N., Das, P., Pany, S. S., Sarangi, L. N., Ranabijuli, S., Panda, H. K. Isolation and antibiogram of *Staphylococcus*, *Streptococcus* and *Escherichia coli* isolates from clinical and subclinical cases of bovine mastitis // *Vet. World* 6. – 2013. – P. 739-743.
161. Mukhamadieva, N. et al. Prevalence, diagnosis and improving the effectiveness of therapy of mastitis in cows of dairy farms in East Kazakhstan // *Veterinary Sciences.* – 2022. – T. 9. – №. 8. – P. 398.



162. Noel G. J. A review of Levofloxacin for the treatment of bacterial infections // Clin. Med.: Therapeutics. — 2009.
163. Ranasinghe, R. et al. Subclinical mastitis in dairy cows in major milk-producing areas of Sri Lanka: Prevalence, associated risk factors, and effects on reproduction // Journal of Dairy Science. – 2021. – T. 104. – №. 12. – P. 12900-12911.
164. Onodera, Y., Uchida, Y., Tanaka, M. & Sato, K. Dual inhibitory activity of sitafloxacin (DU-6859a) against DNA gyrase and topoisomerase IV of *Streptococcus pneumoniae*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 44. – 1999. – 533-536.
165. Pan, X., Fisher, L. M. *Streptococcus pneumoniae* DNA gyrase and topoisomerase IV: overexpression, purification, and differential inhibition by fluoroquinolones. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 43. – 1999. – P. 1129-1136.
166. Pascual, A., Garcia, I., Perea, E. J. Uptake and intracellular activity of an optically active ofloxacin isomer in human neutrophils and tissue culture cells. Antimicrob Agents Chemother. – 1990. – 34. – P. 277-280.
167. Pascual, A., Garcia, I., Conejo, M.C. Fluorometric and high-performance liquid chromatographic measurement of quinolone uptake by human neutrophils. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. – 1991. – 10. – P. 969-971.
168. Pestova, E., Millichap, J. J., Noskin, G. A., Peterson, L. R. Intracellular targets of moxifloxacin: a comparison with other fluoroquinolones. J. Antimicrob. Chemother. – 2000. – 45. – P. 583–590.
169. Perea, E. J., Garcia, I., Pascual, A. Comparative penetration of lomefloxacin and other quinolones into human phagocytes. Am J Med. – 1992. – 92 Suppl. 4A. – P. 48-51.
170. Prins, J. M., S. J. van Deventer, Kuijper, E. J., Speelman, P. Clinical relevance of antibiotic-induced endotoxin release // Antimicrob Agents Chemother. – 1994. – Vol. 38. – P. 1211-1218.

171. Rainard, P., Foucras, G. A critical appraisal of probiotics for mastitis control. *Front Vet Sci.* – 2018. – 5. – P. 251.
172. Nalon, E., Stevenson, P. Protection of dairy cattle in the EU: State of play and directions for policymaking from a legal and animal advocacy perspective // *Animals.* – 2019. – T. 9. – №. 12. – P. 1066.
173. Nakashima, M., Uematsu, T., Kanamaru, M. Phase I study of levofloxacin, (S)-ofloxacin. *Jpn J Clin Pharmacol Ther.* – 1992. – 23. – 515-520.
174. Nozaki-Renard, J., Lino, T., Sato, Y. Fluoroquinolones protect the human lymphocyte CEM cell line from HIV-1 mediated cytotoxicity. *Cell Struct Funct.* – 1990. – 15. – 295–299.
175. North, D. S., Fish, D. N., Redington, J. J. Levofloxacin, a second-generation fluoroquinolone. *Pharmacotherapy* : 18 (5). – 1998. – P. 915-935.
176. Peng Jiao, Jinpeng Wang, Jian Yang, Xingping Wang, Zhuoma Luoreng. BtamiR-223 Targeting the RHOB Gene in Dairy Cows Attenuates LPS-Induced Inflammatory Responses in Mammary Epithelial Cells. – 2022. – 11:19. – P. 31 - 44.
177. Sharun, K. Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review // *Veterinary Quarterly.* – 2021. – T. 41. – №. 1. – P. 107-136.
178. Shah, M. S., Qureshi, S., Kashoo, Z., Farooq, S., Wani, S. A., Hussain, M. I., Banday, M. S., Khan, A. A., Gull, B., Habib, A. Methicillin resistance genes and in vitro biofilm formation among *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in India. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* – 2019. – 64. – P. 117-124.
179. Sharma, N. Mastitis occurrence pattern in dairy cows and importance of related risk factors in the occurrence of mastitis // *Journal of Animal Research.* – 2018. – T. 8. – №. 2. – P. 315-326.
180. Schmidt, F. J., Thompson, J., Lee, K., Dijk, J., and Cundliffe, E. The binding site for ribosomal protein L11 within 23 S ribosomal RNA of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 256. – 1981. – P. 12301–12305.

181. Silva, N. C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of lineage ST398 as cause of mastitis in cows / N. C. Silva [et al.] // *Lett. Appl. Microbiol.* – 2014. – № 59. – P. 665–669.
182. Sitovs, A., Sartini, I., Giorgi, M. Levofloxacin in veterinary medicine: a literature review, *Research in Veterinary Science*, Volume 137. – 2021. – P. 111-126. – ISSN 0034-5288. – URL : <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.04.031>.
183. Suleiman, T. S., Karimuribo, E. D., Mdegela, R. H. Prevalence of bovine subclinical mastitis and antibiotic susceptibility patterns of major mastitis pathogens isolated in Unguja island of Zanzibar, Tanzania. *Trop Anim Health Prod* 50. – 2018. – P. 259–266. – URL : <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1424-3>.
184. Su, Y., Yu, C. Y., Tsai, Y., Wang, S. H., Lee, C., Chu, C. Fluoroquinolone-resistant and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* from the milk of cows with clinical mastitis in Southern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect.* – 2016. – 49(6). – P. 892-901.
185. Savu, S. R., Silvestro, L., Haag, A., Sorgel, F. A confirmatory HPLC-MS/MS method for ten synthetic corticosteroids in bovine urines. *J. Mass Spectrom.* – 1996. – 631. – P. 1351-1363.
186. Tarazona-Manrique, L. E., Villate-Hernández, J. R., Andrade-Becerra, R. J. Etiología bacteriana y micótica infecciosa causante de mastitis en vacas lecheras en el altiplano boyacense (Colombia) / Bacterial and fungal infectious etiology causing mastitis in dairy cows in the highlands of Boyacá (Colombia) // *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia.* – 2019. – T. 66. – №. 3. – P. 208.
187. Taira, K., Koga, H., Kohno, S. Accumulation of a newly developed fluoroquinolone, OPC-17116, by human polymorphonuclear leukocytes. *Antimicrob Agents Chemother.* – 1993. – 37. – P. 1877-1881.
188. Turkyilmaz, S. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine

- milk / S. Turkyilmaz, S. Tekbiyik, E. Oryasin, B. Bozdogan // *Zoonoses Public Health*. – 2010. – № 57. – P. 197-203.
189. Tulkens P. M. Intracellular distribution and activity of antibiotics // *European journal of clinical microbiology and infectious diseases*. – 1991. – T. 10. – P. 100-106.
190. Thompson, J., Schmidt, F., and Cundliffe, E. Site of action of a ribosomal RNA methylase conferring resistance to thiostrepton. *J. Biol. Chem.* – 1982. – 257. – P. 7915-7917.
191. Yusuf-Isleged, M. A. Prevalence and associated risk factors of bovine mastitis on dairy cattle in Mogadishu Somalia // *Animal and Veterinary Sciences*. – 2022. – T. 10. – P. 109-118.
192. Yamada, H., Hisada, H., Mitsuyama, M., Takahata, M., Todo, Y., Minami, S. et al. BMS-284756 (T-3811ME), a des-F(6)-quinolone: selectivity between bacterial and human type II DNA topoisomerases. In *Program and Abstracts of the Fortieth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Toronto, Canada. – 2000. – Abstract 753. – P. 82.
193. Wang, D. Bovine mastitis *Staphylococcus aureus*: antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-sensitive strains in China / D. Wang [et al.] // *Infect. Genet. Evol.* – 2015. – Vol. 31. – P. 9-16.
194. Wimberly, B. T., Guymon, R., McCutcheon, J. P., White, S. W., and Ramakrishnan, V. A detailed view of a ribosomal active site: the structure of the L11-RNA complex. – 1999. – 97. – P. 491-502.
195. Zadoks, R. N., Middleton, J. R., McDougall, S. et al. Molecular Epidemiology of Mastitis Pathogens of Dairy Cattle and Comparative Relevance to Humans. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. – 2011. – P. 357-372. – URL : <https://doi.org/10.1007/s10911-011-9236-y>.
196. Ziv, G., Sulman, F. G. Permeability of the mammary gland to large antibiotic molecules // *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A*. – 1973. – T. 20. – №. 5. – P. 388-394.

197. ГОСТ 32379-2013 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека: Испытания по оценке репродуктивной/эмбриональной токсичности (скрининговый метод) идентично международному документу OECD Test №421 «Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test» (ОЭСР Тест № 421 «Скрининговое исследование репродуктивной/ эмбриональной токсичности»)). URL :

<https://docs.cntd.ru/document/1200110801?ysclid=m0f5k6ni4n141996171>

198. ГОСТ Р 52054-2003 «Молоко натуральное коровье – сырье. Технические условия». URL : <https://marsbbz.ru/wp-content/uploads/2020/10/gost-r-52054-2003-moloko-korove-syroe.-tu.pdf>

199. Глюкокортикостероиды : Преднизолон описание фармакологической группы в Энциклопедии РЛС (rlsnet.ru). URL : <https://www.rlsnet.ru/active-substance/prednizolon-297>

200. Инструкция препарата Таваник (производитель Sanofi Winthrop Industrie). URL : <https://medum.ru/tavanik-250-mg-500-mg?ysclid=m09jml5ii8962093368>

201. Summary report Prednisolone (as free alcohol) emea / mrl / 629 /99-final july 1999. URL : [https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/prednisolone-free-alcohol-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/prednisolone-free-alcohol-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf)

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение №1 Инструкция препарата Мастигард



#### ИНСТРУКЦИЯ

по ветеринарному применению лекарственного препарата Мастигард®  
(организация-разработчик: ООО «НИТА-ФАРМ», 410010, г. Саратов,  
ул. им. Осипова В. И., дом 1)

Номер регистрационного удостоверения 44-3-18.22-4898 N176P-3-18.22/3735

#### I. Общие сведения

1. Наименование лекарственного препарата для ветеринарного применения:

- торговое наименование: Мастигард® (Mastiguard);
- международные непатентованные наименования: левофлоксацин, нозигептид, преднизолон.

2. Лекарственная форма: гель для интрацистернального введения.

Мастигард® в 1 шприце (10 г) содержит в качестве действующих веществ: левофлоксацина гемигидрат - 1000 мг, нозигептид - 5 мг, преднизолон натрия фосфат - 20 мг, а в качестве вспомогательных веществ: магний хлористый 6-водный, диметилсульфоксид, Неолон 950, полоксамер 407, макроглицерола гидроксистеарат и воду для инъекций.

3. По внешнему виду препарат Мастигард® представляет собой прозрачный или слабо опалесцирующий гель от зеленовато-желтого до желтого цвета.

Срок годности лекарственного препарата Мастигард® при соблюдении условий хранения в закрытой упаковке производителя – 2 года со дня производства, после вскрытия первичной упаковки – хранению не подлежит. Запрещается применять лекарственный препарат по истечении срока годности.

4. Мастигард® выпускают расфасованным по 10 г в полимерные шприцы соответствующей вместимости, снабженные канюлей для интрацистернального введения и защитным полимерным колпачком. Защитный колпачок состоит из верхней и нижней частей для получения канюли различной длины. Каждую потребительскую упаковку снабжают инструкцией по применению препарата. В комплект могут входить стерильные спиртовые салфетки.

5. Хранят лекарственный препарат в закрытой упаковке производителя, отдельно от продуктов питания и кормов, в защищенном от прямых солнечных лучей месте, при температуре от 5°C до 25°C.

6. Мастигард® следует хранить в местах, недоступных для детей.

7. Неиспользованный лекарственный препарат утилизируется в соответствии с требованиями действующего законодательства.

8. Мастигард® отпускается без рецепта ветеринарного врача.

## II. Фармакологические свойства

9. Мастигард® относится к фармакотерапевтической группе – фторхинолоны в комбинациях.

10. Левофлоксацин, входящий в состав препарата Мастигард®, оказывает бактерицидное действие на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы, включая *Acinetobacter* spp., *Actinobacillus* spp., *Aeromonas* spp., *Arcanobacterium pyogenes*, *Bacillus* spp., *Bacteroides* spp., *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter* spp., *Clostridium* spp., *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Fusobacterium* spp., *Haemophilus* spp., *Haemophilus ducreyi*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Klebsiella* spp., *Leptospira* spp., *Listeria* spp., *Listeria monocytogenes*, *Moraxella* spp., *Moraxella catarrhalis*  $\beta$ +/ $\beta$ -, *Morganella* spp., *Morganella morganii*, *Mycobacterium* spp., *Pasteurella* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Proteus* spp., *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia* spp., *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp., *Serratia* spp., *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus* spp., *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Trueperella pyogenes* а также на другие микроорганизмы, включая *Chlamydia* spp., *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Mycobacterium* spp., *Mycoplasma* spp., *Mycoplasma pneumoniae*, *Rickettsia* spp., и пенициллин-резистентных L-форм бактерий. Механизм действия левофлоксацина связан с блокадой ДНК-гиразы (топоизомеразы II) и топоизомеразы IV, нарушением суперспирализации и сшивки разрывов дезоксирибонуклеиновой кислоты, ингибированием синтеза дезоксирибонуклеиновой кислоты, глубокими метаболическими изменениями в цитоплазме, клеточной стенке и мембранах.

Нозигептид, входящий в состав препарата Мастигард®, оказывает антимикробное действие на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы, включая *Clostridium* spp., *Streptococcus* spp. (в том числе *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*) *Staphylococcus* spp. (в том числе *Staphylococcus aureus*, продуцирующего бета-лактамазу и коагулазонегативных стафилококков). Механизм действия нозигептида заключается в нарушении синтеза белка в клетках чувствительных микроорганизмов, что в конечном итоге приводит к их гибели. В настоящее время штаммов микроорганизмов с приобретенной резистентностью к нозигептиду не выделено.

Преднизолон, входящий в состав препарата Мастигард®, является синтетическим глюкокортикостероидом, оказывает противовоспалительное, противоаллергическое и противоотечное действие. Механизм действия гормона заключается в блокировании высвобождения эозинофилами медиаторов воспаления, в том числе простагландинов, которые потенцируют воспалительный процесс; в стимуляции биосинтеза липокортинов, обладающих

противоотечной активностью; в уменьшении проницаемости капилляров и количества тучных клеток, вырабатывающих гиалуроновую кислоту.

При интрацистернальном введении действующие вещества препарата локализуются в тканях молочной железы, оказывая местное бактерицидное, противовоспалительное и противоотечное действие.

По степени воздействия на организм согласно ГОСТ 12.1.007-76 препарат Мастигард® относится к малоопасным веществам (4 класс опасности).

### III. Порядок применения

11. Мастигард® применяют для лечения субклинических и клинических форм мастита у коров в период лактации, вызванных чувствительными к левофлоксацину и нозигептиду микроорганизмами.

12. Противопоказанием к применению является индивидуальная повышенная чувствительность животного к компонентам препарата.

13. При работе с препаратом Мастигард® следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными препаратами. Людям с гиперчувствительностью к компонентам препарата следует избегать прямого контакта с лекарственным препаратом.

Во время работы с препаратом запрещается пить, курить и принимать пищу. По окончании работы с препаратом руки следует вымыть теплой водой с мылом. Пустую тару из-под лекарственного препарата запрещается использовать для бытовых целей, она подлежит утилизации с бытовыми отходами.

При случайном контакте лекарственного препарата с кожей или слизистыми оболочками глаз, их необходимо немедленно промыть большим количеством воды. В случае появления аллергических реакций или при случайном попадании препарата в организм человека следует немедленно обратиться в медицинское учреждение (при себе иметь инструкцию по применению препарата или этикетку).

14. Отсутствуют противопоказания в период беременности и лактации.

15. Мастигард® вводится интрацистернально в дозе 10 г (содержимое 1 шприца) на пораженную четверть вымени. Препарат вводят 1-2кратно с интервалом 24 часа, при необходимости введение повторить.

Перед введением препарата Мастигард® содержимое доли вымени сдаивают, молоко обеззараживают кипячением и утилизируют. Сосок снаружи протирают 70% раствором спирта или специальной антисептической салфеткой. При введении спокойным животным снимают только верхнюю часть колпачка, закрывающую канюлю шприца, а беспокойным – колпачок снимают полностью. После этого канюлю шприца вводят в сосковый канал, осторожным нажатием на поршень выдавливают содержимое шприца, затем канюлю извлекают, верхушку соска пережимают пальцами и массирующими движениями снизу-вверх продвигают лекарственный препарат по каналу соска в цистерну вымени. Далее при возможности проводят легкий массаж четверти вымени в направлении снизу-вверх для лучшего распределения лекарственного препарата в цистерне вымени (не



проводить массаж вымени при гнойных и гнойно-катаральных формах мастита). В каждую пораженную четверть вымени вводят содержимое одного шприца.

16. При использовании лекарственного препарата Мастигард® согласно настоящей инструкции побочных явлений и осложнений, как правило, не наблюдается. При повышенной индивидуальной чувствительности и появлении аллергических реакций использование лекарственного препарата прекращают и назначают антигистаминные препараты и средства симптоматической терапии.

17. При передозировке препарата возможно возникновение местно-раздражающего действия паренхимы вымени или возникновение воспалительной реакции в молочной железе. В этом случае следует прекратить введение препарата и назначить симптоматическое лечение.

18. Применение Мастигард® не исключает использование других лекарственных средств для животных, за исключением препаратов для интрацистернального введения.

19. Особенности действия лекарственного препарата для ветеринарного применения при его первом приеме или при отмене не установлено.

20. Следует избегать пропусков при введении очередной дозы лекарственного препарата, так как это может привести к снижению терапевтической эффективности. В случае пропуска одной дозы необходимо возобновить применение препарата в той же дозе и по той же схеме. Не следует превышать рекомендуемую дозу для компенсации пропущенной

21. Молоко можно использовать для пищевых целей не ранее, чем через 4 суток после последнего введения препарата Мастигард® при условии полного исчезновения признаков мастита, подтвержденных маститными тестами. Молоко, полученное ранее установленного срока из здоровых четвертей вымени, можно использовать в корм животным после кипячения. Молоко из больных четвертей вымени обеззараживают кипячением и утилизируют.

Убой коров на мясо разрешается через 10 суток после последнего применения препарата Мастигард®. Мясо животных, вынужденно убитых до истечения указанного срока, может быть использовано в корм пушным зверям.

Наименование и адрес производственной площадки производителя лекарственного препарата для ветеринарного применения. ООО «НИТА-ФАРМ»; 410010, г. Саратов ул. им. Осипова В. И., д.1.

Наименование и адрес организации, уполномоченной владельцем или держателем регистрационного удостоверения лекарственного препарата на принятие претензий от потребителя. ООО «НИТА-ФАРМ»; 410010, г. Саратов ул. им. Осипова В.И., д.1.

Начальник ОРиС



Д. И. Васильченко

## Приложение №2

### Акты внедрения лекарственного препарата Мастигард в хозяйства

Утверждаю:

Главный директор

КФХ Солтабиев Х.А.

Солтабиев Х. А.



АКТ №1

о проведении исследований по оценке терапевтической эффективности препарата Мастигард в лечении субклинического мастита коров

Нами, заведующим КФХ Солтабиев Х.А. Поповым С. П., ветеринарным врачом СНИОКР ООО «НИТА-ФАРМ» Первовым Е.А., старшим научным сотрудником по ветеринарии ООО «НИТА-ФАРМ», соискателем ученой степени кафедры биотехнологии, биофизики и биохимии ФГБОУ КубГАУ Солодковой К.В. проведены исследования по оценке терапевтической эффективности препарата Мастигард в лечении субклинического мастита коров.

Для формирования групп животных была проведена диспанцеризация 50 голов коров симментальской породы, 3–4 лактации с целью выявления субклинического мастита. Диагноз ставили комплексно на основании клинического осмотра, диагностики экспресс-тестом Кенотест, а также на основании бактериологического исследования образцов молока. По результатам диагностического исследования была сформирована 1 группа коров с диагнозом субклинический мастит (n=20). В опытной группе животных лечили препаратом Мастигард, который вводили интрацистернально в дозе 10 г (содержимое 1 шприца) в каждую пораженную четверть вымени. Препарат вводили 1-2 кратно с интервалом 24 часа, при необходимости введение повторяли.

С целью оценки эффективности лечения препаратом Мастигард ежедневно проводили клинический осмотр (измерение температуры, пульса, частоты

дыхания, оценивали руминацию), а также проводили осмотр молочной железы, в том числе оценивали характер выделяемого секрета.

В результате проведенного лечения в опытной группе с диагнозом субклинический мастит после двух введений препарата Мастигард с интервалом в 24 ч отмечали 100% выздоровление. По результатам клинического осмотра коров показатели (температура, пульс, частота дыхания, руминация) находились в пределах физиологической нормы для данного вида животного. При осмотре молочных желез и выделяемого секрета патологических изменений как до, так и после лечения выявлено не было. Так, до лечения количество соматических клеток в молоке составляло  $>170\ 000 - 500\ 000$ , после лечения соответствовало норме  $0 - 170\ 000$ . По результатам бактериологического исследования до начала лечения в образцах молока выделен *S. aureus*, после окончания терапии патогенных возбудителей в образцах молока не было выявлено.

Таким образом, по результатам проведенного исследования терапевтической эффективности лекарственного препарата для интрацистернального введения Мастигард в лечении субклинического мастита коров на базе КФХ Солтабиев Х.А. установлена 100% эффективность после двукратного применения препарата.

Заведующий

КФХ Солтабиев Х.А. «15» апреля 2024 г.



Попов С.П.

Ветеринарный врач СНИОКР

ООО «НИТА-ФАРМ» «15» апреля 2024 г.

Первов Е.А.

СНС по ветеринарии СНИОКР

ООО «НИТА-ФАРМ» «15» апреля 2024 г.

Солодкова К.В.

Утверждаю:

Главный директор

КФХ Солтабиев Х.А.

Солтабиев Х. А.



АКТ №2

о проведении исследований по оценке терапевтической эффективности  
препарата Мастигард в лечении серозного мастита коров

Нами, заведующим КФХ Солтабиев Поповым С. П., ветеринарным врачом СНИОКР ООО «НИТА-ФАРМ» Первовым Е.А., старшим научным сотрудником по ветеринарии ООО «НИТА-ФАРМ», соискателем ученой степени кафедры биотехнологии, биофизики и биохимии ФГБОУ КубГАУ Солодковой К.В. проведены исследования по оценке терапевтической эффективности препарата Мастигард в лечении серозного мастита коров.

Для формирования групп животных была проведена диспансеризация 40 голов коров симментальской породы, 3–4 лактации с целью выявления серозного мастита. Диагноз ставили комплексно на основании клинического осмотра, диагностики экспресс-тестом Кенотест, а также на основании бактериологического исследования образцов молока. По результатам диагностического исследования была сформирована 1 группа коров с диагнозом серозный мастит (n=16). В опытной группе животных лечили препаратом Мастигард, который вводили интрацистернально в дозе 10 г (содержимое 1 шприца) в каждую пораженную четверть вымени. Препарат вводили 1-2кратно с интервалом 24 часа, при необходимости введение повторяли.

С целью оценки эффективности лечения препаратом Мастигард ежедневно проводили клинический осмотр (измерение температуры, пульса, частоты дыхания, оценивали руминацию), а также проводили осмотр молочной железы, в том числе оценивали характер выделяемого секрета.



В результате проведенного лечения в опытной группе с диагнозом серозный мастит после двух введений препарата Мастигард с интервалом в 24 ч отмечали 100% выздоровление. По результатам клинического осмотра коров показатели (температура, пульс, частота дыхания, руминация) находились в пределах физиологической нормы для данного вида животного. При осмотре молочных желез до лечения отмечали небольшую отёчность вымени, при сдаивании молока в начале выделялся водянистый секрет. После терапии при осмотре вымени отечность не отмечали, консистенция молока соответствовала норме. Определение количества соматических клеток до начала лечения подтвердила диагноз серозный мастит, так как полученные значения ровнялись  $> 500\ 000 - 1\ 000\ 000$ , после лечения количество соматических клеток уменьшилось до показателей нормы. По результатам бактериологических исследований молока было выделена ассоциированная патогенная микрофлора представленная *Staphylococcus spp.* и *E.coli*, после окончания терапии патогенных возбудителей в образцах молока не было выявлено.

Таким образом, по результатам проведенного исследования терапевтической эффективности лекарственного препарата для интрацестерального введения Мастигард в лечении серозного мастита коров на базе КФХ Солтабиев Х.А. установлена 100% эффективность после двукратного применения препарата.

Заведующий  
КФХ Солтабиев Х.А. «20» июля 2014 г.



Попов С.П.

Ветеринарный врач СНИОКР  
ООО «НИТА-ФАРМ» «20» июля 2014 г.

Первов Е.А.

СНС по ветеринарии СНИОКР  
ООО «НИТА-ФАРМ» «20» июля 2014 г.

Солодкова К.В.

Утверждаю:

Главный директор

ИИ Гаврилов А.С.

Гаврилов А.С.



АКТ №3

о проведении исследований по оценке терапевтической эффективности препарата Мастигард в лечении фибринозного мастита коров

Нами, директором ИП Гаврилов А.С. Гавриловым А.С., ветеринарным врачом СНИОКР ООО «НИТА-ФАРМ» Первовым Е.А., старшим научным сотрудником по ветеринарии ООО «НИТА-ФАРМ», соискателем ученой степени кафедры биотехнологии, биофизики и биохимии ФГБОУ КубГАУ Солодковой К.В. проведены исследования по оценке терапевтической эффективности препарата Мастигард в лечении фибринозного мастита коров.

Для формирования групп животных была проведена диспансеризация 55 голов коров симментальской породы, 3–4 лактации с целью выявления фибринозного мастита. Диагноз ставили комплексно на основании клинического осмотра, диагностики экспресс-тестом Кенотест, а также на основании бактериологического исследования образцов молока. По результатам диагностического исследования была сформирована 1 группа коров с диагнозом фибринозный мастит (n=18). В опытной группе животных лечили препаратом Мастигард, который вводили интрацестернально в дозе 10 г (содержимое 1 шприца) в каждую пораженную четверть вымени. Препарат вводили 1-2кратно с интервалом 24 часа, при необходимости введение повторяли.

С целью оценки эффективности лечения препаратом Мастигард ежедневно проводили клинический осмотр (измерение температуры, пульса, частоты дыхания, оценивали руминацию), а также проводили осмотр молочной железы, в том числе оценивали характер выделяемого секрета.

В результате осмотра больных животных опытной группы было отмечено угнетение, снижение аппетита, повышение клинических показателей – температуры тела, пульса и частоты дыхания относительно физиологической нормы для данного вида животного.

Также по результатам клинического осмотра коров было выявлено поражение долей вымени, характеризующиеся отечностью, умеренной гиперемией, повышением местной температуры, болезненностью, при пальпации ощущалась крепитация, консистенция долей была тестоватая. При попытке сдаивания молока животное беспокоилось, из пораженных долей выделялось жидкое (водянистое) молоко с примесью крупинок фибрина.

По результатам исследования соматических клеток в образцах молока было выявлено их увеличение в диапазоне  $> 1\ 000\ 000 - 5\ 000\ 000$ , что свидетельствует о проявлении клинической формы мастита. Бактериологическое исследование образцов молока от больных животных подтвердило наличие ассоциации возбудителей - *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. и *E. coli*

При наблюдении за животными опытной группы с диагнозом фибринозный мастит установлено, что улучшение общего состояния и вымени коров через 12-24 часа после первого введения препарата. Выздоровление по клиническим признакам (нормализация общего состояния, исчезновение отека и болезненности вымени, нормализация секреции молока) отмечены через 48-72 часа от начала лечения, для выздоровления животных потребовалось 2-3 введения препарата с интервалом в 24 часа.

По результатам проведенного исследования экспресс-тестом на определение количества соматических клеток в молоке было установлено, что нормализация данного показателя отмечали на третьи и четвертые сутки после применения препарата.

Бактериологические исследования образцов молока после терапии подтвердили отсутствие в них бактериальных возбудителей, что подтверждает эффективность терапии.

Таким образом, по результатам проведенного исследования терапевтической эффективности лекарственного препарата для интрацестернального введения Мастигард в лечении фибринозного мастита коров на базе ИП Гаврилов А.С. установлена 100% эффективность после 2-3-х кратного введения препарата.

ИП Гаврилов А.С. «10» июля 2014 г. Гаврилов А.С.

Ветеринарный врач СНИОКР

ООО «НИТА-ФАРМ» «10» июля 2014 г. Первов Е.А.

СНС по ветеринарии СНИОКР

ООО «НИТА-ФАРМ» «10» июля 2014 г. Солодкова К.В.



**Приложение №3**  
**Акты внедрения в учебный процесс**

**УТВЕРЖДАЮ**  
 Проректор по учебной работе  
 ФГБОУ ВО Вавиловский университет  
 Макаров С.А.  
 2024 г.



**АКТ**  
**о внедрении результатов научно-исследовательской работы по теме**  
**диссертации в учебный процесс**

Результаты научно-исследовательской работы по теме диссертации «Разработка, фармако-токсикологическая оценка и эффективность применения препарата Мастигард при мастите у коров» Солодковой Киры Вадимовны, выполненной на базе кафедры «Биотехнология, биохимия и биофизика» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» внедрены в учебный процесс и используются при чтении лекций и проведения лабораторных занятий по курсам «Акушерство и гинекология» и «Внутренние незаразные болезни животных» (специальность 36.05.01 – Ветеринария) в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова».

Протокол заседания кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» № 2 от 04.09.2024 г.

Заведующий кафедрой  
 «Болезни животных и  
 ветеринарно-санитарная  
 экспертиза»



Строгов В.В.

Директор Института  
 ветеринарной медицины и фармации



Ларионова О.С.

**УТВЕРЖДАЮ:**

Проректор по учебной работе ФГБОУ ВО  
«Кубанский государственный аграрный  
университет имени И.Т. Трубилина»,  
канд. вет. наук, доцент



\_\_\_\_\_ А.В. Петух  
\_\_\_\_\_ 2024 г.

**АКТ ВНЕДРЕНИЯ**

научно-исследовательской работы аспиранта Солодковой К.В.  
в учебный процесс университета

Результаты диссертационной работы аспиранта кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики Солодковой Киры Вадимовны на тему: «Разработка, фармако-токсикологическая оценка и эффективность применения препарата Мастигард при мастите у коров» были внедрены в учебно-практический процесс ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» при проведении лабораторно-практических занятий на кафедре терапии и фармакологии.

Заведующий кафедрой  
терапии и фармакологии,  
канд. вет. наук, доцент

Л. А. Хахов