

На правах рукописи

СИДНЕВ НИКИТА ЮРЬЕВИЧ

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИЯ МАСТИТОВ У
ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИВНОГО
ПРОИЗВОДСТВА**

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

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Саратов 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева»

Научный руководитель: **Федотов Сергей Васильевич,**
доктор ветеринарных наук, профессор,

Официальные оппоненты: **Алиев Аюб Юсупович,** доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник ФГНУ «Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт» – филиал «Федеральный аграрный научный центр республики Дагестан», директор, г. Махачкала

Кочарян Валентина Даниловна, кандидат биологических наук, доцент ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный аграрный университет», доцент кафедры акушерства и терапии, г. Волгоград

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург

Защита диссертации состоится « » _____ 2025 г. в 9-00 часов на заседании диссертационного совета 35.2.035.02 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» по адресу: 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335, учебный комплекс № 3, диссертационный зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Вавиловский университет и на сайте www.vavilovsar.ru

Отзывы на автореферат направлять ученому секретарю диссертационного совета 35.2.035.02 по адресу: 410012, г. Саратов, пр-кт им. Петра Столыпина, зд. 4, стр. 3, ФГБОУ ВО Вавиловский университет; e-mail: vetdust@mail.ru

Автореферат разослан « » _____ 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, доцент

А. В. Егунова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В условиях импортозамещения необходимо обеспечение населения РФ в достаточном количестве качественными и биологически полноценными молочными продуктами, удовлетворяющими в полной мере физиологические потребности организма человека. Это является основополагающей задачей, стоящей перед работниками агропромышленного комплекса (Алиев А.Ю. и др., 2020, 2024; Лободин К.А., Нежданов А.Г., 2021; Семиволос А.М., Семиволос С.А., Токарев Д.Н., 2023)

Экономический ущерб для мировой молочной промышленности составляет приблизительно 7 миллиардов долларов в год (Rathaur A., Bhateshwar V., 2020; Televičius M., Juozaitiene V., Malašauskienė D., Antanaitis R., Rutkauskas A., Urbutis M., Baumgartner W. Inline, 2021; Hashem Y. A., Abdelrahman K. A., Aziz R. K., 2021).

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

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

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

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

По данным ряда авторов одной из основных причин маститов является проникновение микроорганизмов непосредственно в цистерну молочной железы через сосковый канал. При этом основными патогенами являются *E. coli*, *Staph. aureus*, *St. Uberis*, *C. sporogenes*, *C. butyricum*, а также *C. Tyrobutyricum*, *C. tertium*, *Salmonella*. Определение патогенных свойств возбудителей необходимо при подборе терапевтических и профилактических средств (Абдессемед Д. и др., 2014; Баймишев М.Х., 2016; Егунова А.В. и др., 2016; Матренов И.С. и др., 2018; Fedotov S.V. et al, 2022).

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

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

Задачи научной работы:

- Определить возможность полипозиционного сканирования молочной железы у высокопродуктивных коров с использованием 2D УЗ – аппаратов для выявления патологии вымени;
- Выявление новых маркеров для диагностики субклинических маститов у коров в сыворотки крови (NO) с помощью метода электронного парамагнитного резонанса;
- Проведение скрининговых исследований препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1» на целевых животных;
- Определение влияния препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1» на показатели качества сырого молока, полученного от коров в условиях интенсивного производства;
- Внедрение двухмерной ультразвуковой сонографии молочной железы в систему текущей диспансеризации лактирующих коров

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

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

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

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

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

Были проведены клинические испытания нового препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1», и разработана схема профилактики и лечения

субклинических маститов у коров. Наши исследования вошли в досье препарата «Антимаст №13». Препарат был зарегистрирован в РФ как лекарственное средство под коммерческим названием «Мастиблок».

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

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

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

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

Основные положения, выносимые на защиту:

- Полипозиционное сканирование молочной железы у высокопродуктивных коров с использованием 2D УЗ – аппаратов для выявления патологии вымени;
- Новые маркеры для диагностики субклинических маститов у коров в сыворотки крови (NO) с помощью метода электронного парамагнитного резонанса;
- Скрининговые исследования препаратов «Антимаст №13» и «Антимаст №1» на целевых животных;
- Внедрение двухмерной ультразвуковой сонографии молочной железы в систему текущей диспансеризации лактирующих коров

Степень достоверности и апробация результатов. Материалы диссертационной работы доложены на следующих конференциях и конкурсах: IX научно – практическая конференция «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии», проводимая в рамках всероссийского фестиваля науки, Москва 2021; X научно – практическая конференция «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, товароведения и экспертизы сырья и продуктов животного и растительного происхождения, зоотехнии и биотехнологии», проводимая в рамках всероссийского фестиваля науки,

Москва 2022; Всероссийский конкурс на лучшую научную работу, среди студентов, аспирантов и молодых ученых аграрных образовательных и научных учреждений России, Москва 2023 (призовое место); III Национальная премия «Серебряный микроскоп» XXXI Московского международного Ветеринарного Конгресса; Семинар молодых ученых на иностранных языках, Москва 2023; Международная научно – практическая конференция «Перспективы развития ветеринарного акушерства, гинекологии и биотехники репродукции животных», Москва 2023.

Публикации. По материалам диссертационных исследований опубликовано 12 научных работ, в том числе 2 статьи – в журналах, входящих в список изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 3 в изданиях, входящих в перечень Scopus. Общий объем публикаций составляет 2,38 п. л., из которых 1,44 п. л. принадлежат лично соискателю. Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Программа нейросетевого анализа биохимических показателей крови животных» №2023662779 от 14.06.2023.

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

Объем и структура диссертации. Диссертация представляет собой 139 страниц печатного текста и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, собственные исследования, заключение, рекомендации производству, перспективы дальнейшей разработки темы и список литературы. Список литературы включает 191 источник, из которых 116 являются зарубежными. В работе представлены 40 таблиц, 9 рисунков и 5 приложений.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований

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

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

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

Морфометрические параметры вымени экспериментальных коров определялись посредством портативного сонографического аппарата “Chison sonotouch” с конвексным датчиком частотного диапазона 3,5–5 МГц.

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



Рисунок 1 – Схема опыта №1

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

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

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

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

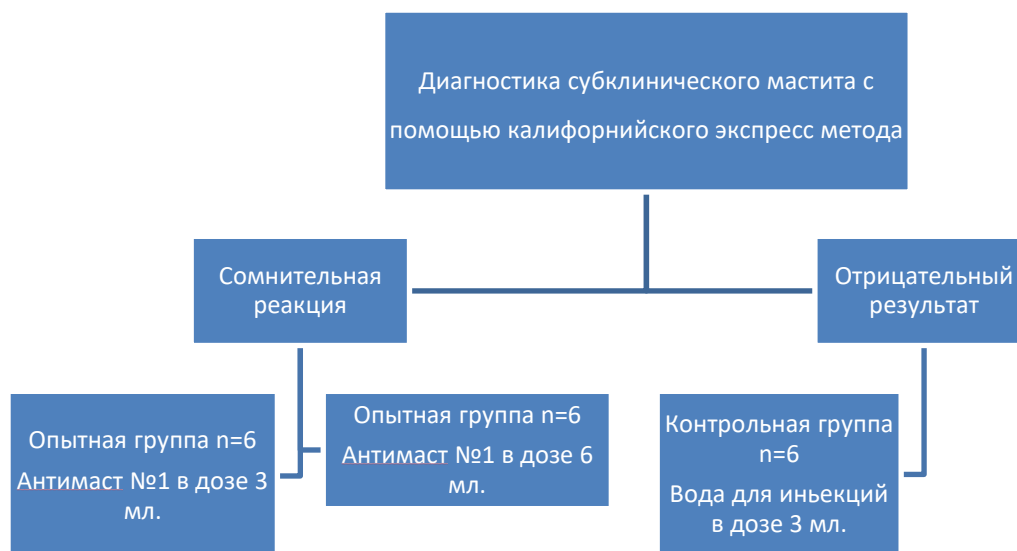


Рисунок 2 – Схема опыта №2

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

Таблица 1 – Дизайн опыта по изучению переносимости препарата «Антимаст №13» на целевых животных.

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

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

Дизайн и организация исследования направлены на решение поставленной цели и базируются на общих принципах организации исследований по оценке переносимости при многократном применении в повышенных дозах лекарственных препаратов на целевых видах животных (таблица 2).

Таблица 2 – Дизайн опыта по изучению переносимости препарата Антимаст №1 на целевых животных.

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

Определение оксида азота (нитрита). Для определения NO (нитрита) в плазме крови использован метод спиновых ловушек, основанный на применении дитиокарбамата и железа (II). В данной работе мы дополнительно подробно описываем последовательность работ с возможностью быстрого ее воспроизведения.

Метод определения NO, примененный в данной работе, основан на реакции образования нитрозотиола – нитрозоцистеина (RSNO) в кислой среде (pH=3,5) из аниона нитрита NO₂[—] и гидрохлорида цистеина. Нитрозоцистеин в присутствии железа (2+) и N-метил-D,L-глюкаминдитиокарбамата (МГД), образует водорастворимый парамагнитный мононитрозильный комплекс железа МНКЖ МГД-Fe-NO. Определение аниона нитрита NO₂[—] проводили следующим образом: белки плазмы с весом более 30 кД после разморозки удаляли фильтрованием через фильтр Microcon 30 kD, Millipore Corporation, USA в течение 20 минут при 14500 об/мин на центрифуге Mini Spinplus, Eppendorf.

Разработанный метод позволяет нам контролировать влияние белков плазмы на реакцию образования МНКЖ МГД. К 50 мкл цистеина концентрацией 400 мМ добавляли 10-120 мкл сыворотки после фильтрования, pH такого раствора доводили до 3,5 ед. добавлением 0,01 мМ HCl. Спустя 5

минут, добавляли 50 мкл 40 мМ сульфата железа (II), 200 мкл 400 мМ буфера Нерес и 200 мкл МГД концентрацией 250 мМ. Затем pH раствора повышали до 7,6 ед. 0,06% раствором NaOH. В этих условиях будет образоваться МНКЖ МГД-Fe-NO.

Для построения калибровочной кривой к 50 мкл цистеина гидрохлорида концентрацией 400 мМ будем добавлять раствор нитрита натрия концентрацией 480 мкМ различного объема (2-40 мкл), pH раствора довели до 3,5 ед. добавлением 0,01 мМ HCl. Спустя 5 минут, будем добавляли 50 мкл 40 мМ железа сульфата, 200 мкл 200 мМ Нерес, 200 мкл 250 мМ МГД, pH довели до 7,6 ед. 0,06% раствором NaOH. Через 10 мин регистрируют ЭПР-спектр МНКЖ МГД-Fe-NO. Оценку концентрации нитрита в образце производили методом двойного интегрирования и сопоставления площадей ЭПР-сигналов исследуемого и стандартного образцов. В качестве последнего использован синтезированный комплекс МГД с железом (2+) и оксидом азота: МНКЖ МГД-Fe-NO.

Расчеты площадей (S) ЭПР-сигналов проводили с помощью программного обеспечения ЭПР-спектрометра Bruker ECS-106.

Мы полагаем, что имеющиеся высоко и низкомолекулярные RSNO, которые могут присутствовать в крови коров с маститом не вносят существенного вклада в измерение нитрита.

Приготовление образцов. Для исследования отбираются пробы крови из вены в пробирки с гепарином и центрифугируют в течение 10 минут на центрифуге модели CH80- 2S «Armed» со скоростью 3000 об/мин для осаждения эритроцитов. Пробы плазмы хранятся в жидком азоте (77 K). Для измерения концентрации нитрозогемоглобина цельную кровь с гепарином замораживается в пластиковых контейнерах цилиндрической формы длиной 35 мм и диаметром 4 мм.

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

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Определение предрасположенности коров к маститам с использованием УЗИ – диагностики

Анализ эхотекстуры сонограмм вымени был использован нами для оценки паренхимы молочной железы и увеличения объема полученной информации. Эхотекстура это внешний вид, структура и расположение частей объекта на ультразвуковом изображении.

Нами выявлено, что ультразвуковое исследование является эффективным методом для быстрого выявления субклинического мастита. Ультразвуковое исследование продемонстрировало взаимосвязь между течением мастита и

изменениями размера лимфатических узлов (длина и ширина), а также другие морфологические характеристики. В дополнение к патогенным факторам, морфометрия вымени и сосков влияет на распространенность мастита.

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

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

Наше исследование охватило билатеральную визуализацию 10 лимфатических узлов. Интрамаммарный лимфатический узел располагается в субэпителиальной зоне вымени. Физиологическая морфология узла характеризуется овоидной конфигурацией с эхопозитивной полостью при гипоехогенной структуре паренхимы.

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

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

При проведении производственных испытаний препарата «Антимаст №1» при лечении маститов у коров посредством портативного сонографического аппарата “Chison sonotouch” с конвексным датчиком частотного диапазона 3,5–5 МГц получили результаты, указанные в таблицах 4 и 5.

Таблица 3 – Показатели безопасности молочной железы после диагностики с биохимическими тестами (n=10)

Показатель	До лечения	После лечения
Калифорнийский тест на мастит	Сомнительный результат	Сомнительный результат
Количество соматических клеток тыс/см ³	625,27±69,91	129,26±27,41*

* – P <0,05

Таблица 4 – Показатели молочной железы при УЗИ диагностике (n=10)

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

* – P <0,05; ** – P <0,01

Таблица 5 – Фенотипические показатели молочной железы во время исследования (n=10)

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

* – P <0,05; ** – P <0,01

Продольный размер лимфоидной структуры на преклинической стадии терапии превышал аналогичный показатель постклинического периода на 6,31±1,07 см. Поперечная метрика узла до терапевтического вмешательства составила 3,37±0,78 см, с последующей редукцией до 2,63±0,62 см после лечебных мероприятий. Цитологический профиль соматических элементов выступает индикатором структурной деструкции тканевого комплекса вымени при воспалении и служит маркером иммунологической реакции организма на

патогенную флору. Повышенная концентрация соматических клеточных элементов негативно коррелирует с качественными характеристиками молока.

Таким, образом при полипозиционном сканировании молочной железы у высокопродуктивных коров с использованием 2D УЗ – аппаратов у лактирующих коров были получены двумерные изображения тканей в режиме реального времени. При большом объеме молочной цистерны (86 см³) наблюдали магистральный тип ветвления выводной системы; при среднем и малом (от 38 до 52 см³) – смешанный тип; а при слабовыраженном – рассыпной.

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

3.2. Определение переносимости препарата «Антимаст №13»

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

Данные, полученные при оценке количества соматических клеток в молоке коров в процессе опыта, представлены в таблице 6.

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

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

* – P <0,05; ** – P <0,01

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

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

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

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

Обеспечение безопасности ветеринарных препаратов является фундаментальным аспектом современной ветеринарной медицины. Особую значимость данный вопрос приобретает при разработке и внедрении лекарственных средств для продуктивных животных, в частности, крупного рогатого скота. Применение ветеринарных препаратов у дойных коров требует тщательной оценки не только терапевтической эффективности, но и отсутствия негативного влияния на качество получаемой продукции и общее состояние животных.

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

Для всесторонней оценки безопасности препарата «Антимаст №13» проводили исследования, которые включали в себя: анализ качественных показателей молока до начала применения препарата, в процессе лечения и после его завершения; биохимическое исследование крови для оценки функционального состояния внутренних органов; исследование морфологического состава клеток периферической крови и уровня гемоглобина; мониторинг общего состояния животных, включая температуру тела и динамику массы; оценка состояния кожи вымени и измерение морфометрических параметров вымени до и после лечения. Все исследуемые показатели находились в пределах физиологической нормы.

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

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

Для постановки предварительного диагноза на субклинический мастит проводили экспресс диагностику состояния здоровья вымени с Калифорнийским мастит – тестом, и на основании полученных данных было сформировано в молочном комплексе АО «Леднево» две группы животных по 10 голов. Все животные имели сомнительную реакцию на Калифорнийский экспресс метод. Вторая группа была контрольная, а коровам, входившим в

первую группу на вымя, наносили препарат «Антимаст №13» для профилактики развития патологии молочной железы. Препарат опытной группе коров наносили на вымя в дозе 50 г на животное.

Таблица 7 – Молочная продуктивность и биохимические показатели молока от коров при применении препарата «Антимаст №13» в АО «Леднево» (n=10)

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

* – P <0,05.

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

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

При проведении исследований молока от коров контрольной группы обнаружили понижение содержания сухого вещества и изменения количественного соотношения между составными частями молока. Из таблицы

видно, что содержание сухого вещества в молоке у коров первой группы превышало этот показатель в молоке коров вторых группы.

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

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

Содержание соматических клеток, которое было выше у животных второй группы по сравнению с первой группой, что также свидетельствует о начале воспалительного процесса в молочной железе. Плотность молока коров всех групп соответствовала норме, предусмотренной ГОСТом, но у коров второй опытной группы была на нижней границе и составила $1026,77 \pm 2,10$.

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

Через 7, 14 и 21 день проводили диагностику на субклинический мастит с Калифорнийским мастит – тестом у всех контрольных групп. В результате во второй группе, где не применяли для профилактики препарат «Антимаст №13» количество соматических клеток в молоке у коров, содержащихся в данном комплексе, достигло $8,54 \cdot 10^5 \pm 0,29 \cdot 10^5$ против $3,28 \cdot 10^5 \pm 0,19 \cdot 10^5$ в см³.

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

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

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

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

Во время лечения коров с клиникой серозного мастита использовали испытуемый препарат «Антимаст 1» в сравнении с гентамицином сульфат. В процессе опыта проводили наблюдения за коровами, а также выявляли возможные изменения в молоке и состоянии вымени при каждой дойке.

При оценке терапевтического эффекта результаты лечения были разделены на три категории:

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

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

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

Чтобы минимизировать утилизацию молока, лечение прекращали, как только исчезали клинические признаки и секреция молочной железы визуально становилась нормальной. В этом исследовании продолжительность лечения с использованием препарата Антимаст №1 и гентамицина сульфата составила $3,7 \pm 0,2$ и $4,3 \pm 0,2$ дня, соответственно (таблица 8).

Таблица 8 – Определение эффективности препарата «Антимаст №1»

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

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

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

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

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

Препарат «Антимаст №1» является высоко эффективным средством для терапии субклинического и клинического мастита у коров в период лактации, что позволяет рекомендовать его для дальнейшего клинического применения.

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

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

По нашим данным медиаторы воспаления могут увеличивать индукцию NO – синтезу (NOS2), которая, в свою очередь, синтезирует NO. Коровы с клиническим маститом, по – видимому, производят больше NO в плазме, чем у коров с субклиническим маститом. Таким образом, возникновение воспаления может усиливать образование и накопление NO в крови. Концентрация NO в плазме была достоверно связана с прогрессированием мастита. По мере того, как в молочной железе накапливалось все больше и больше воспалительных продуктов, воспаление становилось все более серьезным. Возможно, коровы с субклиническим маститом способны эвакуировать продукты воспаления при не столь сильном повреждении железы. Однако у коров с клиническим маститом наблюдается более тяжелое воспаление, из – за которого не удастся быстро вывести продукты воспаления. Таким образом, концентрация NO в крови может быть хорошим стандартом для диагностики субклинического мастита.

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

В процессе исследований выяснили, что антибиотики способны уничтожить большинство патогенов, вызывающих мастит. Однако они не могут предотвратить воспалительную реакцию, NO обнаруживается в крови, причем изменение концентрации статистически различно в отдельных пробах.

В наших исследованиях концентрация нитрита в плазме была выше в субклинической группе составила $5,73 \pm 1,88$ мкмоль/л, тогда как средняя концентрация NO в крови контрольной группы составила $3,16 \pm 0,93$ мкмоль/л (рисунок 3).

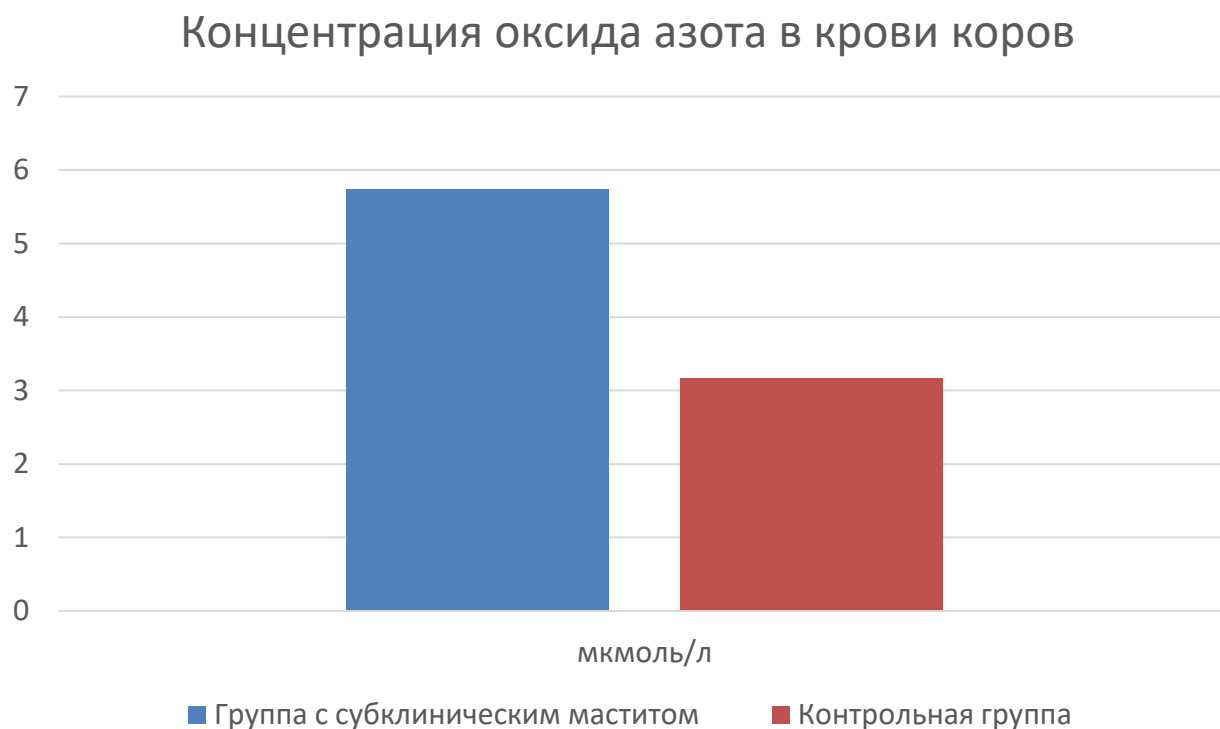


Рисунок 3 – Показатели оксида азота при субклинических маститах у коров

Следовательно, установлена статистически значимые отличия в концентрации нитрита в крови здоровых животных и с субклиническим маститом, что указывает связь между воспаления в молочной железе и концентрацией NO. В связи с этим изменения уровня NO в крови могут использоваться в качестве альтернативного диагностического инструмента для выявления воспаления при субклиническом мастите. Во время воспаления NO увеличивается и реагирует с супероксид анион радикалом, что приводит к образованию пероксинитрита, и этот продукт, весьма реакционноспособный, может распадаться с образованием нитрита NO_2 и нитрата NO_3 , а также способствовать, окислению жирных кислоты в клеточных мембранах. Все это приводит к усилению перекисного окисления липидов и образованию свободных радикалов. Увеличение уровня гидроперекиси липидов вследствие перекисного окисления липидов вовремя экспериментально вызванного острого мастита у крупного рогатого скота ясно указывает на то, что мастит вызывает образование свободных радикалов.

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ультразвуковое исследование вымени при субклиническом мастите выявляет значительное количество мутного эхогенного содержимого молока в цистерне при нормальной толщине стенки соска и соскового канала, что позволяет поставить диагноз на начальные стадии заболевания.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

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

Для профилактики субклинических маститов у коров наносить препарат «Антимаст №13» на вымя ежедневно в течение 7 дней в терапевтической дозе 50 г.

Для лечения маститов серозного и катарального маститов препарат «Антимаст №1» через сосок вымени коровам при субклиническом мастите ежедневно в течение 7 дней в терапевтической дозе 3 мл.

Для научно-методических ветеринарных лабораторий рекомендуем использовать показатель оксида азота как маркер воспаления в молочной железе у лактирующих коров.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

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

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных перечнем ВАК РФ

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

2. Артюшина, З.С. Оценка уровня нитрита и трансферрина в крови коров с субклиническим маститом методом электронного парамагнитного резонанса /

Артюшина З.С., Федотов С.В., Сerezhenkov В.А., **Сиднев Н.Ю.**, Ткачев Н.А., Белозерцева Н.С.// Известия ТСХА. – 2025. – №2. – С. 23-29.

3. Fedotov, S.V. Enhancements in the diagnosis of mastitis in cows, held in an intensive farming system// Regan Reddy Gade, **Sidnev N.I.**, Fouad Sakr, Zhrebtsov I.S. – The Indian veterinary journal. – July 2022. – P. 99 –106. (Scopus)

4. Artyushina, Z. Nitric oxide acts as an early diagnostic tool for intrauterine diseases in animal health// Artyushina Z., Fedotov S., Serezhenkov V., **Sidnev. N.**, Zhrebtsov I., Regan R. G., Muradyan ZH. – Bangladesh journal of infectious diseases. – 2024. – V. 11 – №1– P. 52 –58.

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

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

Авторские свидетельства

7. Свидетельство №2023662779 от 14.06.2023 об официальной регистрации программы для ЭВМ «Программа нейросетевого анализа биохимических показателей крови животных», выданное Федеральной службой по интеллектуальной собственности, заявка № №2023619072 от 10.05.2023. Правообладатель: ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. Авторы: Воробьев Н.В., Селина М.В., Гусельникова А.А., Никонов И.Н., **Сиднев Н.Ю.**

В других изданиях

8. **Сиднев, Н.Ю.** Применение гинеколога – маммологической диспансеризации на животноводческих комплексах промышленного типа // Сб. тезисов к 9 научно – практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии». – 2021. – С. 44 – 45.

9. **Сиднев, Н.Ю.** Применение метода ЭПР – спектроскопии для определения уровня оксида азота у животных с внутриматочными инфекциями/ Н.Ю. Сиднев, З.С. Артюшина // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения, Сборник трудов 3-й Научно – практической конференции. – 2024. – С.117

10. **Сиднев, Н.Ю.** Изменение качества молока при субклинических формах маститов у коров// Н.Ю. Сиднев, С.В. Федотов/ Актуальные проблемы ветеринарной медицины, товароведения и экспертизы сырья и продуктов животного и растительного происхождения, зоотехнии и биотехнологии.

материалы X научно – практической конференции в рамках XII Всероссийского фестиваля науки. – 2022. – С. 89 – 93.

11. Артюшина, З.С. Измерение уровня оксида азота при ранней диагностике внутриматочных инфекций/ З.С. Артюшина, **Н.Ю. Сиднев**// Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения, Сборник трудов 3 – й Научно – практической конференции. – 2024. – С. 116 – 117.

12. Воробьев, Н.И. Нейросетевая диагностика состояния здоровья коров по показателям их крови/ Н.И. Воробьев, И.Н. Никонов, М.В. Селина, А.А. Гусельникова, **Н.Ю. Сиднев**, А.В. Платонов, Н.В. Боголюбова// Вакцины нового поколения для профилактики особо опасных болезней сельскохозяйственных животных. Сборник трудов Международной научно – практической конференции. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина». – 2023. – С. 83 – 89.