

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР - ВСЕРОССИЙСКИЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ВЕТЕРИНАРИИ ИМЕНИ К.И. СКРЯБИНА И Я.Р. КОВАЛЕНКО РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)

На правах рукописи

АВДУЕВСКАЯ НАТАЛЬЯ НИКОЛАЕВНА

Усовершенствование мероприятий по борьбе с маститом коров в
сельскохозяйственных предприятиях

4.2.3. – Инфекционные болезни и иммунология животных

4.2.2. – Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и
биобезопасность

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, доцент

Капустин Андрей Владимирович

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

1 ВВЕДЕНИЕ.....	6
2 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
2.1. Мастит коров, его распространенность, классификация и диагностика.....	13
2.2. Причины распространения массовых маститов коров.....	17
2.3. Характеристика этиологически значимых возбудителей маститов коров, их идентификация.....	20
2.4. Антибиотикорезистентность бактерий при мастите коров.....	27
2.5. Мероприятия по борьбе с маститами коров.....	31
2.5.1. Меры профилактики при доении.....	33
2.5.2. Специфическая профилактика маститов.....	35
3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
3.1. Материалы и методы.....	38
3.1.1. Материалы.....	38
3.1.2. Методы.....	42
4 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	47
4.1. Мониторинг уровня заболеваемости коров маститом в сельскохозяйственных предприятиях.....	47
4.2. Изучение основных причин, способствующих возникновению массовых маститов у коров в хозяйствах.....	54
4.2.1. Технические неполадки в молочном оборудовании и нарушения правил машинного доения.....	54
4.2.2. Микробный фактор.....	56
4.3. Определение чувствительности микроорганизмов к комплексным антибактериальным препаратам при использовании модифицированного диско-диффузионного метода.....	62

4.3.1. Модифицированный диско-диффузионный метод.....	62
4.3.2. Влияние времени пропитывания бумажных дисков на диаметр зон задержки роста микроорганизмов.....	66
4.3.3. Сравнение модифицированного диско-диффузионного метода и метода лунок.....	68
4.3.4. Сравнение зон задержки роста микроорганизмов при применении стандартных и картонных дисков.....	70
4.3.5. Оценка чувствительности микроорганизмов, выделенных от коров из сельскохозяйственных предприятий.....	73
4.4. Эффективность дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) в лабораторных и производственных условиях.....	79
4.5. Специфическая профилактика мастита с применением ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров.....	86
4.5.1. Результаты быстрого маститного теста, бактериологических и серологических исследований в хозяйстве «Передовой».....	87
4.5.2. Результаты быстрого маститного теста, бактериологических и серологических исследований в хозяйстве «Заря».....	93
4.5.3. Эффективность схем борьбы с маститами коров.....	99
5 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	104
6 ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	114
7 ВЫВОДЫ.....	115
8 ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	117
9 РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	118

10 СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	119
11 ПРИЛОЖЕНИЯ.....	136

Список сокращений и терминов

АГВ – сухой питательный агар Гивенталья-Ведьминой

БГКП – бактерии группы кишечных палочек;

БМТ – быстрый маститный тест;

Гол. – голов;

ГОСТ – государственный стандарт Российской Федерации;

ЗЗР – зона задержки роста;

КМАФАнМ – количество мезофильных аэробных,

факультативно-анаэробных микроорганизмов;

КОЕ – колоний образующие единицы;

М/к – молочнокислые;

МПА – мясо-пептонный агар;

МПБ – мясо-пептонный бульон;

Сек. – секунда;

СПА – сухой питательный агар;

ОАО – открытое акционерное общество;

СХПК – сельскохозяйственный производственный кооператив;

РА – реакция агглютинации;

Н/п – непатогенный;

Мин.– минут

Ч. – час, часов

Незначительная изменчивость – коэффициент вариации (изменчивости) не превышает 10%;

Средняя изменчивость – коэффициент вариации (изменчивости) 10-20%;

Значительная изменчивость – коэффициент вариации (изменчивости) более 20%.

1 ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Одной из главных задач современного животноводства является увеличение производства высококачественных продуктов для обеспечения населения страны. Важнейшее направление отрасли – молочное скотоводство, позволяющее получать необходимое количество качественного и безопасного коровьего молока и продуктов его переработки. Достижению указанной цели мешают различные заболевания, одним из которых является воспаление молочной железы – наиболее распространенное и экономически затратное заболевание молочного скота [152, 160, 170].

Маститы коров распространены повсеместно как в хозяйствах Российской Федерации, так и в других странах мира. Исходя из статистических данных международной молочной федерации, маститом в течение года переболевают до 25% коров. Некоторые исследователи установили, что мастит обнаруживается у 50% дойного поголовья коров, причем субклиническая форма мастита встречается гораздо чаще, чем клиническая и достигает до 97% случаев [15, 17, 139].

Маститы причиняют существенный экономический ущерб молочным сельскохозяйственным предприятиям [6, 14, 41, 60, 79, 124, 133, 146, 178, 180]. Лечение этого заболевания антибиотиками приводит к снижению надоев вследствие выбраковки значительных объемов молока на период выведения лекарственных веществ из организма животного. При субклинических маститах снижается сортность за счет повышения количества соматических клеток в сборном молоке, что влечет снижение закупочной цены [173].

Причин возникновения мастита у животных множество, но важную роль занимает микрофлора [13, 33, 48, 105, 167], которая представлена такими микроорганизмами, как стафилококки, стрептококки, бактерии группы кишечной палочки, псевдомонады, коринебактерии, микоплазмы, грибы рода *Candida* и др. Одними из наиболее распространенных возбудителей мастита, способных самостоятельно вызывать инфекционный процесс в организме, являются

кокковые бактерии [4, 35, 40, 46, 59, 113, 148, 155] – *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* и *Streptococcus dysgalactiae* [34, 131, 138, 179].

Учитывая высокий процент заболеваемости коров воспалением молочной железы в хозяйствах и с целью предотвращения попадания в молоко указанных микроорганизмов, необходимо проводить мероприятия по борьбе с маститами коров в комплексе, включая неспецифические и специфические методы. Борьба с этим заболеванием является важным условием как для увеличения производительности молока и срока эксплуатации животных, так и уменьшения расходов на терапевтические мероприятия, снижения уровня заболеваемости молодняка.

Мероприятия по борьбе с маститами могут проводиться с целью предупреждения возникновения указанного заболевания. Такие меры включают подбор животных при формировании молочного стада, гигиена доения, условия кормления и содержания, селекция животных, устойчивых к маститу, специфическая профилактика и другие.

Большое значение в профилактических мероприятиях имеет антисептическая обработка вымени, позволяющая уничтожить патогенную и условно-патогенную микрофлору на коже сосков, не допустить ее размножения и проникновения в сосковый канал [54, 115, 118, 166]. Использование эффективного дезинфицирующего средства для обработки сосков вымени после доения уменьшает количество патогенов, а продолжительное бактерицидное действие способствует снижению заболеваемости коров маститами, увеличению производства и повышению качества молока на фермах.

Повышения резистентности животных к возбудителям мастита также можно добиться благодаря применению специфических средств профилактики [174]. Для специфической профилактики в мире применяется достаточно большое количество вакцин против маститов у коров, например «Мастивак» и «Стартвак» (Испания), «Джей-Вак» (Франция), «Лактовак» и «Бовимун Аутовак Маст» (Украина), UBAC (Испания), J-5 бактерин (США). Однако перечисленные вакцины часто не обеспечивают ожидаемого эффекта ввиду несоответствия

антигенного состава этиологической структуре возбудителей, недостаточного спектра антигенов, отсутствия отдельных факторов патогенности у производственных штаммов. Зарегистрированных вакцин отечественного производства в настоящее время в России нет, но есть сведения об их разработке.

Для подтверждения возможности профилактики инфекционных маститов путем иммунизации, была создана и испытана ассоциированная инактивированная вакцина против маститов коров, в состав которой вошли культуры *S. aureus*, *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae*.

К мерам борьбы с маститами можно также отнести обязательные диагностические исследования с определением чувствительности выделенных микроорганизмов к антибактериальным средствам и последующее использование только высокоэффективных препаратов. В ветеринарных лабораториях исследования проводят по устаревшей нормативной документации, предписывающей определение чувствительности микроорганизма непосредственно к определенному действующему веществу. Однако в настоящее время в ветеринарной практике для лечения мастита чаще используют комплексные антибактериальные лекарственные препараты, включающие в состав один, два и более антибиотиков, а также вспомогательные вещества. Поэтому, рационально проводить оценку чувствительности именно к таким препаратам, так как влияние на микрофлору нескольких антибиотиков с перечнем вспомогательных веществ совершенно иное, чем воздействие одного действующего вещества. Использование модифицированного диско-диффузионного метода применительно к комплексным антимикробным средствам позволит ветеринарным врачам хозяйств осуществлять правильный выбор того или иного препарата для лечения мастита коров.

Таким образом, усовершенствование мероприятий по борьбе с маститами коров в сельскохозяйственных предприятиях следует считать актуальными, имеющими научное и практическое значение.

Степень разработанности темы. Мастит коров – заболевание, которое зависит от многих факторов и полностью ликвидировать его невозможно.

Поэтому к устранению причин его возникновения нужно подходить комплексно, постоянно пересматривая и усовершенствуя мероприятия по борьбе с этой болезнью в хозяйствах. Такие меры должны быть направлены не только на соблюдение правил машинного доения, проверку и своевременный ремонт доильного оборудования, полноценного кормления и ухода за животными, которые возможно устранить, придерживаясь обязательных требований, но и конкретно на подавление размножения возбудителей воспаления молочной железы. Ведь патогены – это живые микроорганизмы, которые, стремясь избежать гибели, регулярно изменяют свои свойства, приспосабливаясь к воздействию факторов окружающей среды, и борьба с ними требует разработки новых методов. Поэтому одним из важных моментов защиты коров от маститов бактериальной этиологии является специфическая профилактика, заключающаяся в применении вакцин.

Усовершенствование мероприятий по борьбе с маститами коров в животноводческих предприятиях, оказывающих воздействие на возбудителей болезни, продемонстрировали значимость исследований в этом направлении.

Цель работы – усовершенствование мероприятий, направленных на борьбу с маститом коров в сельскохозяйственных предприятиях.

Задачи исследования:

- выяснить уровень заболеваемости коров маститом на фермах и комплексах;
- выявить этиологические факторы возникновения массового мастита у коров;
- изучить видовой состав микрофлоры секрета вымени коров в хозяйствах;
- модифицировать диско-диффузионный метод для определения чувствительности микроорганизмов, выделенных из секрета вымени больных маститом коров к комплексным препаратам;
- провести оценку чувствительности микроорганизмов к комплексным препаратам с использованием диско-диффузионного модифицированного метода;

- провести лабораторные и производственные испытания дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) для обработки вымени коров после доения;

- провести испытания ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров;

- сравнить эффективность схемы борьбы с маститами при применении стандартных мероприятий и в комбинации с вакцинацией против маститов.

Научная новизна. Научная новизна работы заключается в усовершенствовании мероприятий по борьбе с маститом коров в животноводческих хозяйствах Вологодской области, а именно:

- модификации диско-диффузионного метода для определения чувствительности микроорганизмов, выделенных из секрета вымени больных маститом коров, непосредственно к комплексным препаратам;

- доказательстве эффективности дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) для обработки вымени коров после доения. Указанное средство способствует диффузии действующего вещества в верхние слои эпидермиса, обеспечивая и длительно сохраняя свое бактерицидное действие;

- доказательстве эффективности схемы профилактики маститов с использованием ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров, вызванных кокковой микрофлорой.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработаны и утверждены «Методические рекомендации по доклиническому испытанию лосьона «Лорена» для гигиенической обработки сосков вымени коров после доения», «Инструкция по применению вакцины против маститов коров ассоциированной инактивированной». Разработан, утвержден и введен в действие стандарт организации СТО-00496165-0001-2023 «Вакцина против маститов коров ассоциированная инактивированная». Депонированы в Государственной коллекции патогенных и вакцинных штаммов микроорганизмов-возбудителей инфекционных болезней животных производственные штаммы *S.aureus* В-1386, *S.agalactiae* В-1387, *S.dysgalactiae* В-1388.

Испытано и предложено для применения в хозяйствах средство «Лорена» (лосьон) для обработки сосков вымени коров после доения с выраженным длительным бактерицидным действием. Разработана и испытана с положительным эффектом в хозяйствах Вологодской области ассоциированная инактивированная вакцина против маститов коров. Модифицированный нами диско-диффузионный метод предложен для определения чувствительности микроорганизмов к комплексным антимикробным препаратам.

Методология и методы исследований. Для достижения поставленной цели и обоснования применения полученных результатов использованы адекватные методологические приемы и доступные методы исследования. Исследования проводились с применением эпизоотологических, клинических, бактериологических, серологических и статистических методов.

Предметом исследования являлись дезинфицирующее средство «Лорена» (лосьон), ассоциированная инактивированная вакцина против маститов коров, комплексные антибактериальные препараты.

Объектами исследования являлись лактирующие, сухостойные, клинически здоровые и больные различными формами маститов коровы айрширской и чернопестрой пород, смывы с сосков вымени коров, молоко, кровь, микроорганизмы, выделенные из молока больных маститом коров.

Положения, выносимые на защиту:

- уровень заболеваемости коров маститом на фермах и комплексах Вологодской области;
- этиологические факторы возникновения массового мастита у коров;
- видовой состав микрофлоры вымени коров в хозяйствах;
- применение модифицированного диско-диффузионного метода для определения чувствительности микроорганизмов к комплексным препаратам, оценка их восприимчивости;
- доказательство эффективности дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) для обработки сосков вымени коров после доения, его бактерицидная активность;

- доказательство эффективности ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров, вызванных кокковой микрофлорой;

- сравнение эффективности схем профилактики маститов без иммунизации при применении стандартных мероприятий и с использованием вакцинации коров ассоциированной инактивированной вакциной против маститов.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов исследований подтверждена совпадением полученных результатов экспериментальных исследований с теоретическими положениями. При статистической обработке результатов использовали программу «Microsoft Office, 2007». Для выявления статистически значимых различий применяли биометрическую обработку лабораторных, клинических и эпизоотологических данных [86].

Материалы диссертации доложены на IV Международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного комплекса регионов», ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр», Курск, 2022 [5], а также на заседаниях НМК и Ученых советах ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН в 2019-2021 гг.

Публикации. По материалам диссертации опубликованы 18 научных работ, из которых 15 в изданиях из перечня рецензируемых научных журналов ВАК, в том числе, 2 – в международных изданиях, индексируемых в базе данных Scopus.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 154 страницах компьютерного текста, состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических предложений, списка использованной литературы и приложений. Диссертация содержит 33 таблицы, 16 рисунков, 9 приложений. Список литературы включает 189 литературных источников.

2 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

2.1 Мастит коров, его распространенность, классификация и диагностика

Маститы коров имеют широкое распространение в странах с развитым молочным скотоводством [45, 127]. По данным Б.Л. Белкина и соавт. [15] в Великобритании ежегодно выявляют до 32% коров с субклиническим маститом, в Швеции – 28, в Индии – 54, в Нидерландах – 15%. В Германии около 60% случаев появления мастита регистрировалось в зимние месяцы, в США в течение года было выявлено 51% коров с клинической формой мастита. В России в 1995 г. маститом переболело около одного миллиона коров, то есть более 10% поголовья маточного стада [51]. Однако в отдельных областях случаев возникновения маститов намного больше, чем в целом по России. Например, в Тамбовской области от 12,5% до 30,9% [123], в зоне Южного Урала – 10-30% [110], в хозяйствах Татарстана от 10,9 до 25% [28], в Орловской области 29,5% [15], в хозяйствах Московской, Смоленской, Куйбышевской областей у 20,9% животных диагностировали мастит [158]. В Вологодской области маститы в среднем составляют 44,7% с колебаниями по годам от 32,3 до 67,8% [141].

Мастит коров – воспалительный процесс в тканях молочной железы [49].

По течению маститы подразделяют на острые, подострые, хронические (протекают в клинической форме) и скрытые (субклинические). Клинические маститы проявляются явными признаками воспаления молочной железы, такими как болезненность, отек, повышение температуры, а также изменением цвета и консистенции молока. Воспаление молочной железы встречается довольно часто и, по данным В.И. Мутовина [105], составляет до 20% общего количества болезней вымени.

Субклинические маститы протекают скрыто или со слабо выраженными признаками. Наиболее характерными симптомами скрытых маститов являются: постепенное снижение секреции молока в пораженной четверти вымени, появление более жидкого молока, что является основанием для подозрений на наличие болезни [49]. Скрыто протекающее воспаление молочной железы коров

значительно чаще встречается в молочных хозяйствах и создает наибольшую экономическую проблему [57]. По некоторым данным субклинический мастит встречается в 4–5 раз чаще, чем клинически выраженный [52, 84].

По характеру воспалительного процесса маститы дифференцируют на серозные, катаральные, фибринозные, гнойные, геморрагические и специфические [151]. По некоторым данным наиболее часто наблюдается серозная форма воспаления, а в меньшей степени – гнойно-катаральная, гнойная, фибринозная и геморрагическая формы [156].

При серозном мастите отмечается сильное покраснение кожи, повышение местной температуры и болезненность, отечные ткани молочной железы тестоватые, консистенция вымени каменистая, плотная [49, 151, 163]. Катаральный мастит протекает в двух формах – катар цистерны, молочных ходов и катар альвеол. При катаральном мастите первые порции молока жидкие и содержат хлопья или крошковидные сгустки выпавшего казеина, которые закупоривают молочные протоки и увеличивают их объем, вследствие чего при прощупывании соска можно обнаружить тестоватые узлы от горошины до грецкого ореха. Молочная железа безболезненна [47]. При фибринозном мастите резко снижается или прекращается молокоотделение, из соска с трудом выдавливается сыворотка или гнойный экссудат с примесью фибринозных крошек. Пораженная четверть вымени становится болезненной, плотной, при пальпации слышится характерная крепитация [128]. Гнойный мастит разделяют на гнойно-катаральный мастит, абсцесс и флегмону вымени. При гнойно-катаральном мастите молоко почти не выделяется, становится водянистым, соленым или горьким, содержит хлопьевидные сгустки, пораженная четверть увеличена, отечна, болезненна, повышается общая температура тела животного до 41⁰С. При абсцессе в глубине ткани вымени формируются одиночные и множественные гнойники. Одиночные абсцессы могут достигать огромных размеров и располагаться как в поверхностных, так и в глубоких слоях ткани вымени. Такие абсцессы легко обнаруживаются визуально, а секрет вымени из пораженной четверти органолептически не изменяется. Множественные абсцессы

также могут быть поверхностными и глубокими, локализуются в каком-либо одном участке патологической доли вымени или рассеиваются по всей четверти. Их размеры колеблются от просяного зерна до грецкого ореха и более. Молоко при поверхностных множественных абсцессах становится водянистым, со сгустками казеина, а при глубоких появляется примесь гноя и крови. Флегмона вымени – это разлитое гнойное или гнойно-некротическое воспаление ткани молочной железы [151]. Флегмонозный процесс может возникать как в одной четверти вымени, так и распространяться на всю молочную железу. При пальпации пораженной части вымени выявляется повышение местной температуры, болезненность, в толще ткани прощупываются флюктуирующие абсцессы. Из патологической доли при сдаивании выделяется мутный серого цвета секрет с хлопьями казеина.

Геморрагический мастит – воспаление вымени, характеризующееся кровоизлияниями в межтоточную ткань, в альвеолы и молочные ходы. Пораженная доля или все вымя, надвыменные лимфатические узлы увеличены в объеме, на коже появляются красные или багровые пятна. При пальпации кожа вымени горячая на ощупь, отмечается болезненность. Секрет вымени водянистый цвета «мясной воды» [74].

При классификации воспаления молочной железы выделяют специфические маститы, которые появляются при заболевании коров ящуром, актиномикозом и туберкулезом. При эпизоотиях ящура на коже вымени могут образовываться афты и язвочки, которые локализуются преимущественно на коже сосков и у их основания [101]. Секрет вымени становится слизистым, приобретает желтоватый оттенок, в нем обнаруживают хлопья казеина, фибрин и иногда кровь.

Актиномикоз вымени характеризуется образованием воспалительных гранулом, возникающих из-за внедрения лучистого грибка в ткани вымени. В тканях вымени, пораженных актиномикозным процессом, появляются очаги плотной консистенции и формируются как поверхностные, так и глубокие абсцессы. Часть этих абсцессов вскрываются наружу, образуя язвы и свищи, а

часть в молочные ходы или цистерну соска и в связи с этим в молоке может обнаруживаться гной.

При туберкулезе в тканях вымени пальпацией прощупываются плотные, различной величины безболезненные очаги или диффузное уплотнение, местная температура отсутствует.

Кроме перечисленных видов мастита встречаются осложнения воспаления молочной железы, выраженные в индурации и гангрене вымени [85]. Индурация вымени – это патологический процесс, выраженный в разрастании соединительной ткани вымени. Молочная продуктивность коровы снижается, изменяется качество молока, оно становится слизистым и неприятным на вкус, содержит хлопья казеина.

При гангрене вымени на коже вымени образуются гангренозные язвы с серозно-ихорозным экссудатом. Молокоотделение прекращается, пораженная четверть увеличена в объеме, сосок становится багровым или черным.

Перечисленные маститы имеют явные клинические признаки и их диагностика не вызывает затруднений и основывается на характерных изменениях внешнего вида молока и молочной железы [61].

Скрыто протекающие маститы выявляют с помощью прямых и косвенных методов подсчета соматических клеток в молоке. При прямых методах подсчет осуществляют в камере Горяева или в мазке (метод Прэскотта-Брида), или с помощью анализатора «Лактоскан». Для косвенных методов используют молочно-контрольные пластинки, состоящие из четырех лунок [74]. В лунке соответствующей доли вымени смешивают равное количество молока и диагностикума (по 1 мл). В качестве диагностикумов применяют Масттест, Кенотест, Калифорнийский мастит тест и др. [67, 141]. При положительной реакции в лунке образуется густое желе, при сомнительной реакции присутствуют следы желе, а при отрицательной – следы желе отсутствуют. Цвет смеси в зависимости от воспаления и используемого диагностикума может быть красным, малиновым, темно-сиреневым и др.

Если реакция на субклинический мастит оказалась положительной, молоко дополнительно проверяют пробой отстаивания [17, 82]. С этой целью из пораженной доли вымени в пробирки отбирают пробы молока и оставляют их на 18 часов в холодильнике или на льду при температуре 40°С. Положительной реакцией и основным диагностическим признаком считается появление осадка на дне пробирки серого, желто-серого, белого или кремового цвета при присутствии в малом количестве или полном отсутствии слоя сливок [17].

2.2 Причины распространения массовых маститов коров

В настоящее время одной из главных задач скотоводческих хозяйств является увеличение надоев молока с высокими показателями его санитарного качества, оказывающего непосредственное влияние на здоровье человека. По данным Всемирной Организации Здравоохранения, через молоко человеку может передаваться 28 болезней [17]. Кроме того, в молоке коров, больных маститом, содержатся болезнетворные микроорганизмы, угнетающе действующие на молочнокислых бактерий и вызывающие заболевания людей.

Маститы возникают в ответ на воздействие неблагоприятных механических, химических и биологических факторов [146]. Воспаление молочной железы у коров имеет широкое распространение на молочных фермах и протекает у каждой коровы по-разному, варьируя по степени тяжести от легкого течения заболевания, когда животное выздоравливает без лечения или легко поддается лечению, до длительной инфекции, которая приводит к потере продуктивности или даже смерти коровы [177]. Маститы могут иметь массовый характер, когда заболевание регистрируется у большого количества животных за один период времени.

В большинстве случаев маститы являются полиэтиологическим и полифакторным заболеванием [15, 41, 55, 164, 166, 181]. Их возникновению может предшествовать нарушение условий содержания и кормления коров, что приводит к снижению общей резистентности организма животного и, как следствие, возможному дальнейшему инфицированию патогенной и условно-патогенной микрофлорой [44, 69]. Микробы проникают в молочную железу

галактогенным (через сосковый канал с пола, подстилки, доильных аппаратов и других соприкасающихся с кожей вымени и сосков предметов), лимфогенным (через раны, трещины, ссадины и другие повреждения вымени и сосков), а также гематогенным путем (при послеродовых и др. заболеваниях) [29].

Основным фактором массовых маститов коров могут стать причины, связанные с доильным оборудованием. Это несоблюдение правил машинного доения, выраженное в недодаивании четвертей вымени, нерегулярном режиме доения, передержке аппаратов на вымени, отсутствии гигиенических процедур молочной железы и др., а также технические неисправности аппарата машинного доения – изношенная сосковая резина, недостаточный уровень вакуума, неправильный режим работы пульсатора и др. [12]. Несоблюдение правил машинного доения приводит к возникновению травм сосков вымени, что так же вызывает мастит.

Нарушения техники и санитарии доения, безусловно, могут способствовать возникновению маститов как инфекционного, так и неинфекционного характера [105]. По данным автора, в 80 % случаев при клинических и субклинических маститах обнаруживается какая-либо микрофлора. В подавляющем большинстве случаев бактерии являются или непосредственными возбудителями мастита и могут самостоятельно вызывать патологию молочной железы, или осложняют его течение, наслаиваясь на другие этиологические факторы. Микробный фактор может являться главной причиной в возникновении вспышек мастита коров в сельскохозяйственных предприятиях.

В хозяйствах, где регистрируют большой процент коров (25-27%) с гинекологическими заболеваниями, также особое значение в возникновении мастита отводится микрофлоре. Часто (до 30%) скрытый мастит наблюдается у коров при острых эндометритах. Между молочной железой и половой системой существует тесная функциональная и анатомическая взаимосвязь [136]. Причиной заболевания вымени является инфекция, проникающая в нее по кровяному руслу из ближайшего болезненного очага в организме, как правило, матки. В молочную железу с кровью при этом поступают не только патогенные микробы, но и их

токсины, вызывая нарушение молокообразования, молокоотделения и развитие воспалительного процесса [134].

Неправильный запуск коров провоцирует скопление секрета в молочной железе и является важным предрасполагающим фактором в возникновении мастита, так как в оставшейся части молока под действием микрофлоры происходит распад белков, что влечет повышение щелочности секрета и появления хлопьев и сгустков.

Предрасполагающим фактором мастита коров также является содержание животных в несоответствующих зоогигиеническим требованиям условиях и чем выше степень несоответствия, тем чаще возникает воспаление молочной железы. Не менее важным условием для развития заболевания является содержание больных и здоровых животных в одной группе.

Проявление патогенного действия микрофлоры в значительной мере зависит от состояния естественной резистентности организма животного в целом, и молочной железы, в частности [49, 116]. По мнению Черепahiной Л.А. [167], пониженная резистентность организма к вредным воздействиям окружающей среды является благоприятным условием для размножения и развития микроорганизмов, проникающих в молочную железу. Вредное воздействие окружающей среды может выражаться в виде охлаждения или наибольшей функциональной напряженности, что может наблюдаться при поражении микроорганизмами только одной доли молочной железы. Нередко при снижении сопротивляемости организма мастит вызывается не проникшими извне бактериями, а теми, которые уже находились в вымени и при определенных условиях проявили свои вирулентные свойства.

Демидова Л.Д. считает, что в возникновении мастита важную роль играет состояние обменных и иммунных процессов в организме и вымени коров, что и определяет их резистентность к микроорганизмам [37]. По данным Ивченко В.И. [48], маститы у коров обусловлены снижением активности гуморального и клеточного факторов резистентности молочной железы.

Именно по этим причинам дальнейшее изучение процессов, связанных с возникновением мастита и его контролем, а также применение этих знаний на фермах, по-прежнему имеет огромное значение для молочной промышленности.

2.3 Характеристика этиологически значимых возбудителей мастита коров, их идентификация

Микрофлора вымени коров может быть представлена молочнокислыми бактериями, патогенными стрептококками, стафилококками, кишечной и синегнойной палочками и др. Перечисленные микроорганизмы могут как защищать молочную железу от проникновения в нее посторонних микробов, так и проявлять свои патогенные свойства, вызывая развитие воспаления.

К клинически значимым и наиболее часто обнаруживаемым в молоке коров при маститах видам бактерий относят: *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* и некоторые другие [34, 138]. *Escherichia coli* также часто обнаруживают в молоке, но стоит учитывать, что она не всегда является возбудителем мастита коров [2, 20, 35, 70, 71].

Для идентификации возбудителей мастита у коров отбирают молоко с положительной реакцией на быстрый маститный тест или явными клиническими признаками. Пробы молока отбирают в стерильные пробирки с пробками, предварительно сцеживая первые струйки в отдельную посуду. Пробирки с молоком помещают в специальные емкости со льдом и не позднее 4-х часов с момента взятия стараются доставить в лабораторию для бактериологического анализа. Идентификация происходит путем изучения культуральных, морфологических и биохимических особенностей культур [93, 94, 175].

В лаборатории проводят посев секрета вымени молочной железы на плотные и жидкие питательные среды (МПА, СПА, МПБ). Посевы инкубируют 24 часа при температуре 37⁰С. На следующий день культуры на плотных питательных средах просматривают, выявляют изолированные колонии, учитывают их размер, форму, цвет, делают из них мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют.

S. aureus. Бактерии данного вида относятся к роду стафилококков, неподвижные, не образуют спор, факультативные анаэробы, под микроскопом представляют собой шаровидные грамположительные кокки, напоминающие гроздь винограда, диаметр клеток составляет 0,5-1,5 мкм [145].

S. aureus является возбудителем различных болезней, в том числе от легких кожных инфекций (фурункул, флегмона) до смертельно опасных заболеваний (менингит, эндокардит, сепсис). *S. aureus* также является возбудителем мастита коров [137, 154]. Некоторые штаммы золотистого стафилококка продуцируют стафилококковые энтеротоксины, вызывающие пищевые отравления [98, 172]. Инкубационный период при заражении золотистым стафилококком очень короткий – от 0,5 до 6 часов.

S. aureus присутствует в воздухе, воде, на различных поверхностях, пищевых продуктах, на коже и слизистых людей и животных. Может передаваться воздушно-капельным, фекально-оральным, а также контактно-бытовым путем.

Культуры хорошо растут на большинстве простых питательных сред (на мясо-пептонном агаре – МПА и в мясо-пептонном бульоне – МПБ), образуя на МПА ровные круглые золотисто-желтые или кремовые колонии, на МПБ равномерное помутнение [171].

Во внешней среде *S. aureus* достаточно устойчив. Прямые солнечные лучи убивают его за 10-12 часов, а при температуре 70-80⁰С *S. aureus* погибает через 20-30 минут. Золотистый стафилококк устойчив к высоким концентрациям хлорида натрия (растет на средах в присутствии 10-15% хлорида натрия).

Культуры *S. aureus* чувствительны к большинству дезинфицирующих средств, анилиновым красителям (фуксину, кристаллическому фиолетовому, бриллиантовому зеленому) и йоду, что позволяет использовать эти препараты местно, например, для обработки вымени коров. *S. aureus* обладает множественной устойчивостью к бета-лактамным антибиотикам (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы) [107] за счет присутствия А-гена, кодирующего пенициллин-связывающий белок.

Для идентификации культур *S. aureus*, обнаруженных в образцах, изучают их каталазную активность. При положительной реакции культуру относят к роду стафилококков. Для определения гемолитических свойств культуры стафилококков высевают на кровяной агар, при росте на котором *S. aureus* может вызывать полный, неполный и смешанный гемолиз эритроцитов [1].

Одним из дифференцирующих признаков наличия у возбудителя (*S. aureus*) патогенных свойств является ферментация маннита. Для определения этого суточную культуру стафилококка высевают на маннитол-солевой агар (среда № 10 ГРМ). Изменение цвета среды с малинового на желтый указывает на положительную реакцию.

Подтвердить патогенность культур *S. aureus* возможно по выраженности плазмокоагулирующих свойств в реакции с цельной или сухой разведенной плазмой кролика [93, 94, 130]. С этой целью в стерильную пробирку Флоринского с плазмой в количестве 0,5 см³ с помощью бактериологической петли вносят суточную культуру стафилококка. Для контроля ставят две пробирки с плазмой, в одну из которых засевают заведомо известную культуру плазмокоагулирующего стафилококка. Все пробирки помещают в термостат при температуре 37 °С. Учет результатов проводят каждый час в течение 3 часов, затем пробирки оставляют при комнатной температуре, результат учитывают через 24 часа. Реакция считается положительной при образовании сгустка, который при наклоне пробирки не выпадает из нее, если плазма остается жидкой и при наклоне выливается из пробирки – реакция отрицательная.

Дополнительные патогенные свойства стафилококков, выделенных из маститного молока коров, определяют с помощью их ДНК-зной активности. Суточную культуру стафилококка высевают в чашку Петри со специальной средой (на одну чашку возможно посеять до десяти культур). Культуры засевают штрихами по радиусу, затем чашки с посевами инкубируют в течение 24 часов при 37 °С. По окончании культивирования в чашки с посевами вносят раствор соляной кислоты, выдерживают 2-3 минуты, затем кислоту сливают и учитывают

результаты. Появление зоны просветления вокруг штрихов указывает о положительной реакции.

Кроме перечисленных выше реакций у стафилококков можно определять фосфатазную, лецитиназную активность [175], однако для подтверждения инфекционного мастита коров путем выявления возбудителя болезни *S. aureus* вполне достаточно проведения трех реакций: активность каталазы, коагулазы и ферментации маннитола [185].

Дополнительно ко всем указанным исследованиям возможно идентифицировать выделенные культуры стафилококков с использованием коммерческих наборов реагентов.

Патогенность *S. aureus* также может проявляться не только за счет выработки различных ферментов, но и за счет образования целого ряда токсинов: экзотоксин, мембранотоксины (гемолизины, α , β , γ и δ), лейкоцидин, энтеротоксины [39, 131].

S. agalactiae. Вид относится к роду стрептококков, имеющих овальную форму, клетки размером 0,5-2,0 мкм, располагаются цепочками, окрашиваются по Граму положительно [150]. Факультативные анаэробы, неподвижные, спор не образуют, каталазоотрицательные. Распространен повсеместно. Является возбудителем мастита крупного и мелкого рогатого скота, вызывает острое или подострое течение болезни, что приводит к снижению выработки молока [184, 186]. Вызывает инвазивные инфекции у человека. Инфекция может передаваться от животных к человеку.

S. agalactiae на простых питательных средах растет плохо, росту способствует добавление в среды крови, сыворотки, глюкозы. На плотных питательных средах образует мелкие, гладкие, блестящие колонии, на бульоне рост придонно-пристеночный.

S. agalactiae ферментирует глюкозу, мальтозу, сахарозу и некоторые другие углеводы с образованием кислоты без газа. По характеру гемолиза является бета-гемолитическим стрептококком группы В, образуя на кровяном агаре колонии с зоной полного гемолиза, но встречаются также культуры с альфа-гемолизом или

без него [165]. В окружающей среде сохраняется до нескольких дней. Чувствителен к дезинфицирующим веществам и пенициллину, устойчивость к которому у *S. agalactiae* возникает редко.

Главным фактором вирулентности *S. agalactiae* является полисахаридная капсула. Белковые факторы патогенности у данного вида складываются за счет секретируемых им ферментов:

- фибринолизина (растворяет фибриновые сгустки и за счет этого повышает его инвазивные свойства);
- стрептодорназы (гидролизует ДНК, способствует инвазивности, повышает мобильность возбудителя, снижая вязкость экссудата);
- гиалуронидазы (разрушает гиалуроновую кислоту соединительной ткани хозяина, в результате чего возбудитель распространяется по организму);
- пептидазы (С5а-пептидаза) расщепляет С5а-компонент комплемента, препятствует миграции в очаг воспаления нейтрофилов, подавляет подвижность фагоцитов.

Помимо ферментативных свойств *S. agalactiae* способен выделять такие токсины как гемолизины, экзотоксины, лейкоцидин.

S. dysgalactiae относится к роду стрептококков и разделен на два подвида – *S. dysgalactiae* (является патогеном животных) и *S. equisimilis* (является комменсалом пищеварительного и полового трактов человека) [182, 187, 188, 189]. Факультативный анаэроб, по Граму окрашивается положительно, каталазоотрицательный. По характеру гемолиза подвид *S. dysgalactiae* выступает как альфа-гемолитический и относится к фенотипу группы С [176], подвид *S. equisimilis* бета-гемолитический и может нести антигены групп А, С, и G [50].

Подвид *S. dysgalactiae* вызывает мастит крупного рогатого скота и инфекционный артрит у ягнят [183], подвид *equisimilis* – тонзиллит, кожные инфекции у человека.

S. dysgalactiae хорошо растет на средах с кровью или сывороткой крови, на бульоне с добавлением глюкозы. На плотных питательных средах образует мелкие сероватые колонии, на бульоне рост придонно-пристеночный.

Факторы вирулентности: стрептококки продуцируют стрептолизин, стимулируют увеличение титра антистрептолизина, разлагают гиалуронидазу.

Оба подвида *S. dysgalactiae* содержит М-белок, который является основным антифагоцитарным фактором [22], адсорбирует на своей поверхности фибриноген и фибрин, маскируя рецепторы для комплемента и опсоинов. Культуры чувствительны к пенициллину, гликопептидам, оксазолидонам.

Дальнейшую идентификацию кокков проводят по наличию каталазы, стрептококки являются каталазоотрицательными микроорганизмами [93,94]. В первую очередь ставят реакцию КАМП-теста, который указывает на гемолитические свойства стрептококков и положителен у таких видов как *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae*. С этой целью при помощи бактериологической петли на чашку Петри с кровяным агаром сплошной линией засевают суточную культуру гемолитического стафилококка. Далее перпендикулярно от линии ровными штрихами высевают проверяемые культуры стрептококков. На одной чашке допустимо проверить до десяти культур. Инкубируют 24 часа при температуре 37 °С. Положительной реакцией у *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae* подвид *equisimilis* считается четко выраженная зона гемолиза в виде полукруга, у *S. dysgalactiae* подвид *dysgalactiae* колонии окружены зоной частичного гемолиза с зеленоватым окрашиванием среды.

S. agalactiae обладают таким фактором патогенности, как устойчивость к желчи. Для постановки данной реакции используют МПБ или с 10% сывороткой или с 1% глюкозой, где выращивают испытуемые культуры. Затем 0,1 см³ выращенной суточной культуры вносят в пробирки с 5 см³ МПБ, содержащего 40% желчи. Результат учитывают через 24 часа после инкубации. Просветление бульона указывает на отсутствие роста культуры, а при помутнении – на рост.

Ферментативные свойства стрептококков изучают с помощью сред Гисса (цветной ряд).

Значимые для инфекционного мастита виды стрептококков (*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*) не растут на агаре с эскулином.

С целью определения видовой принадлежности стрептококков можно также воспользоваться наборами реагентов, производимых научно-исследовательскими институтами.

E. coli. Данный вид бактерий относится к роду эшерихии. Грамотрицательные факультативные анаэробы [117]. Не образуют эндоспор. Клетки палочковидные, со слегка закругленными концами, в мазках под микроскопом располагаются беспорядочно. Часть изолятов подвижна за счет имеющихся жгутиков. Эшерихии могут вызывать тяжелые токсические отравления у животных, однако встречаются и безвредные штаммы, являющиеся частью нормофлоры кишечника [45]. *E. coli* устойчивы во внешней среде, длительно сохраняются в почве, воде, фекалиях, в молоке сохраняют жизнеспособность более 30 суток. Быстро погибают при кипячении и воздействии дезинфицирующих средств.

E. coli хорошо растут на простых питательных средах. На МПА образуют серо-белые колонии средних размеров с ровными краями, на жидких средах – равномерное помутнение или незначительный осадок. Обладают сахаролитическими свойствами – ферментируют глюкозу, лактозу, мальтозу, арабинозу, галактозу, манит с образованием кислоты и газа. Расщепление лактозы является характерным признаком *E. coli*, хотя редко встречаются и лактозоотрицательные культуры. Эшерихии на дифференциальной среде Эндо образуют темно-красные колонии с металлическим блеском [140], а лактозоотрицательные – бесцветные колонии.

Протеолитические свойства у кишечных палочек выражены слабо – не расщепляют желатин, не образуют сероводород, мочевины не разлагают. Встречаются как гемолитические, так и негемолитические штаммы.

Культуры кишечной палочки содержат O, K, и H-антигены, выделяют энтеро и шига-подобные токсины [87]. Энтеротоксины приводят к нарушению водно-солевого обмена и развитию диареи у животных. Шига-подобный токсин обуславливает развитие геморрагического колита, гемолитико-уремического синдрома.

Идентификацию начинают с посева молока на среду Кода, инкубируют в течение 24 часов при 37 °С [93, 94]. Изменение цвета среды из зеленого в желтый свидетельствует о наличии в молоке энтеробактерий. При микроскопировании в мазках обнаруживают грамотрицательные палочки.

Для дальнейшей идентификации из измененных пробирок делают пересев на агар Клиглера. Изменение цвета столбика с малинового на желтый с образованием газа и без почернения говорит о наличии бактерий рода эшерихия, цитробактер, энтеробактер, клебсиелла. Если среда Кода без изменения цвета, но виден рост бактерий в виде осадка, делают пересев на среду Эндо [120].

Ферментативную способность энтеробактерий определяют по цветному ряду Гисса.

Способность бактерий ассимилировать соли лимонной кислоты исследуют с помощью цитратного теста, используя среду Симонса. При положительной реакции происходит изменение цвета среды из оливкового в синий [43]. У культур *E. coli* данная реакция обычно отрицательна.

Для определения видовой принадлежности *E. coli* также проводят реакции с метил-ротом, Фогес-Проскауэра, тест на образование сероводорода, тест на гидролиз мочевины и другие. Кроме того, можно использовать наборы реагентов.

2.4 Антибиотикорезистентность бактерий при мастите коров

Для терапии воспаления молочной железы существует огромное количество препаратов и способов. Однако это не решает проблему маститов коров, а наоборот, подтверждает сложность борьбы с данным заболеванием. В настоящее время в нашей стране и за рубежом для лечения животных в лактационный период чаще используют антибиотики [141].

Антибиотики возникли в 1928 г., когда британский микробиолог А. Флеминг впервые выделил пенициллин из плесневых грибов. Однако уже к 1940 г. еще до начала его широкого применения появились первые сведения об устойчивости бактерий к пеницилину. С тех пор проблема антибиотикорезистентности усиливается с каждым годом [42].

На сегодняшний день устойчивость к антибиотикам в мире является одной из наиболее серьезных угроз, как для человека, так и для животных [7, 21]. С одной стороны, современная ветеринарная медицина не может обойтись без антибиотиков в борьбе с рядом серьезных заболеваний. С другой – возникающая у них резистентность к антибиотикам с большой долей вероятности распространится на людей, и одновременно будет оказывать негативное влияние на здоровье самих животных, оставляя некоторые болезни без адекватного лечения [162].

По данным Белкина Б.Л. и соавт., установлено, что возбудители мастита приобретают различную устойчивость к антибиотикам. Известно, что в некоторых случаях из вымени выделяли до 100% устойчивых к пенициллину, тетрациклинам микробов [17].

В своих исследованиях Чужебаева Г.Д. и соавт. указывает на резистентность *S.aureus* к ампициллину – 75,3%, амоксициллину – 62,3%, канамицину – 60,8%, к бензилпенициллину – 59,4%, цефоперазону – 49,2%, к неомицину – 43,4%, тетрациклину – 36,2%, цефокситину – 33,3%, тилозину – 31,8% случаев. *S.agalactiae* были резистентны к бензилпенициллину – 80,7%, амоксициллину – 69,2%, канамицину – 61,5% изолятов, к ампициллину и неомицину по 50%, доксициклину – 46,1%, тилозину – 42,3%, к гентамицину и эритромицину – 38,4% изолятов [169].

Артемьева О.А. и соавт. из 155 выделенных штаммов *S. aureus* выявили, что 104 (67,1 %) штамма проявляли резистентность к одному и более антибиотикам. Наибольшее число штаммов оказались резистентными к новобиоцину (49,7 %), наименьшее – к ванкомицину (2,6 %) [10].

Наряду с этим, имеются данные о том, что в результате длительного применения антибиотиков возникает серьезная проблема множественной лекарственной устойчивости микроорганизмов к ним, что объясняется передачей факторов резистентности к антибактериальным препаратам у бактерий не только внутри вида, но и между видами [17].

Учитывая проблему антибиотикорезистентности, ученые разрабатывают новые высокоэффективные препараты, губительно действующие на возбудителей мастита [11, 18, 25, 97, 149]. В связи с этим, для лечения воспаления вымени у коров в ветеринарии все чаще используют комбинированные антибактериальные лекарственные средства с комплексным составом для интрацистернального введения. Комбинация антибиотиков, входящих в состав таких препаратов, обладает широким спектром антибактериального действия в отношении большинства грамположительных и грамотрицательных бактерий, наиболее часто выделяемых из маститного молока. Механизм действия комбинации антибиотиков (действующих веществ), входящих в состав таких препаратов, различен, но взаимно дополняющий и усиливающий их противомикробный и противовоспалительный эффект, что в конечном итоге позволяет значительно снизить количество резистентных к препаратам штаммов и расширить спектр их активности. Например, действие одних антибиотиков в комбинированном препарате заключается в ингибировании синтеза белков в бактериальной клетке, других – в проникновении в бактериальную клетку и нарушения синтеза основного компонента клеточной стенки.

Помимо антибиотиков в состав антибактериального препарата входят вспомогательные компоненты, обладающие противовоспалительным и противоаллергическим действием, позволяющие максимально снизить воспалительную реакцию и отечность тканей вымени (например, преднизолон). Дополнительные компоненты, такие как клавулановая кислота, могут защищать действующее вещество от разрушения бета-лактамазами и распространять зону антибактериальной активности на микроорганизмы, обычно резистентные к пенициллинам [83].

Считается, что к комбинированным препаратам микробы хуже адаптируются, чем к какому-то отдельно взятому антибиотику, так как при совместном (комбинированном) введении двух антибиотиков или антибиотика с сульфаниламидным или нитрофурановым препаратом, а также вспомогательных веществ, происходит взаимное усиление (синергизм) их антибактериального

действия [27, 83, 89]. Влияя на различные стороны жизненно важных функций микробной клетки, антибиотики при совместном применении, могут оказаться весьма эффективными даже по отношению к тем возбудителям мастита, которые устойчивы в отдельности к каждому из применяемых препаратов [33].

Однако применение комбинированных препаратов для лечения мастита также не решает проблему низкой чувствительности микроорганизмов. Ведь для борьбы с микробной антибиотикорезистентностью необходима не только разработка новых антимикробных препаратов, но и устранение или хотя бы минимизация первопричины болезни, а это и улучшение кормления, изменения условий содержания, использование вакцинации [99]. Важно осуществлять контроль за применением антибактериальных препаратов, здоровые животные должны получать антибиотики в профилактических целях только в случае выявления болезни у других животных стада.

Кроме того, несмотря на широкое распространение мастита у коров, исследование молока на выявление возбудителей заболевания и определения чувствительности к антимикробным средствам проводится не всегда. Чаще лечение назначается эмпирически и в случае отсутствия положительного эффекта, препарат переназначается. Такое необоснованное использование антимикробных средств приводит к развитию устойчивых штаммов возбудителей мастита коров [19, 73, 88, 111]. Поэтому введение комбинированных препаратов с усиленным противомикробным действием не сможет решить проблему маститов, если они будут использоваться бесконтрольно и без определения чувствительности микроорганизмов к ним.

В настоящее время при определении чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам руководствуются действующими МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» [95] и Клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» [63]. Данные указания и рекомендации описывают стандартные методы определения чувствительности микробов с целью расчета минимальной ингибирующей

концентрации к одному действующему веществу, при которой подавляется рост микроорганизмов. Это необходимо для выявления подбора дозы антибактериального препарата. Для этого разработаны и применяются коммерческие диски с одним антимикробным средством в нем, а также содержащие действующее и вспомогательное вещество в совокупности в одном диске, например, амоксициллин и клавулановая кислота. Однако, стандартных дисков с двумя и более действующими веществами, а также вспомогательными компонентами, нет, что создает неопределенность в отношении выявления чувствительности к комплексным препаратам, применяемым для лечения и профилактики воспаления молочной железы.

В комплексных препаратах концентрация, доза, кратность и дни лечения и профилактики уже определены (дозу, кратность введения и дни лечения нельзя уменьшить или увеличить). Чаще всего это один инъектор в сутки в течение 2-3-х дней для терапии субклинических, 3-4-х дней клинических маститов, для профилактики воспаления молочной железы в сухостойный период – один инъектор однократно. Кроме того, комплексные препараты могут содержать не только одно, но и несколько действующих веществ, а также вспомогательных компонентов и их бактерицидное действие в совокупности эффективнее в отношении резистентных форм и гарантирует высокое качество терапии [83].

Таким образом, определение чувствительности микробов непосредственно к таким препаратам поможет решить данную проблему [89]. Необходимо определить не минимальную концентрацию действующего вещества, а выявить тот комплексный препарат, который будет наиболее губительно действовать на возбудителей мастита коров, что приведет к рациональному использованию антибиотикотерапии против воспаления молочной железы.

2.5 Мероприятия по борьбе с маститами коров

Мастит является полиэтиологическим заболеванием, в связи с чем его профилактика должна быть комплексной [17, 49, 61, 65, 104, 109, 157] и включать в себя организационно-хозяйственные, ветеринарно-санитарные, зоотехнические

и агрономические мероприятия. Указанный комплекс мер необходимо разрабатывать для каждого конкретного хозяйства отдельно, учитывая специфику возникновения, течения и контроля за заболеваемостью маститами. Профилактические мероприятия являются важным фактором снижения преждевременной выбраковки коров вследствие атрофии и индукции вымени, повышения молочной продуктивности, уменьшения затрат на лекарства, снижения уровня заболеваемости новорожденного молодняка [166, 167].

Начинать профилактику следует с улучшения кормления и содержания коров, мероприятий по повышению общей резистентности организма животных [15, 17, 33, 37, 49]. Коровам в лактационный период требуется достаточное количество качественных кормов, обеспечивающих потребность организма в энергии и питательных веществах. Рацион необходимо сбалансировать так, чтобы в нем присутствовали грубые, сочные и концентрированные корма в правильном соотношении. Содержать животных нужно в чистоте, своевременно убирать навоз, обеспечивать коров сухой качественной подстилкой, проводить дезинфекцию помещений [36]. Заболевших коров изолируют от здоровых с целью предупреждения заражения, своевременно лечат, учитывая чувствительность выделенных микроорганизмов к применяемым препаратам.

Мероприятия по борьбе с маститами коров в сухостойный период также являются весьма важными [72, 129, 157]. Необходимо соблюдать правильные сроки запуска коров – за 1,5 – 2 месяца до предполагаемого отела. С этой целью рекомендуется использовать технологию одномоментного запуска с применением антимикробных препаратов пролонгированного действия [141].

Серьезной проблемой в хозяйствах становится микробная резистентность к лекарственным препаратам, связанная с их бесконтрольным применением [19, 23, 73, 88, 108, 111]. В целях борьбы с маститами и повышения эффективности лечения, требуется систематический контроль по определению чувствительности выделенных из секрета молочной железы микроорганизмов к применяемым антибиотикам [141]. В настоящее время для лечения мастита коров, а также для запуска все чаще используют препараты комплексного типа, поэтому наиболее

результативно определять чувствительность микроорганизмов именно к ним [89]. Эти исследования рекомендуется проводить не реже одного раза в 4-6 месяцев.

2.5.1 Меры профилактики при доении

Важное место в профилактике мастита занимает контроль за состоянием вымени, что достигается соблюдением техники доения, исправностью доильного оборудования и его обработки дезинфицирующими средствами, гигиеной вымени, соблюдением правил запуска коров [61, 64].

Поскольку одной из главных причин воспаления молочной железы считаются нарушения правил и технологии машинного доения, а также микробный фактор, предупредительные мероприятия, прежде всего, должны быть нацелены на их устранение [17]. С этой целью следует правильно осуществлять подбор стада с учетом физиологии животных, пригодных к машинному доению, соблюдать очередность доения, обращая внимание на возраст и здоровье коров (молодых и здоровых животных доить в первую очередь, а старых и больных – в последнюю). Необходимо проводить проверку на исправность доильного оборудования, обучать доярок правилам машинного доения. При доении коров двух-и трехтактное доильное оборудование не чередуют, не совмещают доение животных доильным оборудованием и временное доение руками [141]. Следует строго соблюдать технологию доения в соответствии с руководством по эксплуатации доильных установок, правильно настраивать и надевать доильный аппарат на вымя коровы. Обязательно содержать доильное оборудование в чистоте, так как распространение маститов зависит от качества мытья и дезинфекции [33, 80].

Перед началом доения необходимо проводить следующую подготовительную работу: тщательно мыть руки, использовать перчатки, проводить массаж вымени, сдаивать первые 2-3 струйки молока из каждого соска в отдельную посуду, мыть вымя с применением антисептических средств и вытирать его насухо, используя индивидуальные салфетки [17, 49, 141, 151].

После завершения доения и снятия стаканов доильного аппарата рекомендуется сразу обрабатывать соски дезинфицирующим средством [121].

Обработка сосков вымени дезинфицирующими средствами до и после доения имеет немаловажное значение, выраженное в предупреждении переноса болезнетворных микробов от одной коровы к другой и снижения уровня заболеваемости маститом на ферме [16, 17, 66, 118, 119, 125, 168, 174]. Преддоильные и последоильные мероприятия помогают снизить заболеваемость воспалением молочной железы коров в стаде на 50 – 70% [121].

По некоторым данным на коже сосков вымени коров обнаруживаются бактерии семейства *Enterobacteriaceae* до 88,9% и представители кокковой микрофлоры, в том числе *S. aureus* до 40% случаев [125]. На бактериальное загрязнение кожи сосков вымени коров может влиять неудовлетворительное санитарное состояние доильного оборудования. Рыжакина Е.А. в своих исследованиях указывает, что наиболее часто встречающимися штаммами микроорганизмов на поверхностях молочного оборудования ферм являются *E. coli* (675) и *S. aureus* (209P) [135].

В настоящее время существует огромное количество антисептических средств. В зависимости от их состава можно выделить две группы: первая – для проведения гигиенических процедур до доения, вторая – после доения. До доения применяют средства, содержащие моющую основу, которая способна хорошо очистить вымя. Средство должно быть качественным, не допускать раздражения кожи вымени, обладать высокими дезинфицирующими свойствами. Правильно подобранные дезинфицирующие средства обеспечивают надежную дезинфекцию вымени перед доением и предотвращают дополнительное инфицирование молочной железы через канал соска после него [80, 119].

Применение средств после доения является завершающим и наиболее важным этапом процесса доения. От его эффективности будет зависеть вероятность проникновения в сосок патогенной и условно-патогенной микрофлоры, так как сфинктер соска остается открытым в течение получаса после доения [68]. Такие средства должны иметь защитную функцию, быстро высыхать,

легко применяться и без труда удаляться [38, 147]. В данном случае средства на основе активного йода особенно эффективны [8, 61, 118], так как йод обладает широким спектром действия, к нему не возникает привыкания, отмечаются также его противовоспалительные свойства [147]. При нанесении такого средства на поверхности соска образуется защитная пленка, которая закрывает сосковый канал и предотвращает проникновение микроорганизмов [143, 81, 122]. Активный йод взаимодействует с аминокруппами трансмембранных транспортных белков бактериальной стенки и белков-ферментов, образуя йодамины. Это приводит к потере белком его четвертичной структуры и утрате структурной, транспортной и каталитической функции. Защитная пленка может оставаться на соске до следующего доения [54].

2.5.2 Специфическая профилактика маститов

Одним из способов предотвращения маститов являются применение средств специфической профилактики [7, 24, 53, 62, 78, 114, 142, 174], которые обеспечивают невосприимчивость к определенным возбудителям маститов. Эффективность вакцин зависит от многих факторов, в том числе количества и качества антигена, консервантов, адъюванта, технологии изготовления препарата, схемы его применения, иммунного статуса организма животного [34, 56, 131].

В настоящее время в мире существуют и широко применяются вакцины для профилактики мастита, например:

- «Стартвак» (Испания) – вакцина против мастита крупного рогатого скота, инактивированная, изготовлена из культур *Escherichia coli* (штамм J5) и *Staphylococcus aureus* CP8 (штамм SP140) с добавлением в качестве адъюванта жидкого парафина, консерванта бензилового спирта. Это пока единственный препарат, зарегистрированный и разрешенный для применения в России.

- «Мастивак» (Испания) – инактивированная вакцина для профилактики клинических и субклинических форм мастита коров, изготовленная из культур *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Arcanobacterium pyogenes*,

Escherichia coli (штамм Bov-10), *Escherichia coli* (штамм Bov-14), *Escherichia coli* (штамм Bov-15), *Escherichia coli* (штамм Suis-21), *Escherichia coli* (штамм J5), с добавлением гидроксид алюминия, формальдегида, солевого раствора.

- «Джей-Вак» (Франция) – вакцина против мастита крупного рогатого скота инактивированная, изготовлена из культуры *Escherichia coli* (штамм J5) с добавлением вспомогательных веществ: гентамицина, нистатина, стабилизатора и стерильного фосфатно-буферного раствора.

- «Лактовак» (Украина) – вакцина для профилактики клинических и субклинических маститов, изготовлена из культур *Staphylococcus aureus* «StaS-15» и *S.saprophyticus* «StSS-15» с добавлением глицерина, гидроксид алюминия, фосфатного буфера, формальдегида, тиомерсала, сапонина.

- «Бовимун Аутовак Маст» (Украина) – вакцина, изготовлена из культур *S.aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Trueperella pyogenes*, *Corynebacterium spp.*, выделенных от животных с маститами в конкретном хозяйстве.

- UBAC (Испания) – вакцина субъединичная против мастита крупного рогатого скота, изготовлена из культур *Streptococcus uberis* (штамм 5616) с добавлением адьюванта хипрамуна U.

- J-5 бактерин (США) – вакцина против субклинического и клинического мастита коров, содержит культуры *Escherichia coli* (штамм J5) с добавлением адьюванта Фрейнда.

Таким образом, список препаратов для специфической профилактики маститов у коров достаточно большой, при этом в России зарегистрирована и применяется только одна вакцина. К сожалению, отсутствуют и отечественные разработки, хотя есть упоминания о положительном опыте применения отечественных экспериментальных препаратов «Ваколин» и «Комбовак-Эндомаст» [7]. В состав перечисленных вакцин входят такие компоненты как *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* [2, 20, 70], а также стрептококки различных видов, коринебактерии, трупереллы и другие бактерии [34, 138].

Состав вакцин имеет важнейшее значение [100]. Часто ожидаемой пользы можно не добиться не потому, что вакцина не эффективна, а из-за несовпадения

антигенного состава с этиологической структурой заболевания. Перегруженность препаратов антигенами также может оказать негативное влияние на организм, поскольку вызывает негативные реакции на месте введения, аллергии, перегружает иммунную систему животного.

Отсутствие отечественных препаратов, высокая стоимость зарубежных вакцин и возможные перебои с их поставками, подтверждают перспективность проведения исследований по разработке эффективного препарата с оптимальным составом, обеспечивающими индуцирование активного иммунитета к наиболее клинически значимым возбудителям маститов.

Заключение обзора литературы

Мастит коров является широко распространенным заболеванием маточного поголовья крупного рогатого скота во всех странах мира. В отдельных регионах России он регистрируется от 10,0 до 47,0%.

Причин возникновения мастита множество и поэтому борьба с ним подразумевает комплексный подход. В связи с этим постоянное усовершенствование мероприятий по предотвращению этого заболевания остается актуальной задачей. Использование новых эффективных дезинфицирующих средств для обработки вымени коров, определение чувствительности непосредственно к комплексным препаратам и применение всех усовершенствованных мероприятий в комплексе может способствовать снижению уровня заболеваемости животных этой болезнью. Хороших профилактических результатов при борьбе с заболеваемостью коров инфекционными маститами можно добиться при использовании вакцин, изготавливаемых из бактерий, часто являющихся возбудителями (*S.aureus*, *S. dysgalactiae*, *S. agalactiae*, *E.coli* и некоторые другие).

3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены в период с 2015 по 2022 годы в отделе по изучению болезней животных инфекционной этиологии Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Испытания эффективности дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) и его применение совместно с ассоциированной инактивированной вакциной против маститов коров проведено в СХПК Племзавод «Майский» Вологодской области. Влияние вакцинации ассоциированной инактивированной вакциной против маститов коров проводили на фермах СХПК «Передовой» и ОАО «Заря» Вологодской области.

Изучение основных причин, способствующих возникновению массовых маститов у коров в хозяйствах, осуществляли на основании отчетов Управления ветеринарии Вологодской области и результатов собственных исследований, проведенных в 32-х сельскохозяйственных предприятиях.

3.1 Материалы и методы

3.1.1 Материалы

Научно-исследовательская работа выполнена в соответствии с темами государственных заданий № 0578-2014-0030 «Разработать способы профилактики массовых маститов коров» на 2013 – 2019 гг. и № 0578-2019-0003 «Изучение факторов патогенности кокковой микрофлоры, выделяемой от КРС с клиникой маститов и эндометритов» на 2020 – 2021 гг., и договорами на выполнение научно-исследовательских работ.

Выполнение запланированных задач проводили с помощью лабораторных и экспериментальных исследований согласно схеме (рисунок 1). При проведении исследований использованы клинические, бактериологические, санитарно-зоогигиенические методы в соответствии с «Наставлением по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров» [106], «Методическими указаниями по бактериологическому исследованию молока и секрета вымени коров», «Методическими рекомендациями по микробиологическому исследованию молока и секрета вымени коров для диагностики мастита» [93, 94].

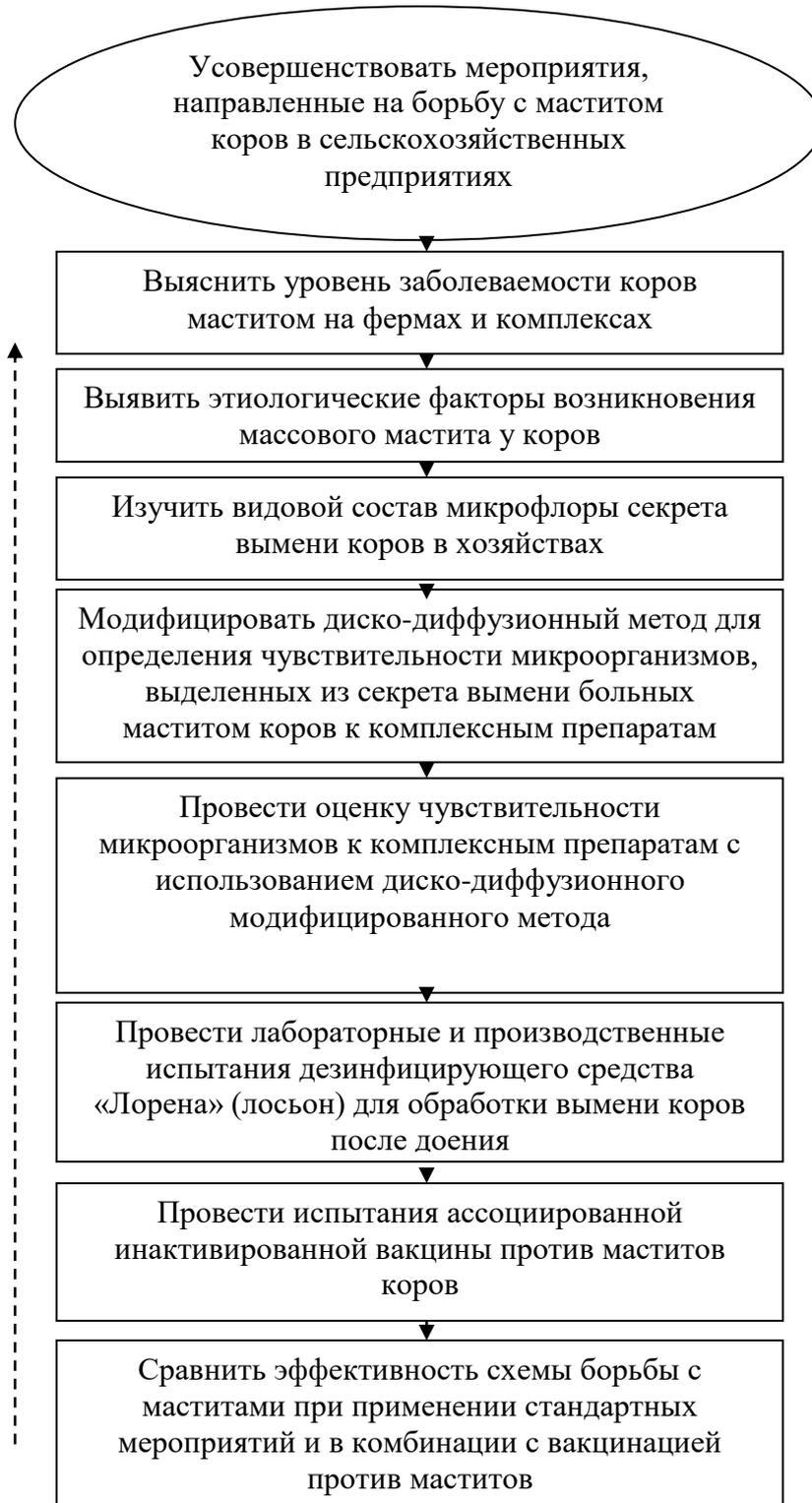


Рисунок 1 – Схема проведения научно-исследовательской работы.

Объектами исследования являлись лактирующие, сухостойные, клинически здоровые и больные различными формами маститов коровы айрширской и черно-

пестрой пород, смывы с сосков вымени коров, молоко, кровь, культуры микроорганизмов, выделенные из секрета вымени больных маститом коров.

Идентификацию микроорганизмов проводили согласно ГОСТ 30347-2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus*» [31] с использованием плазмы кроличьей цитратной сухой (ЗАО «Эколаб») и набора «Мультимикротесты для биохимической идентификации стафилококков» ММТ С (НПО «Иммунотэкс»), а также набора реагентов для выявления стрептококков групп А, В, С, G, D и F (НПО Аквапаст, г. Санкт-Петербург), а также методом Maldi Tof.

Определение чувствительности микроорганизмов к комплексным препаратам осуществляли согласно «Методическим указаниям по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» [95]. В качестве носителя антимикробного средства использовали диски из картона фильтровального технического (ГОСТ 6722-75) [32], пропитанные препаратами комплексного антимикробного действия. Картонные диски (без антимикробных препаратов) приобретали в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Отдел Новых Технологий. Стандартные диски – в ООО «Научно-Исследовательский Центр Фармакотерапии» (НИЦФ).

При сравнительных испытаниях диско-диффузионного метода и метода лунок, картонных дисков и стандартных дисков, использовали тест-культуры грамотрицательных (*E.coli* ATCC 25922) и грамположительных бактерий (*S.aureus* ATCC 29213) из лаборатории микробиологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН.

Оценку антибиотикочувствительности проводили с использованием чистых культур *S.aureus*, *S. dysgalactiae* и *E.coli*, выделенных из секрета вымени коров и комплексных антимикробных препаратов в шприцах для внутривымянного введения, содержащих два и более антибиотиков.

При проведении лабораторных и производственных испытаний дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон, производитель ООО ОТФ «Этрис») руководствовались «Методическими рекомендациями по оценке качества моющих и дезинфицирующих средств, предназначенных для санитарной

обработки молочного оборудования на животноводческих фермах и комплексах» [92] и Методическими рекомендациями «4.2.0220-20. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы санитарно-бактериологического исследования микробной обсемененности объектов внешней среды» [90].

Испытание указанного средства проводили для подтверждения возможности его применения для обработки сосков вымени коров после доения. Средство зарегистрировано, используется для гигиенической обработки рук людей и в соответствии с регистрационными документами фирмы-разработчика обладает антимикробной активностью в отношении *E.coli* № 1257, *S.aureus* № 906 и *C.albicans* № 15. Для использования средства «Лорена» (лосьон) на животных дополнительно изучили его бактерицидные свойства в отношении наиболее часто встречающихся микроорганизмов на поверхностях молочного оборудования ферм: *E. coli* (штамм 675), *S. aureus* (штамм 209P) [135].

Смывы с сосков вымени отбирали в соответствии с «Методическими рекомендациями 4.2.0220-20. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы санитарно-бактериологического исследования микробной обсемененности объектов внешней среды» [90].

Определение общей бактериальной обсемененности (ОМЧ) кожи сосков вымени определяли в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке качества моющих и дезинфицирующих средств, предназначенных для санитарной обработки молочного оборудования на животноводческих фермах и комплексах» [92] чашечным методом путем посева смывной жидкости в мясо-пептонный агар. Подсчет выросших колоний определяли согласно ГОСТ 26670-91 [30].

Помимо смывов с целью возможного выявления попавших с кожи вымени бактерий, в опытной и контрольной группе животных отбирали пробы молока в соответствии с «Методическими указаниями по бактериологическому исследованию молока и секрета вымени коров» [94].

Испытание ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров проводили на целевых животных в сельскохозяйственных предприятиях

Вологодской обл. Эффективность и безвредность вакцины оценивали по результатам клинического осмотра животных, исследования секрета вымени коров опытной и контрольной групп с помощью быстрого маститного теста «Кенотест», бактериологического исследования, серологического исследования (реакция агглютинации) крови животных на наличие специфических антител.

Серологические исследования (РА) и приготовление диагностикума осуществляли в соответствии с Методическими рекомендациями «Диагностика, прогнозирование течения и лечение острых кишечных инфекций условно-патогенной и смешанной этиологии» [91]. Для приготовления диагностикума (антигена) использовали музейные штаммы *S. aureus* (209 P), *S. agalactiae*, *S. disgalactiae* из лаборатории микробиологии с музеем типовых культур ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Антигены представляли собой 1 млрд. взвесь (10 ед. по стандарту мутности) суточных культур в физрастворе, выращенных на скошенном МПА.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью методического руководства «Биометрическая обработка лабораторных, клинических и эпизоотологических данных» [86] с использованием программ MS Excel и Stat Plus.

3.1.2 Методы

Исследования секрета вымени коров осуществляли с помощью клинических методов и реакции с быстрым маститным тестом «Кенотест», микробиологических методов.

Пробы молока отбирали асептически во время доения индивидуально от каждой коровы и доставляли в лабораторию при температуре 2-8°C в течение 2 ч.

Чувствительность культур *S. aureus*, *S. dysgalactiae* и *E. coli* к антибактериальным препаратам определяли диско-диффузионным методом на поверхности агара и методом диффузии антимикробных препаратов в агар с помощью лунок.

Тест-культуры (*E. coli* штамм 675, *S. aureus* штамм 209P) получали в лаборатории микробиологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, выращивая на плотных питательных средах, затем бактериальную массу смывали 0,25%-ным раствором Рингера, устанавливали концентрацию суспензии $2 \cdot 10^9$ /мл млрд. м.к. согласно стандарта мутности. Для контроля микробиологической чистоты суспензии делали мазки, окрашивали по Граму, микроскопировали, дополнительно высевали на МПА, МПБ, МППБ, Сабуро.

Бактерицидные свойства средства «Лорена» (лосьон) исследовали в концентрации 50,0, 75,0 и 100,0%, то есть без разбавления, при температуре растворов 20 °С. Для каждого тест-микроба готовили ряд баночек с 10 мл соответствующих разведений испытуемого средства. В каждую баночку вносили по 0,1 мл 2 млрд. взвеси 18-24-часовой культуры тест-микроба. Экспозиция составила 30 сек., 1, 2, 5, 10 мин. После экспозиции из баночки отбирали 1 мл содержимого, высевали в чашки Петри и заливали питательным агаром, охлажденным до 50°С. Для контроля выживаемости тест-микроба в условиях опыта микробную взвесь в том же объеме вносили в 10 мл стерильной воды, помещали в водяную баню вместе с опытными баночками и по истечении той же экспозиции определяли ОМЧ/мл. Посевы оставляли в термостате на 48 часов при температуре $37 \pm 0,5$ °С. Отсутствие роста микроорганизмов на питательной среде свидетельствовало о бактерицидном действии средства.

При испытании в животноводческом хозяйстве (производственное испытание) эффективность санитарной последоильной обработки вымени осуществляли методом погружения сосков в пластиковый стаканчик с дезинфицирующим средством «Лорена» (лосьон), опуская в него каждый сосок не менее $\frac{2}{3}$ длины на несколько секунд. В опыте использовано десять коров по пять в опытной и контрольной группах, продолжительность испытаний составляла десять дней. Для обработки вымени после доения в контрольной группе животных использовали средство, применяемое в хозяйстве – ProfiClean Iodine после доения.

Смывы у коров опытной и контрольной групп были взяты после доения в первый и десятый день опыта трижды: 1 – сразу после завершения процесса доения и снятия доильных стаканов, 2 – через 10 минут после обработки средством, 3 – через 30 минут после обработки средством. Дни и время взятия смывов выбрано с учетом продолжительности бактерицидного действия средства «Лорена», содержащего в составе активный йод, который способствует образованию защитной пленки, препятствующей проникновению микроорганизмов на сосок. Условия фермы не располагают к полной стерильности (корова может сразу после завершения процесса доения лечь в навоз), поэтому фоновыми значениями служили показатели сразу после завершения процесса доения и снятия доильных стаканов, когда вымя может быть максимально чистым. Время выбрано с учетом проверки продолжительности действия средства «Лорена» (лосьон) – через 10 мин. и через 30 мин. (после предполагаемого закрытия сфинктера соска вымени коровы) для определения увеличения количества бактерий после доения.

Средство, применяемое в контроле, зарегистрировано и используется для обработки сосков вымени после доения, также является галогенсодержащим препаратом и имеет в своем составе в качестве действующего вещества активный йод, поэтому оно служило образцом по санитарным показателям.

Смывы отбирались с помощью стерильных зонд-тампонов промышленного производства. Тампон увлажняли стерильным изотоническим раствором хлорида натрия непосредственно перед взятием смыва. Взятие смыва проводили без учета площади, как мелкого объекта менее 100 см^2 – со всей поверхности переднего правого соска вымени каждой коровы. Смывы доставлялись в лабораторию вертикально в штативах и в специальных контейнерах-переносках со льдом.

С целью получения отдельных колоний микроорганизмов смывную жидкость разбавляли в стерильном физиологическом растворе до следующих разведений: 1:10; 1:100; 1:1000; 1:10000. Три последних разведения использовали для высева по 1 мл в 3 стерильные чашки Петри, которые заливали питательным агаром. После застывания агара чашки помещали в термостат на 48 ч. при

температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Колонии микроорганизмов, выросшие на каждой чашке отдельной пробы смывной жидкости, умножали на соответствующее разведение, конечный результат каждого разведения складывали, делили на количество чашек и получали среднее арифметическое значение по каждой пробе (ОМЧ в 1 мл).

Бактериологическое исследование микробной загрязненности объектов внешней среды, помимо общей бактериальной обсемененности, предусматривает определение бактерий группы кишечных палочек и *S. aureus* [90]. Указанные микроорганизмы наиболее часто встречаются в животноводческих хозяйствах на коже сосков вымени и на молочном оборудовании, в связи с этим провели дополнительные опыты по их выявлению.

Для выявления БГКП проводили посеы смывов на среду Кода [90], при этом в пробирку со средой опускали тампон и переносили $0,2\text{ см}^2$ смывной жидкости. Посевы инкубировали в термостате при температуре $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 18-24 часов. После инкубации изменение цвета среды с зеленого на желтый или ее помутнение свидетельствовало о возможном наличии бактерий группы кишечной палочки, в этом случае высев проводили на среду Эндо при температуре $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 18-24 часов. Из колоний, подозрительных для БГКП, готовили мазки, окрашивали по Граму и микроскопировали.

Для выявления *S. aureus* делали высев $0,2\text{ см}^2$ смывной жидкости в пробирку с $5,0\text{ см}^2$ 6,5% солевого бульона. Засеянные пробирки инкубировали при $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 18-24 часов, после чего высеивали на чашки Петри с желточно-солевым агаром и снова инкубировали при тех же условиях. На следующий день подозрительные к *S. aureus* колонии отсеивали на скошенный питательный агар и инкубировали. После инкубации изолятов проверяли по морфологии, тинкториальным свойствам и плазмокоагулирующей активности.

Реакцию агглютинации ставили в объёме 100 мкл в 10 разведениях от 1:2 до 1:1024. Исследования проводились по следующей схеме: до вакцинации; через один, два, три, четыре, пять и шесть месяцев после вакцинации.

Постановку реакции агглютинации осуществляли микрометодом в планшетах для иммунологических реакций. Предварительный учет реакции

проводили через 2 ч. инкубации при 37°C, окончательный – через 18 ч при сохранении планшетов при комнатной температуре.

Всего за период с 2015 по 2021 г. исследовано 1260 проб молока, проведено 7030 микробиологических и серологических исследований.

4 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1 Мониторинг уровня заболеваемости коров маститом в сельскохозяйственных предприятиях

Уровень заболеваемости коров маститом в хозяйствах Вологодской области оценивали по данным ветеринарной отчетности и результатам собственных исследований.

По данным Управления ветеринарии Вологодской области в 2021 году с клиническими формами мастита в хозяйствах области выявлено 14,1 тыс. гол. или 23,1%, с субклиническими формами – 29,6 тыс. гол. или 48,5% от общего поголовья отелившихся коров (61030 гол.), т.е. в 2,1 раза больше чем с клиническими маститами.

За 2015 – 2021 гг. в области количество исследований коров на мастит с помощью быстрого маститного теста (БМТ) увеличилось на 56126 образцов (с 655515 до 711641) (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты исследования на субклинический мастит в хозяйствах Вологодской обл. с 2015 по 2021 гг.

Показатели	Период, год						
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Исследовано (БМТ)	655515	660860	678906	672021	665136	715223	711641*
Выявлено больных	21160	23360	22987	22177	22993	25810	25115*
%	3,2	3,5	3,4	3,3	3,5	3,6	3,5*

*Количество исследованных животных не соответствует общему поголовью отелившихся коров (61030 голов), так как одни и те же коровы в течение года исследуются многократно и суммируются. Показатели за 2021 г. по субклиническим маститам также различаются, так как в первом случае расчет происходит от общего поголовья, а во втором случае от количества исследованных животных.

Как видно из таблицы 1 и рисунка 2, показатели выявления больных животных колебались по анализируемым годам от 3,2% до 3,6% соответственно. Наименьший процент заболеваемости коров маститом отмечен в 2015 г. – 3,2%, наибольший в 2020 г. – 3,6%.

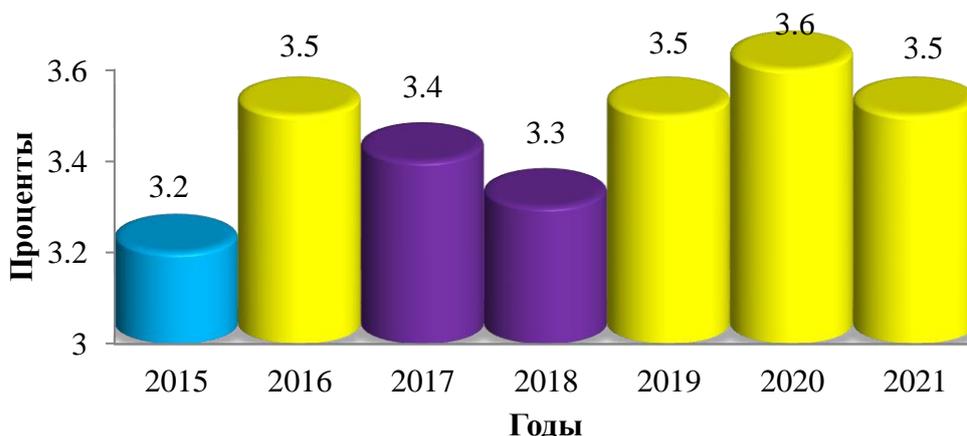


Рисунок 2 – Процент выявления коров с субклиническим маститом от числа исследованных животных по годам.

Указанные данные свидетельствуют, что процент выявления больных за последние 7 лет (с 2015 г. по 2021 г.) колебался незначительно.

Исходя из статистических данных, в среднем по области за 2021 г. выявлено 25115 случаев заболевания коров субклинической формой мастита, что составляет 3,5% от количества исследованных животных (711641) (табл. 2).

Таблица 2 – Сведения о выявлении субклинического мастита по районам Вологодской области за 2021 год

№	Районы	Исследовано (БМТ)	Выявлено больных	%
1	Бабаевский	1411	86	6,1
2	Бабушкинский	627	82	13,0
3	Белозерский	6814	278	4,0
4	Вашкинский	5242	227	4,3
5	Великоустюгский	31744	2526	7,9
6	Верховажский	23161	713	3,1
7	Вожегодский	5930	213	3,6
8	Вологодский	180664	4787	2,6
9	Вытегорский	1596	82	5,1
10	Грязовецкий	118375	6977	5,9
11	Кадуйский	11671	173	1,5
12	Кирилловский	29070	326	1,1
13	Кичменгско- Городецкий	13776	277	2,0
14	Междуреченский	9462	244	2,6
15	Никольский	6186	276	4,5

16	Нюксенский	5382	338	6,2
17	Сокольский	17616	529	3,0
18	Сямженский	0	0	0
19	Тарногский	21155	517	2,4
20	Тотемский	50269	1649	3,3
21	Усть-Кубенский	13696	364	2,6
22	Устюженский	24190	373	1,5
23	Харовский	7153	115	1,6
24	Чагодощенский	19471	220	1,1
25	Череповецкий	53331	2297	4,3
26	Шекснинский	48587	1298	2,7
27	г. Вологда	5062	148	2,9
28	г. Череповец	0	0	0
	По области	711641	25115	3,5

Из таблицы 2 видно, что наибольший процент коров с выявленным субклиническим маститом зарегистрирован в таких районах Вологодской области, как Бабушкинский (13,0%), Великоустюгский (7,9%), Нюксенский (6,2%), Бабаевский (6,1%), Грязовецкий (5,9%), Вытегорский (5,1%). В 15-ти районах при исследовании на субклиническую форму мастита показатель колебался от 4,5 до 2,0%, в пяти районах выявлено менее 2,0% больных коров.

Исследования коров на мастит проводили с помощью быстрого маститного теста (БМТ). Положительной реакцией считали изменение цвета смеси (секрета вымени коровы и реагента «Кенотест»), а также образования геля (рисунок 3).



Рисунок 3 – Исследование на мастит с помощью БМТ.

Как видно на рисунке 3, изменение цвета смеси со светло-оранжевого на оранжево-бордовый и образование не исчезающего прозрачного геля произошло в левой нижней лунке (положительная реакция на мастит). В остальных трех лунках смесь осталась жидкой, цвет светло-оранжевый, что является отрицательной реакцией.

По результатам наших исследований в двух обследованных на протяжении двенадцати месяцев хозяйствах выявлено 68,5% и 68,7% переболевших животных. Причем, из них повторно переболели маститом 56,2% и 58,5% голов, соответственно. Количество переболевших животных подсчитывали в соответствии с записями в «Журнале регистрации больных животных», учет которых ведут ветеринарные специалисты сельскохозяйственных предприятий (таблица 3).

**Таблица 3 – Заболеваемость коров маститами в хозяйствах
Вологодской области**

Кол-во исследованных коров	Переболе ло коров за год (всего), гол./ %	Из них повторно переболе вшие, гол./ %	Количество животных с кратностью переболевания, гол./%						Переболело 1-кратно, гол./ %
			2	3	4	5	6	7 и >	
Хозяйство № 1									
540	370/68,5	208/56,2	85/40,9	48/23,1	34/16,3	21/10, 1	12/5,8	8/3,8	162/43, 8
Хозяйство № 2									
214	147/68,7	86/58,5	40/46,5	27/31,4	11/12,8	4/4,7	2/2,3	2/2,3	61/41,5

Как видно из таблицы 3, некоторые животные перенесли заболевание до семи и более раз в течение указанного периода (3,8% и 2,3%). Коровы чаще переболевали маститом повторно, чем однократно – на 12,4% и 17,0% соответственно.

В ОАО «Заря» при проведении ежемесячных исследований коров на мастит (БМТ) установили, что наибольший процент больных маститом коров приходится на первый месяц после отела – 58,1% от общего числа отелившихся животных, а

во второй и третий месяц – по 7,6% с дальнейшим двойным подъемом и спадом показателя до 1,2% (рисунок 4, таблица 4).

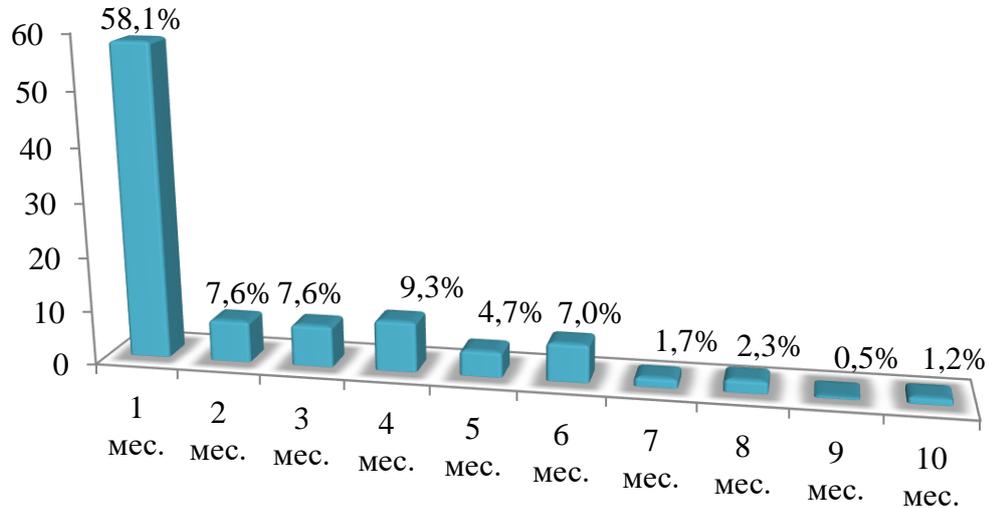


Рисунок 4 – Процент заболеваемости коров маститом по месяцам лактации.

На рисунке 4 заметно, что значительный % больных маститом коров выявляется в 1-ый месяц после отела.

Таблица 4 – Показатели заболеваемости маститом коров и первотелок в ОАО «Заря»

Двор	Кол-во отелившихся коров	Переболело маститом, гол / %	в том числе по месяцам лактации									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	159	88/55,3	52/59,1	9/10,2	4/4,5	8/9,1	4/4,5	8/9,1	1/1,3	0	0	2/2,2
2	154	84/54,5	48/57,1	4/4,8	9/10,7	8/9,5	4/4,8	4/4,8	2/2,3	4/4,8	1/1,2	0
Всего	313	172/55,0	100/58,1	13/7,6	13/7,6	16/9,3	8/4,7	12/7,0	3/1,7	4/2,3	1/0,5	2/1,2

Из таблицы 4 видно, что на первом и втором дворе хозяйства ОАО «Заря» маститом переболело больше половины животных от количества отелившихся коров и первотелок – 55,3 и 54,5% соответственно. Из них максимальный процент больных животных выявлен в первый месяц лактации – 59,1% на первом и 57,1% на втором дворе. Минимальный показатель заболеваемости коров маститом на

первом дворе отмечен на 8-ом и 9-ом месяцах лактации – 0%, на втором дворе на 9-ом и 10-ом месяце – 1,2% и 0%.

В СХПК «Передовой» при обследовании на мастит (БМТ) 297 голов отметили, что наибольшее количество больных коров выявлено в первую стадию лактации (от 1 до 100 дней после отела) – 54,9% от общего количества коров, переболевших маститом в течение лактации. При этом процент выявления больных животных в первый месяц после отела составил 31,4% от числа исследованных, во второй – 14,6%, в третий – 8,8%. В последующем наблюдалось значительное снижение показателя: от 6,3 % – в четвертый до 1,3 % – в девятый месяц лактации.

Анализ результатов исследования на мастит в пяти сельскохозяйственных предприятиях показал, что субклинический мастит встречается гораздо чаще, чем клинически выраженный (таблица 5).

Таблица 5 – Количество животных, заболевших маститом в субклинической и клинической форме, в разных хозяйствах

№№ хозяйств	Всего коров	Заболевших маститом, гол./%			Соотношение субклинических маститов к клиническим
		всего	в субклинической форме	в клинической форме	
1	1232	346/28,1	228/18,5	118/9,6	1,9:1
2	452	134/29,6	75/16,6	59/13,0	1,2:1
3	800	282/35,2	241/30,1	41/5,1	5,9:1
4	1000	319/31,9	205/20,5	114/11,4	1,8:1
5	598	226/37,8	162/27,1	64/10,7	2,5:1

Из таблицы 5 видно, что во всех пяти обследованных нами хозяйствах количество выявленных коров с субклиническим маститом, превышало число животных с клиническими формами болезни. Наиболее высокое превышение отмечено в третьем и пятом хозяйствах – в 5,9 и в 2,5 раз соответственно.

Собственные исследования (БМТ) также проведены на протяжении восьми месяцев в СХПК «Передовой». Коров проверяли на мастит один раз в месяц на

четырёх фермах указанного хозяйства, в трёх фермах исследовали животных пять раз, на одной ферме восемь раз (таблица 6).

Таблица 6 – Выявляемость коров с клинически выраженным и субклиническим маститом в обследованном хозяйстве, %

№	Исследовано коров, гол	Кратность исследования, раз	Форма мастита	Кол-во больных, %, $M \pm m$
СХПК «Передовой», молочный комплекс				
1	532	8	Клинический	24,6±0,24
			Субклинический	44,6±0,32
			Итого:	65,4±0,23
ф. Алешино				
2	127	5	Клинический	0
			Субклинический	16,5±0,25
			Итого:	16,5±0,45
ф. Кубенское				
3	132	5	Клинический	0,7±0,08
			Субклинический	18,1±0,20
			Итого:	18,6±0,14
ф. Бирючево				
4	280	5	Клинический	1,7±0,06
			Субклинический	11,6±0,09
			Итого:	13,3±0,19
Всего по хозяйству:				
1071			Клинический	6,8±0,44
			Субклинический	22,7±0,81
Итого:			29,5±0,92	

Как видно из данных таблицы 6, процент выявления коров с субклинической формой мастита был значительно выше показателя выявления клинического мастита. Процент выявления коров с клиническим маститом в целом по хозяйству составил 6,8±0,44%, что в 3,3 раза ниже процента выявления коров с субклиническим маститом (22,7±0,81 %).

Таким образом, маститы у коров в обследованных нами хозяйствах встречаются часто, в течение календарного года им переболело больше половины животных (68,5% и 68,7%).

Статистика Управления ветеринарии Вологодской области и результаты наших исследований свидетельствуют, что маститы коров в хозяйствах области проявляются как в клинической, так и в субклинической формах с преобладанием последней. При этом максимальное количество заболевших коров выявляется в первую стадию лактации после отела.

Однако, несмотря на незначительные показатели выявления коров с субклиническим маститом в целом по области за последние семь лет (3,2 – 3,6 %) от количества исследованных животных, по результатам наших исследований процент заболевших маститом коров в субклинической форме в сельскохозяйственных предприятиях Вологодской области оказался в 7 раз выше среднестатистических значений (в СХПК «Передовой» за 8 месяцев было выявлено 22,7% ($\pm 0,81$) коров с субклиническим маститом от количества исследованных животных).

4.2 Изучение основных причин, способствующих возникновению массовых маститов у коров в хозяйствах

4.2.1 Технические неполадки в молочном оборудовании и нарушения правил машинного доения

Для выяснения причин возникновения массовых маститов у коров, наблюдение за животными проводили в период доения, обращали внимание на кожу вымени и сосков, на техническое состояние доильного оборудования (визуально и инструментальными методами), на соблюдение правил машинного доения. С помощью БМТ определяли заболеваемость коров субклиническим маститом.

Обследование проводили в семи хозяйствах Вологодской области, результаты приведены в таблице 7.

Таблица 7 – Перечень выявленных нарушений доения и количество больных субклиническим маститом коров в хозяйствах Вологодской области

Выявленные нарушения	Количество исследованных и выявленных с субклиническим маститом коров (гол, %)	Заключение
1. ОАО «Заречье»		
Неполное выдаивание задних долей вымени, пропуск очередного доения	431 / 99 (23,0%)	Мастит вызван нарушениями правил машинного доения
2. ЗАО «Комела»		
Износ сосковой резины, завышение вакуума, приводящее к баротравмам вымени, непригодность к эксплуатации 17% доильных аппаратов	439 / 73 (16,6%). После устранения указанных нарушений показатель снизился до 7,2%	Мастит вызван техническими неполадками молочного оборудования (травмы слизистой сосков вымени)
3. ОАО «Новленское»		
Недостаточный уровень вакуума в доильных аппаратах, износ сосковой резины, после снятия доильных аппаратов у 50,0% животных выявлены механические повреждения сосков различной формы и величины от одного до пяти на каждом. Преобладало поражение задних сосков.	400 / 65 (16,2%)	Мастит вызван техническими неполадками молочного оборудования (травмы слизистой сосков вымени)
4. ОАО «Коминтерн»		
«Холостое» доение, повышенный вакуум внутри молочного стакана (выворачивание сфинктера соска)	286 / 72 (25,2%)	Мастит вызван техническими неполадками молочного оборудования (травмы слизистой сосков вымени)
5. СПК «Куркино»		
Повышенная нагрузка на одну доярку, увеличение продолжительности доения до 5 ч, отсутствие средств для обработки вымени до и после доения	300 / 153 (51,0%)	Мастит вызван нарушениями правил машинного доения
6. СПК «Красная Звезда»		
Износ сосковой резины (болевые ощущения и беспокойство животных), повышение уровня вакуума (выворачивание сфинктера сосков)	600 / 169 (28,1%)	Мастит вызван техническими неполадками молочного оборудования (травмы слизистой сосков вымени)
7. СПК Им. 50-летия СССР		
Нестабильная регуляция уровня вакуума на всех доильных аппаратах	452 / 134 (29,6%)	Мастит вызван техническими неполадками молочного оборудования (травмы слизистой сосков вымени)

Из данных таблицы 7 видно, что во всех семи обследованных хозяйствах выявлены нарушения процесса доения, которые повлекли возникновение воспаления молочной железы у коров. В пяти хозяйствах причиной мастита оказались технические неполадки молочного оборудования (изношенная сосковая резина, нестабильный уровень вакуума), а в двух – нарушения правил машинного доения (неподавание, холостое доение, нарушение режима доения, отсутствие средств для обработки вымени до и после доения и др.). Кроме того, в СПК «Куркино» значительно нарушались правила машинного доения, выраженные в отсутствии применения подготовительных и заключительных операций (обмывания вымени до и после доения, дезинфекция сосков), что влекло увеличение заболеваемости маститами коров в хозяйстве, данный показатель составил 51,0%.

Выявленные нарушения способствуют возникновению мастита и являются одними из наиболее значимых причин в хозяйствах Вологодской области.

4.2.2 Микробный фактор

Этиологию массовых маститов коров определяли также с помощью микробиологических исследований секрета вымени молочной железы от животных с клинически выраженными и субклиническими маститами. За период 2015 – 2021 г. нами исследовано 1260 проб молока из 32-х сельскохозяйственных предприятий, при этом выделена 721 культура микроорганизмов. Наибольший удельный вес в спектре выделенной микрофлоры занимает кокковая – 87,2% (629 культур) от общего количества изолятов. В том числе патогенные стафилококки составили 33,4%, условно-патогенные стафилококки – 21,5%, стрептококки – 33,1%. Количество изолированных энтеробактерий оказалось значительно ниже указанных значений – 11,9% (таблица 8).

Патогенность стафилококков определяли по способности продуцировать плазмокоагулазу: изоляты, обладающие плазмокоагулирующими свойствами, относили к патогенным, а коагулазоотрицательные стафилококки – к условно-патогенным.

Видовую принадлежность стафилококков дополнительно изучали с помощью диагностического набора «Мультимикротесты для биохимической идентификации стафилококков» ММТ С (ООО НПО «Иммунотэкс»).

Патогенность стрептококков определяли по их гемолитическим (реакция КАМП-тест) и ферментативным свойствам.

Видовую принадлежность стрептококков дополнительно изучали с помощью диагностического набора реагентов для выявления стрептококков групп А, В, С, G, D и F (ООО НПО «Аквапаст», г. Санкт-Петербург), агара М 17 и Maldi ToF.

Энтеробактерии определяли по их морфологическим и тинкториальным признакам, а также ферментативным свойствам на средах Кода, Клиглера, Эндо, цветном ряде Гисса.

Таблица 8 – Состав микрофлоры молока больных маститом коров за 2015 – 2021 гг.

Год	Кол-во хоз-в за год/из них обслед. впервые	Кол-во исследованных проб	Выделенная микрофлора(культуры/процент)					
			Всего проб, в которых обнаружен рост	кокковая микрофлора				гр (-) палочки
				всего	патог. стаф.**	усл.- патог. стаф.***	стрептококки****	энтеробактерии*****
2015	10	114	107/93,8	99/92,5	41/38,3	25/23,4	33/30,8	8/7,5
Вариабельность по фермам					0-100,0	0-41,2	0-66,7	0-16,7
2016	12/6*	130	96/73,8	92/95,8	24/25,0	30/31,2	38/39,6	4/4,2
Вариабельность по фермам					0-57,1	0-66,6	0-66,7	0-100,0
2017	9/4*	171	124/72,5	118/95,1	26/21,0	42/33,9	50/40,3	6/4,8
Вариабельность по фермам					0-62,5	0-50,0	0-66,7	0-20,0
2018	11/3*	147	90/61,2	64/71,1	21/23,3	14/15,5	29/32,2	26/28,9
Вариабельность по фермам					0-70,0	0-40,0	0-55,6	0-100,0
2019	8/1*	209	141/67,5	126/89,4	55/39,0	12/8,5	59/41,8	15/10,6
Вариабельность по фермам					0-80,0	0-22,2	0-90,0	0-57,1
2020	13/6*	274	95/34,7	80/84,2	45/47,3	18/18,9	17/17,9	15/15,7

Вариабельность по фермам					0-80,0	0-16,7	0-40,0	0-28,0
2021	10/2*	215	68/31,6	50/73,5	29/42,6	14/20,5	13/19,1	12/17,6
Вариабельность по фермам					0-37,5	0-37,5	0-33,3	0-33,3
Итого за 7 лет	73/32*	1260	721/57,2	629/87,2	241/33,4	155/21,5	239/33,1	86/11,9

*всего 32 хозяйства, в них исследования были проведены первично, остальные хозяйства из этих 32-х повторно исследовались в разные годы на протяжении семи лет.

** *S.aureus*, *S. intermedius*

*** коагулазоотрицательные стафилококки

**** патогенные (*S. agalactiae*, *S.dysgalactiae*, *S. pyogenes*) и молочнокислые стрептококки

***** *E.coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Citrobacter freundii*

Динамика роста и спада показателей по годам отражена на рисунке 5.

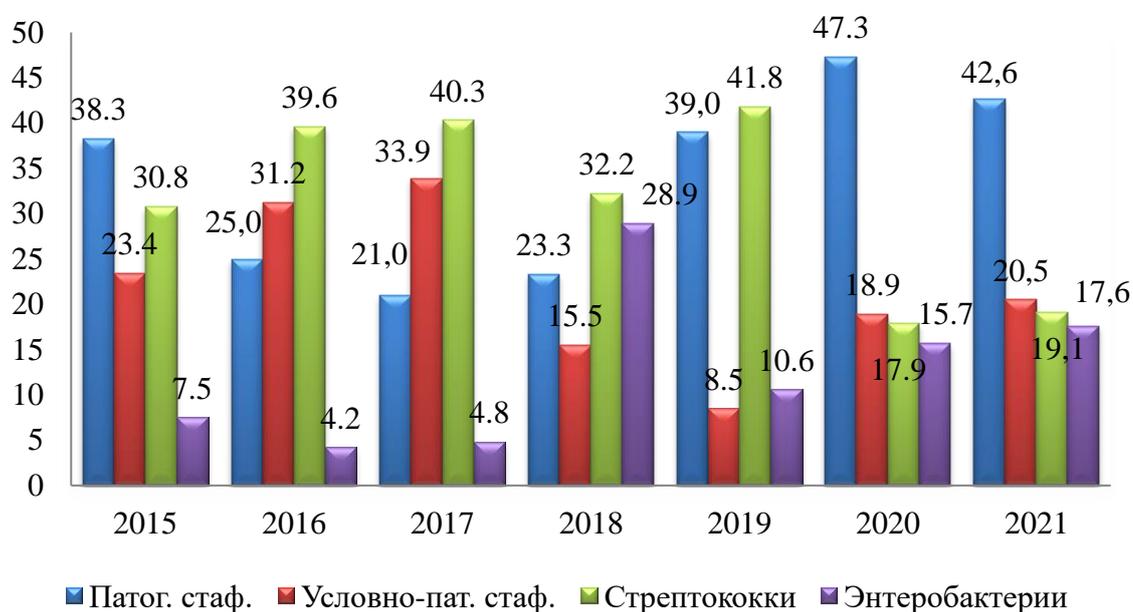


Рисунок 5 –Динамика индикации микроорганизмов по годам.

Из представленных в таблице 8 и на рисунке 5 данных видно, что пик выделения патогенных стафилококков пришелся на 2020 – 2021 гг. с минимальным показателем в 2017 году. Пик индикации условно-патогенных стафилококков пришелся на 2017 год. Затем наблюдалось значительное снижение показателя с 2018 по 2019 гг. с незначительным повышением в 2020 и 2021 году. Пик индикации из проб молока стрептококков отмечался в 2017 и 2019 гг. с последующим значительным снижением показателя в 2020 и 2021 году. Динамика показателей индикации энтеробактерий по годам представляет собой ломаную линию значений с пиком показателя в 2018 г. и минимальным значением в 2016 г.

Из представленных данных видно, что возбудителями мастита у коров часто являются представители семейства *Staphylococcaceae*, что подтверждается результатами проведенного нами анализа данных микробиологических исследований секрета вымени за 2021 г. в 10-ти хозяйствах Вологодской обл. (таблица 9).

Таблица 9 – Разнообразие микроорганизмов, выделенных из молока больных маститом коров в обследованных хозяйствах за 2021 г.

Наименование хозяйства, фермы	Кол-во исследованных проб	Выделенная патогенная и условно-патогенная микрофлора (в пробах, культуры / %)					Молочнокислая микрофлора (культуры / %)		Нет роста (кол-во проб)
		патог. стафилококки ¹	у/п стафилококки ²	патог. стрептококки ³	энтеробактерии ⁴	всего	всего	в т.ч. стрептококки м/к	
1. ПЗК «Аврора»	9	0	0	0	3/33,3	3/33,3	6/66,7	1/16,7	0
2. СПК «Коминтерн-2»	16	6/37,5	2/12,5	0	1/6,25	9/56,3	7/43,7	5/31,2	1/6,25
	10	1/10,0	2/20,0	0	1/10,0	4/40,0	6/50,0	5/50,0	0
	10	1/10,0	0	0	1/10,0	2/20,0	7/70,0	7/70,0	1/10,0
	8	0	1/12,5	1**/12,5	0	2/25,0	6/75,0	2/25,0	0
Всего:	44	8/18,2	5/11,4	1/2,3	3/6,8	17/38,6	26/59,1	19/73,0	2/4,5
3. СХПК ПЗ «Майский»	11	2/18,2	0	0	0	2/18,2	7/63,6	3/43,2	3/27,3
4. ООО «ПЗ Покровское»	8	1/12,5	0	1**/12,5	0	2/25,0	6/75,0	3/37,5	0
	9	0	1/11,1	,5	0	1/11,1	8/88,9	5/55,6	0
	17	0	0	0	1/5,9	7/41,1	9/52,9	1/5,9	1/5,9
	6	0	1/16,7	6*/35,2	0	3/50,0	3/50,0	2/33,3	0
Всего:	40	1/3,5	2/5,0	9/22,5	1/3,5	13/32,5	26/65,0	11/27,5	1/3,5
5. СПК «Русь»	25	10/40,0	0	0	0	10/40,0	13/52,0	9/36,0	2/8,0
	16	1/6,2	2/12,5	1*/6,2	0	4/25,0	12/75,0	7/43,8	0
Всего:	41	11/26,6	2/4,9	1/2,4	0	14/34,1	25/61,0	16/39,0	2/4,9

		8				1			
6. СПК Тотемский	10	1/10,0	0	0	0	1/10	9/90,0	3/30,0	0
7. К-з им. Калинина	8	0	0	0	2/25,0	2/25,0	6/75,0	2/25,0	0
	13	0	0	0	0	0	13/100	4/30,8	0
	7	0	0	0	1/14,3	1/14,3	5/71,4	1/14,3	0
Всего:	28	0	0	0	3/10,7	3/10,7	24/85,7	7/25,0	0
8. ООО «Минское»	9	2/22,2	2/22,2	1 ^{**} /11, 1	0	5/55,6	4/44,4	2/44,4	0
9. ПЗК им. 50- лет СССР	3	1/33,3	0	0	0	1/33,3	1/33,3	0	1/33,3
10. ОАО «Заря»	8	2/25,0	3/37,5	1 ^{**} /12, 5	0	6/75,0	2/25,0	2/25,0	0
	12	1/8,3	0	0	2/16,7	3/25,0	8/66,7	0	1/8,3
Всего:	20	3/15,0	3/15,0	1/5,0	2/10,0	9/45,0	10/50,0	2/10,0	1/5,0
Вариабельност ь по фермам, %		0-40,0	0-37,5	0-33,3	0-33,3		25,0- 90,5	0-73,0	0-33,3
Итого за 2021 г.:	215	29/13, 5	14/6,5	13/6,0	12/5,6	68/31, 6	138/64, 2	64/29,8	10/4,6

Примечание: * - *S. agalactiae*, ** - *S. dysgalactiae*

¹ *S. aureus*, *S. intermedius*

² коагулазоотрицательные стафилококки

³ *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*

⁴ *E. coli*, *Citrobacter freundii*

Исходя из данных таблицы 9, в 50,0% обследованных хозяйств из секрета молочной железы изолированы преимущественно патогенные стафилококки, в одном (10,0%) – условно-патогенные стафилококки, в одном (10,0%) – патогенные стрептококки и на двух фермах (20,0%) – энтеробактерии. При этом видна значительная вариабельность (от 0 до 90,5%) показателей индикации той или иной микрофлоры из секрета вымени больных маститом коров, что говорит о существенных различиях в этиологии заболевания по хозяйствам области.

Так, в 5-ти хозяйствах отмечено преобладание патогенных стафилококков, в 1 – условно-патогенных стафилококков, в 1 – патогенных стрептококков, в 2 – энтеробактерий, в 1 – равные показатели по патогенным и условно-патогенным стафилококкам. В целом по хозяйствам наиболее высокий процент выделения микрофлоры приходится на патогенные стафилококки, составившие 13,5% от

числа исследованных проб, что в 2,1, 4,2 и 2,4 раза больше по сравнению с условно-патогенными стафилококками, патогенными стрептококками и энтеробактериями.

Учитывая преобладание кокковой микрофлоры в спектре выделяемых бактерий (87,2%), провели идентификацию до вида 106 стафилококковых и 30 стрептококковых культур, выделенных в 2020 и 2021 годах. В результате идентифицировано до вида 91,5% стафилококков, которые отнесены к *S.aureus* (54,7%), *S.intermedius* (15,1%), *S.xylosus* (10,4%), *S.hyicus chromogenicus* (5,7%), *S.simulans* (2,8%), *S.saprophyticus* (1,9%), *S.epidermidis* (0,9%). Девять условно-патогенных культур стафилококков (8,5%) определить до вида не удалось (рисунок 6).

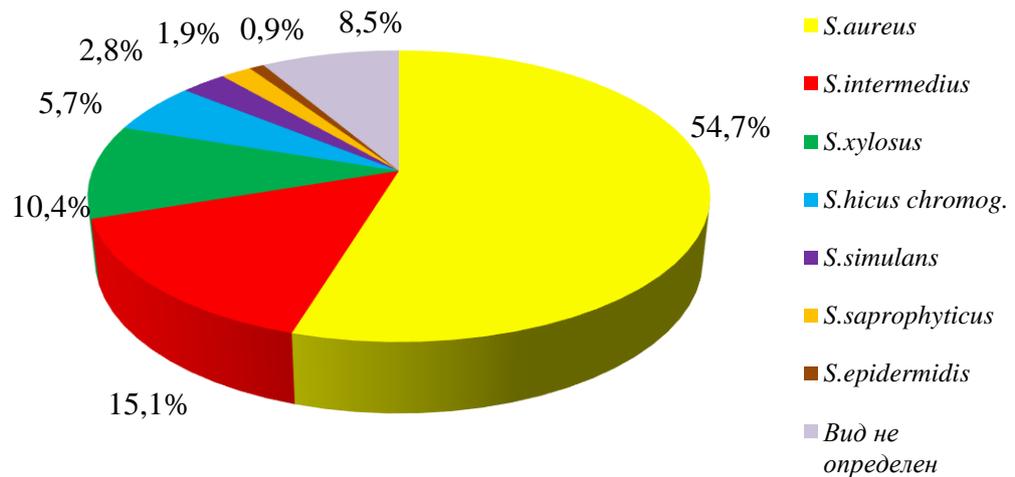


Рисунок 6 – Видовая принадлежность стафилококковых культур.

Из представленных на рис. 6 данных видно, что в видовом спектре выделенных и идентифицированных стафилококков преобладали *S.aureus*.

До вида идентифицировано 66,7% изолятов стрептококков, из них *S.agalactiae* – 36,7%, *S.dysgalactiae* – 26,7%, *S.pyogenes* – 3,3%. Десять культур стрептококков (33,3%) являлись молочнокислыми (рисунок 7).

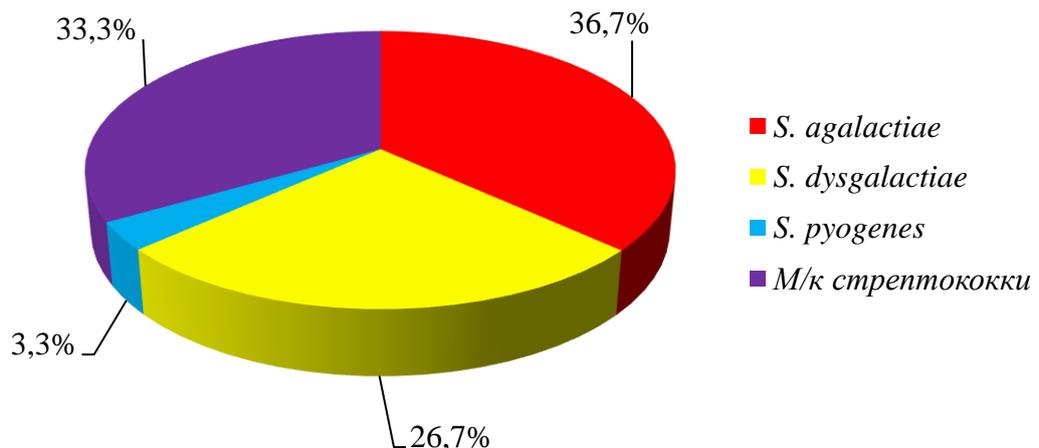


Рисунок 7 – Видовая принадлежность культур стрептококков.

Из представленных на рисунке 7 данных видно, что в видовом спектре выделенных и идентифицированных стрептококков преобладали *S. agalactiae*.

Анализ полученных нами результатов исследований показал, что этиологическая структура массовых маститов у коров в хозяйствах области остается практически неизменной из года в год и представлена, в основном, кокковой микрофлорой.

4.3 Определение чувствительности микроорганизмов к комплексным антибактериальным препаратам при использовании модифицированного диско-диффузионного метода

4.3.1 Модифицированный диско-диффузионный метод

С целью определения чувствительности микроорганизмов и назначения эффективных комплексных антибактериальных препаратов для лечения маститов, нами был модифицирован диско-диффузионный метод. Изменения внесены, так как определение чувствительности изолятов бактерий к коммерческим наборам дисков с антибиотиками является не всегда точным.

Модифицированный диско-диффузионный метод определения антибиотикочувствительности испытывали с использованием тест-культур: грамотрицательных (*E.coli* ATCC 25922) и грамположительных (*S.aureus* ATCC

29213). В качестве носителя комплексных антимикробных препаратов, содержащих два и более антибиотиков, использовали картонные диски. Данный метод основан на способности комплексных антимикробных препаратов диффундировать из пропитанных ими картонных дисков в питательную среду, угнетая рост микроорганизмов на поверхности агара.

Модифицированный диско-диффузионный метод включал в себя последовательное выполнение нескольких этапов:

- подготовка картонных дисков;
- приготовление специальных питательных сред;
- приготовление суспензии исследуемых микроорганизмов (инокулюма);
- инокуляция в питательные среды;
- нанесение картонных дисков, содержащих комплексные антибактериальные препараты, на плотную питательную среду;
- инкубация;
- учёт и интерпретация результатов.

Для оценки чувствительности микроорганизмов использовали специально предназначенные для этой цели среды – АГВ для культур патогенных и условно-патогенных стафилококков и энтеробактерий, агар Мюллера-Хинтона с добавлением 5% дефибринированной бараньей крови для культивирования стрептококков.

АГВ и агар Мюллера-Хинтон готовили из сухой среды промышленного производства по инструкции производителя. После автоклавирования среду охлаждали до температуры 50°C, в агар Мюллера-Хинтон добавляли 5% дефибринированной стерильной бараньей крови, затем разливали в чашки Петри диаметром 100 мм по 25±1 мл, чтобы толщина слоя среды составляла 4 мм. Чашки оставляли при комнатной температуре для застывания. Перед использованием среду подсушивали при 20-25 °С в течение 16-20 часов для устранения видимых капель влаги.

Изготовление картонных дисков проводили следующим образом: стерильные картонные диски диаметром 6,0±0,2 мм пропитывали в капле

комплексного антимикробного препарата (10 мкл) в течение 1 часа. После пропитывания диски подсушивали с помощью фильтровальной бумаги с целью удаления излишнего количества суспензии препарата. Для каждого препарата использовали отдельный диск.

Для приготовления суспензии исследуемых микроорганизмов (инокулюм) использовали отдельные колонии чистой суточной культуры, выросшие на плотных питательных средах (СПА), которые отбирали петлей и переносили в пробирку со стерильным физиологическим раствором, доводя плотность микробной взвеси до 0,5 по стандарту МакФарланда.

Инокулюм в количестве 1 мл наносили дозатором на поверхность плотной питательной среды в чашках Петри и равномерно распределяли по поверхности. Избыток жидкости удаляли пастеровской пипеткой и оставляли чашки при комнатной температуре на 10-15 мин.

Далее пропитанные и подсушенные картонные диски выкладывали на чашку Петри с агаром с предварительно подготовленной и нанесенной на них суспензией исследуемых микроорганизмов. Аппликацию дисков проводили с помощью стерильного пинцета, соблюдая расстояние 15-20 мм от диска до края чашки и между дисками. На одну чашку помещали не более пяти дисков. Диски аккуратно прижимали пинцетом с целью их равномерного контактирования с поверхностью агара. После нанесения на агар диски нельзя передвигать, так как диффузия антибиотика в среду начинается практически сразу.

С наружной стороны дна чашки проставляли номер комплексного препарата, которым был пропитан диск. Номера и названия используемых комплексных препаратов отображались нами также на бумажном носителе.

Непосредственно после аппликации картонных дисков, чашки Петри помещали в термостат и инкубировали при температуре 35°C в течение 18-24 часов.

После окончания инкубации учитывали результаты, помещая чашку кверху дном на темную матовую поверхность и, измеряя диаметр зон задержки роста, ориентируясь на зону полного подавления видимого роста. На всей поверхности

чашки с агаром должен сформироваться равномерный сплошной слой бактериального роста. Края зоны подавления роста вокруг дисков с комплексными препаратами должны иметь форму окружности (рисунок 8 и 8.1).



Рисунок 8 – Зоны задержки роста *E.coli* на АГВ при использовании модифицированного диско-диффузионного метода.

На рисунке 8 видно, что на всей поверхности чашки с АГВ сформировался равномерный сплошной слой бактериального роста, края зоны подавления роста вокруг дисков имеют форму окружности.



Рисунок 8.1 – Зоны задержки роста *S.dysgalactiae* на агаре Мюллера-Хинтона с добавлением 5% дефибринированной стерильной крови при использовании модифицированного диско-диффузионного метода.

На рисунке 8.1 видно, что на всей поверхности чашки на агаре Мюллера-Хинтон с добавлением 5% дефибринированной стерильной бараньей крови сформировался равномерный сплошной слой бактериального роста, края зоны подавления роста вокруг дисков имеют форму окружности.

Диаметр зон задержки роста определяли невооруженным глазом с помощью линейки с точностью до 1 мм.

При формировании изолированных колоний внутри зоны подавления роста, двойной зоны задержки роста, убеждались в чистоте культуры и, при необходимости, повторяли исследование.

При определении чувствительности гемолитических стрептококков на агаре Мюллера-Хинтон с добавлением 5% дефибринированной бараньей крови зону гемолиза не учитывали. Для дифференциации зоны задержки роста и зоны гемолиза чашку просматривали под разными углами.

Полученные результаты анализировали и выбирали комплексное антимикробное средство с наибольшей ЗЗР роста изолированных бактерий.

Модифицированный диско-диффузионный метод прост и удобен в исполнении и позволяет определять чувствительность микроорганизмов к нескольким комплексным антимикробным препаратам одновременно, применяемым непосредственно в хозяйстве.

4.3.2 Влияние времени пропитывания картонных дисков на диаметр зон задержки роста микроорганизмов

С целью стандартизации процедуры изготовления, а именно оценки влияния времени пропитывания картонных дисков на диаметр зон задержки роста микроорганизмов, проведена серия опытов для определения временных интервалов. Картонные диски пропитывали комплексными препаратами в течение 1, 3, 6, 12 и 24 часов. В опыте использовали пять комплексных препаратов и тест-культуру *S.aureus* (АТСС 29213) и *E.coli* (АТСС 25922). Результаты представлены в таблицах 10 и 11.

Таблица 10 – Влияние времени пропитывания картонных дисков на ЗЗР *S.aureus*

№№ препарат	Диаметр зон задержки роста к <i>S.aureus</i> , мм				
	1 ч	3 ч	6 ч	12 ч	24 ч
1	27	27	27	28	28
2	27	28	28	29	29
3	32	32	32	34	34
4	20	20	20	21	21
5	25	25	25	26	26
M±m	26,2±2,7	26,4±2,7	26,4±2,7	27,6±2,9	27,6±2,9

Из таблицы 10 видно, что увеличение времени обработки картонных дисков приводит к незначительному увеличению диаметра зоны задержки роста *S.aureus* к комплексным препаратам. Так, через один час после пропитывания диска средняя зона задержки роста была 26,2±2,7 мм, а через 12 и 24 часа она увеличилась на 1,4 мм и составила 27,6±2,9 мм. К первому, третьему, четвертому и пятому препарату увеличение ЗЗР произошло только через 12 часов (28, 34, 21 и 26 мм), ко второму препарату – через три часа (28 мм). Однако на выбор комплексных препаратов увеличение продолжительности времени пропитки дисков (с 1 ч до 24 ч) не повлияло. Если через один час после пропитывания картонных дисков были выбраны первые три препарата с наибольшей ЗЗР *S.aureus* к ним, то и через 24-е часа также выбраны эти препараты.

Таблица 11 – Влияние времени пропитывания картонных дисков на ЗЗР *E.coli*

№№ препарат	Диаметр зон задержки роста к <i>E.coli</i> , мм				
	1 ч	3 ч	6 ч	12 ч	24 ч
1	25	25	26	26	26
2	24	25	25	25	26
3	25	26	26	28	28
4	14	14	14	14	14
5	16	16	16	19	19
M±m	20,8±2,5	21,2±2,7	21,4±2,7	22,4±3,2	22,6±3,2

Из данных таблицы 11 видно, что увеличение времени пропитывания картонных дисков приводило к увеличению диаметров зон задержки роста *E.coli* к

комплексным препаратам – в среднем показатель ЗЗР возрос на 1,8 мм (с $20,8 \pm 2,5$ до $22,6 \pm 3,2$ мм). К первому препарату увеличение ЗЗР произошло через 6 часов после пропитывания диска, ко второму и третьему – через три часа, к пятому – через 12 часов. К четвертому препарату увеличения зоны задержки роста отмечено не было. Выбор комплексного препарата по диаметру зоны задержки роста *E.coli* через один час и 24 часа после пропитывания картонных дисков совпал у первого, второго и третьего.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что время пропитывания картонных дисков незначительно влияет на увеличение зон задержки роста микроорганизмов. Поскольку ЗЗР микроорганизмов к комплексным препаратам практически не изменяется, а также в целях ускорения получения результатов по определению чувствительности бактерий к антибиотикам, было принято решение ограничить время пропитывания картонных дисков до одного часа.

4.3.3 Сравнение модифицированного диско-диффузионного метода и метода лунок

Для обоснования целесообразности использования при определении чувствительности микроорганизмов к комплексным антибактериальным препаратам модифицированного нами метода исследований, проведено сравнительное испытание двух методов: модифицированного нами и метода лунок. Методы отличаются тем, что при первом используют заранее изготовленные или стандартизированные диски с антибактериальным средством, а при втором формируются лунки для внесения в них антимикробного препарата.

Лунки формировали при помощи прокаленного сверла для пробок в агаре с нанесенной испытуемой взвесью. Затем в получившиеся углубления вносили по 10 мкл комплексного антибактериального препарата.

В опыте использовали культуры *S.aureus* ATCC 29213, *E.coli* ATCC 25922 и 15 комплексных антибактериальных препаратов. Результаты указаны в таблице 12.

Таблица 12 – Зоны задержки роста в дисках и лунках к комплексным антимикробным препаратам

Наименование препарата	ЗЗР <i>S.aureus</i> при использовании комплексных препаратов		ЗЗР <i>E.coli</i> при использовании комплексных препаратов	
	диски, мм	лунки, мм	диски, мм	лунки, мм
1.Маститет форте	35	33	22	20
2. Амоксибаг LC	35	33	26	25
3.Анкопен П	30	30	21	19
4. Прималакт	30	29	27	27
5. МАС Дз	34	33	21	20
6. Гамарет	28	30	20	18
7. Тетрамаст	30	28	21	22
8. Мастилекс	30	32	20	23
9. Амокслав	28	28	21	18
10. Синулокс	35	35	26	25
11.Орбенин EDC	28	28	13	10
12. Цеправин EDC	24	21	20	15
13. Мастенит	30	31	13	13
14.Цефалон EDC	19	20	21	22
15. Нафпензал DC	35	35	18	18
M±m	30,0±1,05	29,7±0,98	20,6±0,92	19,6±1,11
d	0,3		1	
md	1,43		1,44	
td	0,20		0,69	
P	< 0,95		< 0,95	

Как видно из таблицы 12, размеры зон задержки роста *S.aureus* в дисках и лунках к идентичным препаратам различаются незначительно. Аналогичные результаты получены и по сравнению ЗЗР разных методов в отношении *E.coli*. Разность средних величин в обоих случаях является недостоверной, т.е. случайной, так как критерий достоверности разности (td) при сравнении зон задержки роста *S.aureus* в дисках и лунках составил 0,20, *E.coli* – 0,69.

Рекомендации по выбору препаратов ветеринарными специалистами для лечения больных маститом коров при проведении оценки чувствительности разными методами совпадают. Например, наибольшим антибактериальным эффектом в отношении *S.aureus* в дисках обладают Маститет форте, Амоксибаг LC, МАС Дз, Синулокс, Нафпензал. Аналогичный результат получен и при проведении оценки чувствительности методом лунок.

Также совпали по диаметрам ЗЗР исследуемых нами препаратов Амоксибаг LC, Прималакт, Синулокс в отношении *E.coli*, при проведении исследований методами дисков и лунок (рисунок 9).



Рисунок 9 – Сравнение размеров ЗЗР *E.coli* методом лунок и дисков.

На рисунке 9 видно, что ЗЗР в лунках слева и дисках справа в отношении *E.coli* к комплексным препаратам совпадают.

Полученные результаты свидетельствуют о незначительном различии диаметра зон задержки роста микроорганизмов, полученных при сравнении двумя разными методами, на рекомендации выбора препаратов к применению это не влияло. Стоит отметить, что модифицированный диско-диффузионный метод в сравнении с методом лунок более практичен в применении, так как при нанесении дисков не происходит случайного попадания комплексного препарата на поверхность агара, что возможно при заполнении лунок.

4.3.4 Сравнение зон задержки роста микроорганизмов при применении стандартных и картонных дисков

С целью дальнейшего применения модифицированного диско-диффузионного метода для определения чувствительности микроорганизмов к комплексным антимикробным препаратам провели сравнительные испытания со стандартными коммерческими дисками. Для этого применяли пять картонных дисков, пропитанных в препаратах, содержащих в своем составе одно действующее вещество, и пять стандартных дисков с аналогичным действующим

веществом для каждой испытуемой культуры. В качестве тест-культур также использовали штаммы *S.aureus* ATCC 29213 и *E.coli* ATCC 25922. Учет и интерпретацию результатов в отношении указанных бактерий с помощью стандартных дисков проводили согласно инструкции производителя, а в отношении комплексных препаратов – выбирали комплексное антимикробное средство с наиболее высокой чувствительностью к микроорганизмам (таблица 13 и 14, рисунок 10).

Таблица 13 – Зоны задержки роста *S.aureus* в стандартных и картонных дисках

№	Стандартные диски с противомикробным препаратом, диск	ЗЗР <i>S.aureus</i> , мм	Интерпретация значений диаметров ЗЗР	Диски с комплексным препаратом, диск	ЗЗР <i>S.aureus</i> , мм
1	Амоксициллин, 20 мкг	13	Устойчивые (≤ 20)	Амокслав (амоксициллин, 200 мг)	22
2	Энрофлоксацин, 5 мкг	24	Чувствительные (≥ 22)	Энроутеромаст ВБФ (энрофлоксацин, 0,2 гр)	27
3	Норфлоксацин, 10 мкг	22	Чувствительные (≥ 17)	Норфлоксамаст (норфлоксацин, 1,0 гр)	30
4	Неомицин, 30 мкг	20	Чувствительные (≥ 17)	Колимаст (неомицин, 350 мг)	25
5	Цефазолин, 30 мкг	25	Чувствительные (≥ 18)	Ц-маст (цефазолин, 0,2 гр)	27
	$M \pm m$		20,8 \pm 2,72		26,2 \pm 1,81

Из таблицы 13 видно, что *S.aureus* чувствителен к четырем из пяти антибиотикам в стандартных дисках, к одному антибиотику он был устойчив. Аналогичные значения по чувствительности *S.aureus* получили к комплексным препаратам. ЗЗР *S.aureus* к картонным дискам незначительно превышали зоны к стандартным дискам, но на рекомендации по выбору антибактериальных средств это не повлияло. Для рекомендации были выбраны следующие препараты: Энроутеромаст ВБФ (энрофлоксацин), Норфлоксамаст (норфлоксацин), Ц-маст (цефазолин). Колимаст (неомицин) оказался чуть ниже по диаметру ЗЗР *S.aureus* к нему, поэтому рекомендуется к применению в последнюю очередь.

К амоксициллину *S.aureus* оказался устойчив (ЗЗР 13 мм), но к препарату Амокслав ЗЗР *S.aureus* была выше на 9 мм (22 мм), что возможно за счет содержания в препарате клавулановой кислоты, усиливающей его действие.

Таблица 14 – Зоны задержки роста *E.coli* в стандартных и картонных дисках

№	Стандартные диски с противомикробным препаратом, диск	ЗЗР <i>E.coli</i> , мм	Интерпретация значений диаметров ЗЗР	Диски с комплексным препаратом, диск	ЗЗР <i>E.coli</i> , мм
1	Амоксициллин, 20 мкг	19	Чувствительные (≥ 17)	Амокслав (амоксициллин, 200 мг)	26
2	Энрофлоксацин, 5 мкг	22	Чувствительные (≥ 22)	Энроутеромаст ВБФ (энрофлоксацин, 0,2 гр)	25
3	Норфлоксацин, 10 мкг	20	Чувствительные (≥ 17)	Норфлоксамаст (норфлоксацин, 1,0 гр)	27
4	Неомицин, 30 мкг	14	Промежуточные (13-16)	Колимаст (неомицин, 350 мг)	17
5	Цефазолин, 30 мкг	12	Устойчивые (≤ 14)	Ц-маст (цефазолин, 0,2 гр)	17
	$M \pm m$		17,4 \pm 2,27		22,4 \pm 2,27

Из таблицы 14 видно, что *E.coli* оказалась чувствительна к трем из пяти антибиотикам в стандартных дисках, к одному культура была устойчива и к одному показала промежуточные результаты. Аналогичные значения по чувствительности *E.coli* получили к комплексным препаратам. ЗЗР *E.coli* между сравниваемыми дисками также как и в случае с *S.aureus* оказались незначительно выше к дискам, пропитанным комплексными препаратами, но на рекомендации по выбору антибактериальных средств это не влияло. Выбраны следующие препараты: Энроутеромаст (энрофлоксацин), Норфлоксамаст (норфлоксацин), Амокслав (амоксициллин). Колимаст (неомицин) и Ц-маст (цефазолин) показали худшие результаты по ЗЗР *E.coli* и не рекомендованы к применению.



Рисунок 10 – Размеры ЗЗР *E.coli* в отношении стандартных (слева) и картонных (справа) дисков.

На рисунке 10 видно, что зоны задержки роста *E.coli* в отношении стандартных и картонных дисков отличаются незначительно.

Проведенные исследования показали, что чувствительность микроорганизмов к стандартным дискам с антибиотиками и к картонным дискам, пропитанным в комплексных препаратах с аналогичным действующим веществом, незначительно отличается. К картонным дискам зоны оказались чуть выше, что естественно, так как концентрация действующего вещества в инъекторе препарата, а соответственно и в картонном диске, больше, чем в стандартном диске. На рекомендации по выбору антибиотика это не повлияло.

4.3.5 Оценка чувствительности микроорганизмов, выделенных от коров из сельскохозяйственных предприятий

Исследование чувствительности микроорганизмов, выделенных из секрета вымени больных маститом коров, к комплексным антимикробным препаратам проводили с помощью модифицированного нами диско-диффузионного метода.

С этой целью определяли зону задержки роста культур *S.aureus*, *E.coli* и *S.dysgalactiae* (полевые штаммы) к таким препаратам, как Мастьет форте, Амоксибаг LC, Анкопен П, Прималакт, МАС Дз, Гамарет, Тетрамаст, Мастилекс, Амокслав, Синулокс – для лечения мастита коров в период лактации, Орбенин EDC, Цеправин EDC, Мастенит, Цефалон EDC, Нафпензал DC – для лечения и

профилактики мастита коров в сухостойный период. Указанные препараты взяты как наиболее часто применяемые в хозяйствах.

Наиболее высокая чувствительность изолятов *S.aureus*, полученных из семи обследуемых нами хозяйств (таблица 15) к перечисленным препаратам отмечена во втором (ЗЗР $31,8 \pm 1,25$) и седьмом (ЗЗР $35,1 \pm 1,64$).

Таблица 15 – Зона задержки роста *S.aureus* к комплексным препаратам

№	Наименование комплекс. препарата	Хозяйства							M±m	Изменение по хозяй-вам (CV) %
		1	2	3	4	5	6	7		
Для лечения										
1	Мастигет форте	24	28	26	30	31	29	30	28,2±0,88	8,2
2	Амоксибаг LC	30	26	33	40	33	35	45	34,5±2,41	18,2
3	Анкопен П	23	34	25	36	23	19	42	28,8±2,91	26,3
4	Прималакт	25	31	37	29	33	30	35	31,4±1,52	12,6
5	МАС Дз	22	30	40	30	30	30	25	29,5±2,28	20,1
6	Гамарет	24	30	34	32	30	25	28	29,0±1,26	11,4
7	Тетрамаст	20	25	24	35	26	23	32	26,4±1,90	18,7
8	Мастилекс	23	32	30	35	35	25	35	30,7±1,52	12,9
9	Амокслав	25	26	24	23	26	30	36	27,1±1,65	15,8
10	Синулокс	30	44	36	30	38	35	45	36,8±1,90	13,4
Для запуска										
11	Орбенин EDC	22	33	30	27	29	30	40	30,1±2,28	19,7
12	Цеправин EDC	21	36	25	30	27	26	40	29,3±2,41	21,4
13	Мастенит	25	35	20	28	20	34	34	28,0±1,90	17,7
14	Цефалон EDC	23	32	34	32	27	28	20	28,0±1,77	16,5
15	Нафпензал	32	35	34	30	43	29	40	34,7±1,7	13,3

Для лечения								
1	Мастьет форте	29	20	23	28	23	24,6±2,0 4	18,2
2	Амоксибаг LC	24	17	27	32	25	25,0±3,4 0	30,0
3	Анкопен П	23	19	24	24	20	22,0±1,1 3	11,3
4	Прималакт	35	23	28	30	30	29,2±2,7 2	20,5
5	МАС Дз	25	23	18	38	26	26,0±4,5 4	38,4
6	Гамарет	16	16	20	32	25	21,8±3,6 3	36,6
7	Тетрамаст	26	17	18	29	17	21,4±2,7 2	28,0
8	Мастилекс	17	21	25	24	22	21,8±1,8 1	18,3
9	Амокслав	15	17	20	27	16	19,0±2,7 2	31,5
10	Синулокс	32	28	30	31	25	29,2±1,5 9	11,9
Для запуска								
11	Орбенин EDC	13	19	13	18	17	16,0±1,3 6	18,7
12	Цеправин EDC	17	18	18	30	18	20,2±2,9 5	32,1
13	Мастенит	15	14	15	20	23	17,4±2,0 4	25,8
14	Цефалон EDC	22	18	17	27	17	20,2±2,2 7	24,7
15	Нафпензал DC	10	14	18	30	20	18,4±4,5 4	54,3
M±m		21,3±1 ,64	18,9±0,9 2	20,9±1,1 1	28,0±1,3 1	21,6±0,9 2		
Изменчивость по препаратам (CV)%		29,3	18,5	20,0	17,8	16,2		

Как видно из таблицы 16, наибольшим эффектом в отношении *E.coli* среди препаратов, используемых для лечения коров в период лактации, обладают Прималакт (ЗЗР 29,2±2,72) и Синулокс (ЗЗР 29,2±1,59). Из препаратов, применяемых в период запуска, с большей ЗЗР оказались Цеправин EDC (20,2±2,95), Цефалон EDC (20,2±2,27).

Коэффициент вариации чувствительности *E.coli* к препаратам варьирует в пределах от 11,3 до 54,3%. «Средняя» изменчивость показателя отмечена при

применении таких препаратов как Мاستиет форте (18,2%), Анкопен П (11,3%), Мاستилекс (18,3%), Синулокс (11,9%), Орбенин EDC (18,7%). «Значительная» изменчивость выявлена к Амоксибаг LC (30,0%), Прималакт (20,5%), МАС Д₃ (38,4%), Гамарет (36,6%), Тетрамаст (28,0%), Амокслав (31,5%), Цеправин EDC (32,1%), Мастенит (25,8%), Цефалон EDC (24,7%), Нафпензал DC (54,3%). «Незначительной» изменчивости по препаратам не выявлено.

Коэффициент вариации по хозяйствам к применяемым препаратам также варьирует (от 16,2% до 29,3%), но в небольших пределах. Так, «средняя» изменчивость прослеживается во всех семи хозяйствах, «значительной» и «незначительной» изменчивости не наблюдается.

Чувствительность *S. dysgalactiae* наблюдалась высокой в одном из пяти обследуемых нами хозяйств (ЗЗР 35,4±1,11) (таблица 17).

Таблица 17 – Зона задержки роста *S. dysgalactiae* к комплексным препаратам

№	Наименование комплекс. препарата	Хозяйства					M±m	Изменчивость по хоз-вам (CV)%
		1	2	3	4	5		
Для лечения								
1	Мастиет форте	20	18	42	10	16	21,2±7,2 7	75,4
2	Амоксибаг LC	21	20	25	15	22	20,6±2,2 7	24,2
3	Анкопен П	25	14	40	15	30	24,8±5,9 0	52,4
4	Прималакт	22	20	38	0	28	21,6±8,6 3	87,9
5	МАС Д ₃	18	23	25	15	23	20,8±2,2 7	24,0
6	Гамарет	23	25	40	40	30	31,6±3,8 6	26,8
7	Тетрамаст	12	20	28	0	26	17,2±6,3 6	81,3
8	Мастилекс	20	22	40	0	30	22,4±9,0 9	89,2
9	Амокслав	21	21	35	15	20	22,4±4,5 4	44,6
10	Синулокс	20	12	40	12	31	20,6±6,3 6	67,9

		Для запуска						
11	Орбенин EDC	18	12	30	12	32	18,4±4,5 4	54,3
12	Цеправин EDC	17	12	35	40	23	25,4±6,3 6	55,1
13	Мастенит	35	30	40	38	25	33,6±3,4 0	22,3
14	Цефалон EDC	38	20	33	40	28	31,8±4,5 4	31,4
15	Нафпензал DC	31	26	40	40	32	33,8±3,1 8	20,7
M±m		22,7±1, 71	19,6±1,1 8	35,4±1,1 1	17,8±2,6 3	26,4±1,0 5		
Изменчивость по препаратам (CV)%		28,6	22,9	11,8	56,1	15,1		

По данным таблицы 17 видно, что наиболее высоким антибактериальным действием из используемых в хозяйстве препаратов обладает Гамарет (ЗЗР 31,6±3,86), из запускных препаратов – Мастенит (ЗЗР 33,6±3,40), Цефалон EDC (ЗЗР 31,8±4,54), Нафпензал DC (ЗЗР 33,8±3,18).

Коэффициент вариации чувствительности *S. dysgalactiae* по препаратам варьирует в широких пределах (от 20,7 до 89,2%). По всем применяемым препаратам выявлена «значительная» изменчивость, «средней» и «незначительной» изменчивости не наблюдается.

Коэффициент вариации по хозяйствам к применяемым препаратам также варьирует в широких пределах (от 11,8% до 56,1%). «Средняя» изменчивость прослеживается в двух хозяйствах, «значительная» в трех хозяйствах, «незначительной» изменчивости не выявлено.

Из результатов видно, что чувствительность микроорганизмов одного вида, выделенных в разных хозяйствах, к одним и тем же комплексным антимикробным препаратам различна. Коэффициент вариации культур отличается как по препаратам, так и по хозяйствам. По хозяйствам данный коэффициент ниже. Кроме того, при сравнении зон задержки роста указанных выше культур, средний показатель наибольшей зоны задержки роста выявлен у *S.aureus* (36,8±1,90), средний показатель наименьшей зоны задержки роста у

E.coli ($16,0 \pm 1,36$), что свидетельствует о более высокой устойчивости последней к комплексным антимикробным препаратам (рисунок 11).

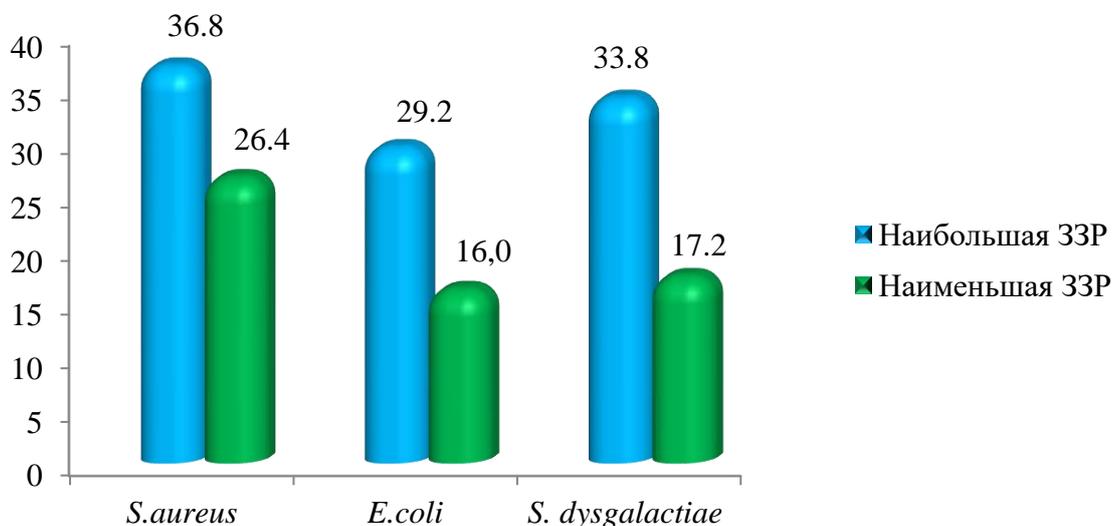


Рисунок 11 – Средние показатели наибольшей и наименьшей чувствительности культур.

На рисунке 11 видно, что средние показатели наименьшей чувствительности выявлены у культур *E.coli*, а наибольшей – у культур *S.aureus*.

Оценка чувствительности микроорганизмов к применяемым препаратам дает возможность ветеринарным специалистам определиться с выбором того или иного антимикробного средства для лечения мастита коров в период лактации и для профилактики этого заболевания в сухостойный период.

4.4 Эффективность дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) в лабораторных и производственных условиях

Дезинфицирующее средство «Лорена» (лосьон) представляет собой готовую к применению прозрачную жидкость светло-коричневого цвета с характерным йодно-спиртовым запахом. В качестве действующего вещества содержит свободный йод ($0,025 \pm 0,012\%$), а также дополнительные компоненты: сульфэтоксилат натрия, неол АФ 9-10, молочную кислоту, глицерин, 2-пропанол и дистиллированную воду до 100%.

Дезинфицирующее средство разработано ОТФ «Этрис» в качестве кожного антисептика, зарегистрировано и используется для гигиенической обработки рук у людей. В ветеринарной практике для обработки сосков вымени после доения и профилактики инфекционных маститов средство применено впервые.

С помощью лабораторных испытаний изучали бактерицидные свойства средства «Лорена» (лосьон), используя пять режимов экспозиции (30 с., 1, 2, 5 и 10 минут), 50,0, 75,0 и 100,0%-ные концентрации рабочих растворов готового средства. Температура растворов была 20°C.

Исследования проводили с использованием тест-культур *S. aureus* (209P), *E. coli* (675), в качестве контроля использована стерильная водопроводная вода.

В результате установили, что лучшая бактерицидная активность препарата в отношении тест-культуры *E. coli* и *S. aureus* проявляется при 100,0 % концентрации при всех выбранных режимах экспозиции (повторенный опыт в количестве пяти раз при определенном времени воздействия показал отсутствие роста микроорганизмов при наличии типичного роста тест-культуры в контроле). Для подтверждения бактерицидных свойств препарата проведены высевы в агар. Отсутствие роста свидетельствовало о бактерицидном действии препарата. Результаты представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Бактерицидное действие различных концентраций средства «Лорена» (лосьон) (средние значения пяти опытов)

	Концентрация р-ра (%)	Температура р-ра °С	Экспозиция, культура, КОЕ				
			30 сек	1 мин	2 мин	5 мин	10 мин
Препарат «Лорена»			<i>S. aureus</i> (209P)				
	100,0	20,0	0	0	0	0	0
	75,0	20,0	0	0	0	1	1
	50,0	20,0	0	0	0	1	1
			<i>E. coli</i> (675)				
Препарат «Лорена»	100,0	20,0	0	0	0	0	0
	75,0	20,0	0	0	0	1	1
	50,0	20,0	0	0	0	2	3
Контроль	Вода водопроводная (стерильная)	20,0	сплошной рост	сплошной рост	сплошной рост	сплошной рост	сплошной рост

Как видно из представленных в таблице 18 данных, дезинфицирующее средство обладает бактерицидной активностью в отношении использованных микроорганизмов при 100%-ной концентрации при всех режимах экспозиции.

В соответствии с полученными данными для испытаний в животноводческом предприятии (производственные испытания) была выбрана 100%-ная концентрация (неразбавленное готовое средство) указанного препарата.

Опыт проводили в СХПК «Племзавод Майский» (Приложение № 1). В течение десяти дней осуществляли последовательную обработку средством «Лорена» (лосьон) пяти лактирующих коров (опытная группа) путем нанесения средства на соски вымени методом погружения в стаканчик каждого соска не менее $\frac{2}{3}$ длины на несколько секунд (рисунок 12 и 12.1).



Рисунок 12 – Средство «Лорена» (лосьон) на соске коровы (опыт).



Рисунок 12.1 – Средство «Лорена» (лосьон) на сосках коровы (опыт).

Как видно из рисунков 12 и 12.1 дезинфицирующее средство «Лорена» (лосьон) представляется на сосках вымени коровы в виде прозрачной бесцветной жидкости, образующей на кончике соска небольшую висячую каплю.

Пяти коровам контрольной группы обработку вымени проводили средством ProfiClean Iodine, применяемом на данной ферме (рисунок 13).



Рисунок 13 – Средство ProfiClean Iodine на сосках коров (контроль).

На рисунке 13 видно, что средство ProfiClean Iodine на сосках вымени коровы представляется в виде жидкости оранжевого цвета.

Результаты средних показателей бактериологических исследований смывов с сосков вымени коров приведены в таблице 19.

Таблица 19 – Бактериальная загрязненность сосков вымени коров до и после обработки дезинфицирующими средствами (на 1 см² поверхности)

Опыт				Контроль			
№	После доения до обработки, (фоновые значения), (КМАФАнМ)	Через 10 мин после обработки (КМАФАнМ)	Через 30 мин после обработки и (КМАФАнМ)	№	После доения до обработки и (фоновые значения), (КМАФАнМ)	Через 10 мин после обработки (КМАФАнМ)	Через 30 мин после обработки (КМАФАнМ)
1 исследование (1 день опыта)							
M±m	22379,3±1168,3	2298,6±73,3	2432,6±165,0	M±m	26283,2±1022,5	1112,0±171,6	19797,3±2814,1
2 исследование (10 день опыта)							
M±m	2708,6±424,1	175,3±14,1	380,2±104,1	M±m	3407,9±667,5	249,3±36,6	2160,0±171,6

Из таблицы 19 видно, что в опытной группе по результатам 1-го и 2-го исследований произошло снижение средних показателей загрязненности микроорганизмами в 1 см² после применения средства «Лорена» (лосьон). Так, через 10 мин. после обработки в первом исследовании указанный показатель снизился и составил $2298,6 \pm 73,3$ или в 9,7 раза меньше по сравнению с фоновым значением ($22379,3 \pm 1168,3$), при втором исследовании – в 15,4 раза (с $2708,6 \pm 424,1$ до $175,3 \pm 14,1$).

В первом и втором исследованиях в опытной группе через 30 минут названный показатель незначительно повышался, но оставался ниже по сравнению с фоновыми значениями до обработки в 9,2 раза (с $22379,3 \pm 1168,3$ до $2432,6 \pm 165,0$) в первом и в 7,1 раз (с $2708,6 \pm 424,1$ до $380,2 \pm 104,1$) во втором исследованиях соответственно.

При сравнении испытуемого и применяемого в хозяйстве средств, средство «Лорена» (лосьон) сохраняло бактерицидное действие более длительно и превалировало по таким сравниваемым показателям: через 10 минут после обработки во втором исследовании – в 1,4 раза, через 30 минут после обработки в первом исследовании – в 8,1 раза и в 5,7 раз во втором исследовании соответственно.

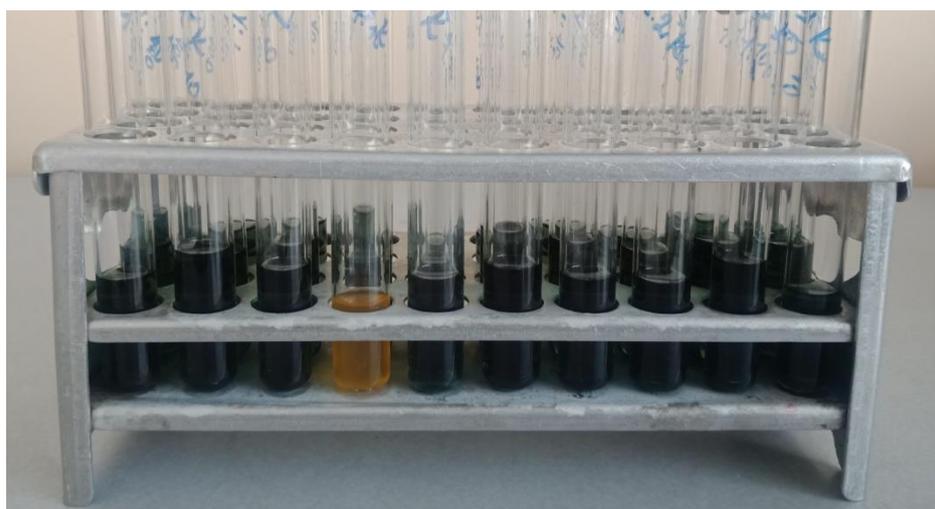
Наличие бактерий группы кишечной палочки в смывах определяли по изменению цвета среды Кода и дальнейшего высева положительно реагирующих проб на среду Эндо. Результаты представлены в таблице 20 и рисунке 14.

Таблица 20 – Результаты исследования смывов на БГКП на среде Кода

Опыт						
1 исследование (1 день опыта)				2 исследование (10 день опыта)		
№	После доения до обработки	10 мин после доения после обработки	30 мин после доения после обработки	После доения до обработки	10 мин после доения после обработки	30 мин после доения после обработки
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	+	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-

Контроль						
1 исследование (1 день опыта)			2 исследование (10 день опыта)			
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	+	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-

Как видно из таблицы 20, у третьей коровы в опыте и у четвертой в контроле в 1-ый день опыта после доения до обработки препаратами получен положительный результат, т.е. произошло изменение цвета среды с зеленого на желтый. При высеве на среду Эндо обнаружены типичные для *E.coli* колонии и грамотрицательные палочки. После обработки дезинфицирующими средствами БГКП не выявлены, что подтверждает важность дезинфекции сосков вымени коров после доения.



**Рисунок 14 – Отрицательные и положительные результаты на среде
Кода.**

На рисунке 14 видно изменение цвета среды Кода с зеленого на желтый, что означает положительный результат.

Кроме проведенных вышеуказанных исследований, у обеих групп коров (опытная и контрольная), как в первый, так и на десятый день исследования проведены бактериологические посева из разных разведений смывов с поверхности вымени и изучены колонии микроорганизмов, выросшие на

питательной среде. В опыте и контроле (3 и 4 проба соответственно) обнаружены БГКП до обработки сосков вымени коров дезинфицирующими средствами в первый день опыта, культуры *S. aureus* в смывах не были выделены за весь период исследований. Коагулазоотрицательные стафилококки выделены через 30 минут после обработки дезинфицирующими средствами в обоих исследованиях. В опытной группе они были обнаружены в первой пробе, в контрольной группе – в третьей и пятой. Остальная микрофлора состояла из молочнокислых стрептококков и грамположительных палочек.

В пробах молока в опытной и контрольной группе коров в первый и второй день исследования патогенной и условно-патогенной микрофлоры не выделено (таблица 21).

Таблица 21 – Результаты исследования проб молока

1 исследование, опыт (1 день)		1 исследование, контроль (1 день)	
№ пробы молока	Микрофлора	№ пробы молока	Микрофлора
1	Гр+палочки	1	Гр+палочки
2	Гр+палочки	2	Гр+палочки
3	Стрептококки молочнокислые	3	Гр+палочки
4	Стрептококки молочнокислые	4	Нет роста
5	Нет роста	5	Стрептококки молочнокислые
2 исследование, опыт (10 день)		2 исследование, контроль (10 день)	
1	Стрептококки молочнокислые	1	Гр+палочки
2	Гр+палочки	2	Гр+палочки
3	Нет роста	3	Стрептококки молочнокислые
4	Стрептококки молочнокислые	4	Гр+палочки
5	Нет роста	5	Стрептококки молочнокислые

Как видно из таблицы 21, в пробах молока присутствовали молочнокислые стрептококки и грамположительная микрофлора. В некоторых пробах – в 5-ой в первый день исследования и в 3-ей и 5-ой на десятый день в опыте и 4-ой – в первый день исследования в контроле рост микроорганизмов в пробах молока отсутствовал.

У коров опытной и контрольной групп на протяжении всего периода исследований (в течение 10 дней) наблюдали за состоянием кожных покровов сосков вымени после их обработки дезинфицирующими средствами («Лорена»

(лосьон) и ProfiClean Iodine). Побочных явлений и осложнений при применении указанных средств не установили.

На основании результатов проведенных лабораторных и производственных испытаний можно сделать вывод, что дезинфицирующее средство «Лорена» (лосьон) в концентрации 100 % обладает выраженным бактерицидным действием и эффективно в производственных условиях для обработки вымени коров после доения. Средство «Лорена» (лосьон) по бактерицидным свойствам превосходит контрольный препарат ProfiClean Iodine, а также обладает пролонгированным действием (Приложение № 5).

4.5 Специфическая профилактика мастита с применением ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров

С целью специфической профилактики маститов кокковой этиологии в хозяйствах была испытана ассоциированная инактивированная вакцина против маститов коров.

Вакцина разработана сотрудниками ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН и изготовлена из штаммов *S.aureus*, *S.agalactiae* и *S. dysgalactiae*, депонированных в коллекции ФНЦ из Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Культуры микроорганизмов выращивали на МПБ с добавлением раствора глюкозы до конечной концентрации 0,5%. Накопление бактериальных клеток проводили в течение 16-24 ч до достижения концентрации $4 \pm 1 \cdot 10^9$ /см³ м.к. Культуры инактивированы формалином с содержанием не менее 37 % формальдегида до конечной концентрации 0,5%. К общему объему (1000 см³) добавлен адъювант – раствор гидроксида алюминия в количестве 15%.

Испытания эффективности ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров проводили в СХПК «Передовой» (ф. Алешино) и ОАО «Заря» (ф. Высоково) Вологодской области.

Предварительно, перед началом испытания, кровь животных исследовали на наличие антител к возбудителям, являющихся компонентами вакцины – *S.aureus*, *S.agalactiae* и *S. dysgalactiae*. Всего в СХПК «Передовой» было исследовано 120

голов, в ОАО «Заря» – 90 голов. Животных с наименьшим титром антител (от 0 до 1:16) к указанным антигенам, отбирали для опытной и контрольной групп.

Вакцину в обоих хозяйствах вводили опытным группам коров в сухостойный период (первое введение – за 40 дней до отела) подкожно в область средней трети шеи двукратно с интервалом в 14-21 день между первым и вторым введениями, в дозах 5,0 и 5,0 см³ соответственно. Животным контрольных групп одновременно вводили стерильный физиологический раствор по аналогичной схеме.

На протяжении 6-ти месяцев после вакцинации (в лактационный период) вели наблюдение за животными опытных и контрольных групп. Ежемесячно проводили клинический осмотр, исследовали на субклинический мастит с помощью быстрого маститного теста (БМТ), секрет вымени подвергали бактериологическому исследованию, кровь исследовали в реакции агглютинации. Уровень специфических антител к стафилококковому и стрептококковым компонентам вакцины определяли до вакцинации, а также через 1, 2, 3, 4, 5 и 6 месяцев после вакцинации. За титр сыворотки принимали максимальное разведение, дающее агглютинацию на три креста и выше.

4.5.1 Результаты быстрого маститного теста, бактериологических и серологических исследований в хозяйстве «Передовой»

В СХПК «Передовой» (ф. Алешино) вакцинировали 10 голов (опытная группа). В контрольной группе было 5 голов (Приложение № 2).

После иммунизации животных ассоциированной инактивированной вакциной проводили клинический осмотр животных, уделяя особое внимание местным проявлениям воспаления молочной железы. Определяли цвет кожи, пропорциональность отдельных четвертей вымени, устанавливали болевую и температурную реакцию, наличие уплотнений молочной железы, ее консистенцию. После применения вакцины осложнений системного или местного характера у опытных животных не отмечалось.

После клинического осмотра всех животных опытной и контрольной группы исследовали на субклинический мастит с помощью быстрого маститного теста. Результаты исследования указаны в таблице 22.

Таблица 22 – Показатели заболеваемости маститом коров в течение шести месяцев после вакцинации

Кол-во исследованных животных (гол.)	Общее кол-во больных маститом животных, гол. / %	месяц наблюдения, гол. / %					
		1	2	3	4	5	6
Контрольная группа коров							
5	4/80,0	2/40,0	1/20,0	0/0	0/0	1/20,0	0/0
Опытная группа коров							
10	2/20,0	0/0	2/20,0	0/0	0/0	0/0	0/0

Из данных таблицы 22 видно, что в группе вакцинированных животных за период наблюдения переболело маститом 2 коровы (20,0%).

В контрольной группе за этот же период выявлено 4 коровы (80,0%), т.е. в 4-е раза больше по сравнению с вакцинированными животными.

Для проведения бактериологических исследований каждый месяц от животных опытной и контрольной групп отбирали пробы секрета вымени для дальнейшего изучения (таблица 23).

Таблица 23 – Результаты бактериологических исследований секрета вымени коров

Месяц исследования	Выделенная патогенная и условно-патогенная микрофлора, в пробах (культуры/процент)				
	Всего проб/культур	кокковая микрофлора			гр (-) палочки энтеробактерии
		патог. стафилококки	условно-патог. стафилококки	патог. стрептококки	
Опытная группа (10 голов)					
1	10/0	0/0	0/0	0/0	0/0
2	10/1	0/0	1/10,0	0/0	0/0
3	10/0	0/0	0/0	0/0	0/0
4	10/0	0/0	0/0	0/0	0/0
5	10/1	0/0	1/10,0	0/0	0/0
6	10/2	0/0	1/10,0	0/0	1/10,0
Всего за 6	60/4	0/0	3/5,0	0/0	1/1,6

месяцев					
Контрольная группа (5 голов)					
1	5/3	2/40,0	1/20,0	0/0	0/0
2	5/2	1/20,0	1/20,0	0/0	0/0
3	5/0	0/0	0/0	0/0	0/0
4	5/1	0/0	1/20,0	0/0	0/0
5	5/3	1/40,0	1/20,0	0/0	1/40,0
6	5/1	0/0	1/20,0	0/0	0/0
Всего за 6 месяцев	30/10	4/13,3	5/16,6	0/0	1/3,3

Как видно из таблицы 23, в опытной группе животных за весь период исследования проб молока (ежемесячно в течение 6-ти месяцев) патогенных стафилококков и стрептококков выявлено не было. Условно-патогенные стафилококки выделяли во 2-й, 5-ый и 6-ой месяцы исследований. В одной пробе в 6-ой месяц исследования выявлены энтеробактерии. Всего за шесть месяцев исследований из 60 проб секрета вымени коров опытной группы из 5,0% образцов выделены условно-патогенные стафилококки и из 1,6% энтеробактерий.

В контрольной группе животных в течение 6-ти месяцев исследований выделяли патогенные стафилококки (*S. aureus*) в двух пробах молока в 1-ый месяц исследования и по одной культуре во 2-ой и 5-ый месяцы. Условно-патогенные стафилококки выделяли ежемесячно за исключением третьего месяца исследований. Патогенных стрептококков выделено не было. В 5-ый месяц исследования в одной пробе молока были выделены энтеробактерии. Всего за шесть месяцев исследований из 30 проб секрета вымени коров контрольной группы выделено 13,3% патогенных стафилококков, 16,6% условно-патогенных стафилококков, 3,3% энтеробактерий.

При сравнении результатов обеих групп животных по выделенной патогенной и условно-патогенной микрофлоре за шесть месяцев исследований в опытной группе патогенных стафилококков и стрептококков не выделено совсем (в контрольной же группе обнаружено 13,3% патогенных стафилококков), условно-патогенных стафилококков и энтеробактерий выявлено меньше на 11,6% и 1,7% соответственно.

Кровь от животных обеих групп отбирали семикратно. Результаты исследований уровня антител к *S. aureus* представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Титр антител к *S. aureus* у животных опытной и контрольной групп

№ жив-х	Титр антител до вакцинации	Титр антител после вакцинации через					
		1 мес.	2 мес.	3 мес.	4 мес.	5 мес.	6 мес.
Опытная группа							
1	1:0	1:16	1:64	1:64	1:32	1:32	1:16
2	1:8	1:64	1:128	1:128	1:64	1:32	1:32
3	1:8	1:32	1:64	1:64	1:32	1:32	1:16
4	1:2	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16
5	1:0	1:32	1:32	1:32	1:16	1:16	1:8
6	1:4	1:64	1:64	1:64	1:32	1:32	1:16
7	1:2	1:32	1:64	1:64	1:32	1:16	1:16
8	1:8	1:32	1:64	1:64	1:32	1:16	1:16
9	1:0	1:32	1:64	1:64	1:32	1:16	1:16
10	1:16	1:64	1:64	1:64	1:16	1:16	1:16
M±m	1:4,8±1,7	1:38,4±5,1	1:64,0±10,2	1:64,0±10,2	1:32,0±5,1	1:22,4±1,7	1:16,8±2,5
Контрольная группа							
1	1:2	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8	1:8
2	1:0	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8	1:2
3	1:8	1:8	1:8	1:8	1:2	1:0	1:0
4	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8
5	1:4	1:16	1:16	1:2	1:16	1:2	1:0
M±m	1:4,4±1,8	1:12,8±1,8	1:12,8±1,8	1:10,0±3,1	1:8,4±3,1	1:5,2±1,8	1:3,6±1,8

Из таблицы 24 видно, что титр антител к *S. aureus* у коров опытной группы до введения вакцины в среднем составил 1:4,8±1,7. Во второй и третий месяцы после вакцинации наблюдали его максимальное увеличение от 1:32 до 1:128, а в среднем титр антител составил 1:64,0±10,2, что в 13,3 раза выше первоначальных значений (до вакцинации). Спустя шесть мес наблюдений он был равен 1:16,8±2,5, что в 4,7 раза выше по сравнению с контрольной группой (1:3,6±1,8).

В контрольной группе животных отмечали незначительное повышение титра антител с 1:0 до 1:16, его среднее максимальное значение составило 1:12,8±1,8, что в 5,0 раз ниже по сравнению с опытной группой (1:64,0±10,2). У

четвертой коровы титр антител на протяжении всего периода исследований оставался на одном уровне (1:8).

Результаты серологических исследований уровня антител к *S. agalactiae* у животных опытной и контрольной групп представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Титр антител к *S. agalactiae* у животных опытной и контрольной групп

№ жив-х	Титр антител до вакцинации	Титр антител после вакцинации через					
		1 мес.	2 мес.	3 мес.	4 мес.	5 мес.	6 мес.
Опытная группа							
1	1:2	1:32	1:64	1:64	1:64	1:32	1:16
2	1:8	1:64	1:64	1:64	1:32	1:32	1:32
3	1:8	1:32	1:128	1:64	1:32	1:32	1:32
4	1:0	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	1:8
5	1:4	1:32	1:32	1:32	1:16	1:16	1:8
6	1:8	1:64	1:64	1:64	1:32	1:32	1:16
7	1:2	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16	1:8
8	1:8	1:32	1:64	1:64	1:32	1:16	1:16
9	1:2	1:16	1:32	1:32	1:32	1:16	1:16
10	1:0	1:16	1:32	1:64	1:16	1:16	1:8
M±m	1:4,2±0,8	1:33,6±5,1	1:54,4±10,2	1:51,2±3,4	1:32,0±5,1	1:24,0±1,7	1:16,0±2,5
Контрольная группа							
1	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8	1:0	1:0
2	1:0	1:0	1:0	1:8	1:8	1:8	1:8
3	1:0	1:2	1:2	1:4	1:8	1:2	1:0
4	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8	1:0
5	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:2	1:2
M±m	1:6,4±2,4	1:6,8±3,6	1:6,8±3,6	1:7,2±1,8	1:9,6±1,8	1:4,0±1,8	1:2,0±1,8

Из таблицы 25 видно, что титр антител к *S. agalactiae* у коров опытной группы до введения вакцины в среднем составил 1:4,2±0,8. После вакцинации титр антител у животных варьировал от 1:16 до 1:128, его максимальное значение отмечено во второй месяц исследований и в среднем составило 1:54,4±10,2, что выше первоначальных значений (до вакцинации) в 12,9 раза. Спустя шесть месяцев наблюдений он был равен 1:16,0±2,5, что в 8,0 раза выше по сравнению с контрольной группой (1:2,0±1,8).

В контрольной группе животных средний титр антител изменялся незначительно, его максимальное значение составило $1:9,6 \pm 1,8$ в 4-й месяц исследования, что в 5,6 раза ниже, чем в опытной группе ($1:54,4 \pm 10,2$).

Результаты серологических исследований уровня антител к *S. dysgalactiae* у животных опытной и контрольной групп представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Титр антител к *S. dysgalactiae* в опытной и контрольной группах

№ жив-х	Титр антител до вакцинации	Титр антител после вакцинации через					
		1 мес.	2 мес.	3 мес.	4 мес.	5 мес.	6 мес.
Опытная группа							
1	1:2	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16
2	1:8	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32
3	1:4	1:32	1:64	1:64	1:32	1:16	1:16
4	1:0	1:16	1:32	1:32	1:32	1:16	1:8
5	1:8	1:32	1:64	1:64	1:32	1:16	1:16
6	1:8	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16
7	1:4	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16	1:16
8	1:8	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16	1:16
9	1:2	1:16	1:32	1:32	1:32	1:16	1:16
10	1:2	1:16	1:32	1:32	1:16	1:16	1:16
M±m	$1:4,6 \pm 0,8$	$1:20,8 \pm 1,7$	$1:38,4 \pm 3,4$	$1:38,4 \pm 3,4$	$1:30,4 \pm 1,7$	$1:20,8 \pm 1,7$	$1:16,8 \pm 2,5$
Контрольная группа							
1	1:0	1:8	1:8	1:8	1:4	1:2	1:0
2	1:8	1:8	1:8	1:8	1:2	1:0	1:0
3	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8	1:4	1:4
4	1:0	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8	1:2
5	1:2	1:8	1:8	1:16	1:16	1:16	1:8
M±m	$1:3,6 \pm 1,8$	$1:8,0 \pm 0$	$1:8,0 \pm 0$	$1:9,6 \pm 1,8$	$1:7,6 \pm 3,1$	$1:6,0 \pm 3,6$	$1:2,8 \pm 1,8$

Как видно из таблицы, титр антител к *S. dysgalactiae* у коров опытной группы до введения вакцины в среднем составлял $1:4,6 \pm 0,8$. После вакцинации титр антител у животных варьировал от 1:16 до 1:64, его максимальное значение отмечено во второй и третий месяцы исследований и в среднем составило $1:38,4 \pm 3,4$, что выше, первоначальных значений (до вакцинации) в 8,3 раза и максимального значения в контрольной группе в 4,0 раза ($1:9,6 \pm 1,8$). Спустя шесть месяцев наблюдений он был равен $1:16,8 \pm 2,5$, что в 6,0 раза выше по сравнению с контрольной группой ($1:2,8 \pm 1,8$).

В контрольной группе животных средний титр антител на протяжении шести месяцев исследований варьировал от 1:0 до 1:16, его среднее максимальное значение отмечено в 3-й месяц исследований (1:9,6±1,8).

В результате проведенных в СХПК «Передовой» исследований установлено, что в опытной группе коровы за период наблюдения (6 месяцев) переболели маститом в 4-е раза реже, чем в контрольной группе. В секрете вымени вакцинированных животных патогенной микрофлоры не обнаружено (у невакцинированных коров выделено 13,3%), условно-патогенных стафилококков и энтеробактерий выделено на 11,6% и 1,7% меньше, чем в контрольной группе. Серологические исследования показали, что средние максимальные значения титра антител к *S. aureus*, *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae* у вакцинированных коров были в 5,0, 5,6 и 4,0 раза выше по сравнению с невакцинированными животными.

4.5.2 Результаты быстрого маститного теста, бактериологических и серологических исследований в хозяйстве «Заря»

В ОАО «Заря» (ф. Высоково) в опытной и контрольной группе исследованию подвергались 11 и 5 голов соответственно (Приложение № 3). На протяжении шести месяцев животных обеих групп подвергали клиническому осмотру, проверяли на субклинический мастит с помощью быстрого маститного теста, осуществляли бактериологическое исследование секрета молочной железы и серологическое исследование крови.

После иммунизации коров ассоциированной инактивированной вакциной проводили клинический осмотр животных, уделяя особое внимание местным проявлениям воспаления молочной железы. Определяли цвет и целостность кожи, пропорциональность отдельных четвертей вымени, устанавливали болевую и температурную реакцию, наличие уплотнений молочной железы, ее консистенцию. После применения вакцины осложнений системного или местного характера у животных не отмечалось.

После этого всех животных опытной и контрольной группы исследовали на субклинический мастит с помощью быстрого маститного теста. Результаты БМТ за шесть месяцев ежемесячных исследований представлены в таблице 27.

Таблица 27 – Показатели заболеваемости маститом коров в течение шести месяцев после вакцинации

Группы	Кол-во голов	Переболело маститом, гол. %	Месяц наблюдения после отела					
			1	2	3	4	5	6
Опытная	11	2/18,2	1/50,0	1/50,0	0/0	0/0	0/0	0/0
Контрольная	5	3/60,0	3/60,0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Исходя из данных таблицы 27, в опытной группе за период наблюдения переболело маститом две коровы из одиннадцати (18,2%). В контрольной группе выявлено три коровы из пяти с воспалением молочной железы (60,0%), что в 3,3 раза больше, чем в опытной группе.

Каждый месяц на протяжении шести месяцев после вакцинации от животных опытной и контрольной группы отбирали пробы секрета вымени для дальнейшего изучения (таблица 28).

Таблица 28 – Результаты бактериологических исследований секрета вымени коров

Месяц исследования	Выделенная патогенная и условно-патогенная микрофлора, в пробах (культуры/процент)				
	Всего проб/культур	кокковая микрофлора			гр (-) палочки энтеробактерии
		патог. стафилококки	условно-патог. стафилококки	патог. стрептококки	
Опытная группа (11 голов)					
1	11/1	0/0	1/9,0	0/0	0/0
2	11/2	0/0	2/18,1	0/0	0/0
3	11/1	0/0	1/9,0	0/0	0/0
4	11/0	0/0	0/0	0/0	0/0
5	11/3	0/0	2/18,1	0/0	1/9,0
6	11/3	0/0	2/18,1	0/0	1/9,0
Всего за 6 месяцев	66/10	0/0	8/12,1	0/0	2/3,0

Контрольная группа (5 голов)					
1	5/3	2/40,0	1/20,0	0/0	0/0
2	5/1	0/0	1/20,0	0/0	0/0
3	5/1	0/0	1/20,0	0/0	0/0
4	5/3	0/0	3/60,0	0/0	0/0
5	5/3	0/0	2/40,0	1/20,0	0/0
6	5/3	0/0	2/40,0	0/0	1/20,0
Всего за 6 месяцев	30/14	2/6,6	10/33,3	1/3,3	1/3,3

Из таблицы 28 видно, что в опытной группе животных за весь период исследования проб молока (ежемесячно в течение 6-ти месяцев) патогенных стафилококков и стрептококков выявлено не было. Условно-патогенные стафилококки выделялись в пробах секрета вымени 4-х коров на протяжении всего периода исследований за исключением 4-го месяца (0/0). В двух пробах от одной коровы в 5-ый и 6-ой месяц исследования выявлены энтеробактерии. Всего за шесть месяцев исследований из 66 проб секрета вымени коров опытной группы выделены условно-патогенные стафилококки в 12,1% образцов и энтеробактерии в 3,0%.

В контрольной группе животных в первый месяц исследований выделены патогенные стафилококки в двух пробах (*S.aureus*), в одной пробе в 5-ый месяц исследования были изолированы патогенные стрептококки (*S.agalactiae*). Также выделены энтеробактерии в одной пробе в 6-ой месяц исследования. Условно-патогенные стафилококки за первые три месяца обнаружены в одной пробе от одной и той же коровы, в 4-ый месяц исследования к ней добавились еще две положительные пробы. В 5-ый и 6-ой месяц исследования условно-патогенные стафилококки выявлены в двух пробах от одних и тех же коров. Всего за шесть месяцев исследований из 30 проб от животных контрольной группы выделено 6,6% патогенных стафилококков, 3,3% патогенных стрептококков, 33,3% условно-патогенных стафилококков, 3,3% энтеробактерий.

При сравнении результатов обеих групп животных по выделенной патогенной и условно-патогенной микрофлоре за шесть месяцев исследований в опытной группе патогенных стафилококков и стрептококков не выделено совсем, в контрольной же группе обнаружено 6,6% патогенных стафилококков и 3,3% патогенных стрептококков, условно-патогенных стафилококков и энтеробактерий выявлено меньше в опытной чем в контрольной на 21,2 и 0,3% соответственно.

Кровь от животных опытной и контрольной групп отбирали семикратно. Результаты средних значений серологических исследований указанных групп к *S. aureus* представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Титр антител к *S. aureus* у животных опытной и контрольной групп

№ жив-х	Титр антител до вакцинации	Титр антител после вакцинации через					
		1 мес.	2 мес.	3 мес.	4 мес.	5 мес.	6 мес.
Опытная группа							
1	1:2	1:8	1:16	1:32	1:16	1:16	1:8
2	1:16	1:32	1:64	1:64	1:64	1:32	1:32
3	1:4	1:16	1:32	1:32	1:32	1:64	1:16
4	1:4	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16
5	1:8	1:32	1:64	1:64	1:32	1:16	1:8
6	1:0	1:8	1:32	1:32	1:16	1:16	1:16
7	1:8	1:32	1:64	1:64	1:32	1:16	1:16
8	1:16	1:32	1:128	1:64	1:64	1:32	1:16
9	1:0	1:32	1:64	1:64	1:32	1:16	1:16
10	1:8	1:64	1:64	1:32	1:16	1:16	1:16
11	1:0	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16
M±m	1:6,6±1,7	1:26,1±4,2	1:53,8±8,4	1:46,5±2,4	1:33,4±3,6	1:26,1±3,6	1:16,0±1,8
Контрольная группа							
1	1:8	1:16	1:16	1:16	1:8	1:2	1:2
2	1:2	1:16	1:8	1:4	1:2	1:0	1:0
3	1:8	1:8	1:2	1:0	1:0	1:2	1:0
4	1:16	1:16	1:16	1:4	1:2	1:2	1:0
5	1:0	1:8	1:8	1:8	1:8	1:4	1:4
M±m	1:6,8±3,6	1:12,8±1,8	1:10,0±3,1	1:6,4±3,6	1:4,0±1,8	1:2,0±0,9	1:1,2±0,45

Как видно из таблицы, в группе вакцинированных животных титр антител к *S. aureus* нарастал постепенно, его максимальное количество наблюдали на 2-ой

месяц после вакцинации – в 8,1 раза выше по сравнению с первоначальными показателями (1:6,6±1,7), что соответствовало значениям 1:53,8±8,4.

К концу шестого месяца после вакцинации средний титр антител заметно снизился (1:16,0±1,8), но оставался в 2,4 раза выше средних показателей титра до вакцинации.

В контрольной группе титр антител варьировал незначительно от 1:0 до 1:16, его максимальное среднее значение отмечено в первый месяц исследования – 1:12,8±1,8. К концу шестого месяца средний титр антител снизился до 1:1,2±0,45. При сравнении средних показателей опытной и контрольной групп животных средний титр антител к *S. aureus* у вакцинированных коров был выше в течение всего периода исследований, его максимальное превышение отмечено в 5-ый и 6-ой месяцы – в 13,0 и в 13,3 раза соответственно.

Результаты серологических исследований уровня антител к *S. agalactiae* у животных опытной и контрольной групп представлены в таблице 30.

Таблица 30 – Титр антител к *S. agalactiae* у животных опытной и контрольной групп

№ животных	Титр антител до вакцинации	Титр антител после вакцинации через:					
		1 мес.	2 мес.	3 мес.	4 мес.	5 мес.	6 мес.
Опытная группа							
1	1:8	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16
2	1:8	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16	1:16
3	1:2	1:8	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16
4	1:8	1:16	1:32	1:32	1:32	1:16	1:8
5	1:0	1:16	1:32	1:64	1:32	1:16	1:8
6	1:2	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16
7	1:8	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16	1:16
8	1:8	1:32	1:64	1:32	1:32	1:16	1:16
9	1:4	1:16	1:64	1:32	1:32	1:16	1:8
10	1:4	1:16	1:32	1:32	1:16	1:16	1:16
11	1:2	1:16	1:64	1:64	1:32	1:32	1:16
M±m	1:5,4±1,1	1:21,0±1,8	1:39,2±3,6	1:36,3±3,6	1:29,0±1,2	1:20,3±1,2	1:13,8±0,6
Контрольная группа							
1	1:8	1:8	1:8	1:8	1:4	1:4	1:0
2	1:0	1:2	1:2	1:4	1:8	1:8	1:8
3	1:4	1:8	1:8	1:8	1:8	1:2	1:2
4	1:2	1:4	1:8	1:8	1:16	1:16	1:16

5	1:8	1:16	1:16	1:4	1:2	1:0	1:0
M±m	1:4,4±1,8	1:7,6±3,1	1:8,4±3,1	1:6,4±0,9	1:7,6±3,1	1:6,0±3,6	1:5,2±3,6

Как видно из таблицы, средний титр антител в опытной группе также увеличивался, его пик пришелся на второй месяц исследования – 1:39,2±3,6, что выше начальных значений (1:5,4±1,1) в 7,2 раза. К концу шестого месяца он снизился и составил 1:13,8±0,6, но все равно остался в 2,5 раза больше, чем до вакцинации.

В контрольной группе животных средний титр антител варьировал от 1:7,6±3,1 в первый месяц исследования до 1:5,2±3,6 в последний месяц исследований.

Средний показатель титра антител к *S. agalactiae* у коров опытной группы был выше после вакцинации на протяжении всего периода исследований, его максимальное превышение отмечено во 2-ой и 3-ий месяцы – в 4,7 и в 5,7 раза соответственно.

Результаты серологических исследований уровня антител к *S. dysgalactiae* у животных опытной и контрольной групп представлены в таблице 31.

Таблица 31 – Уровень антител к *S. dysgalactiae* у животных опытной и контрольной групп

№животных	Титр антител до вакцинации	Титр антител после вакцинации через					
		1 мес.	2 мес.	3 мес.	4 мес.	5 мес.	6 мес.
Опытная группа							
1	1:8	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16
2	1:0	1:8	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16
3	1:8	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16
4	1:4	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32
5	1:8	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16	1:16
6	1:8	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16
7	1:4	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32
8	1:2	1:16	1:32	1:32	1:32	1:16	1:16
9	1:0	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	1:16
10	1:8	1:16	1:32	1:32	1:32	1:16	1:16
11	1:2	1:16	1:32	1:32	1:16	1:16	1:8
M±m	1:5,2±0,8	1:19,6±1,8	1:30,5±1,2	1:30,5±1,2	1:29,0±1,2	1:24,7±1,2	1:18,1±1,8
Контрольная группа							
1	1:0	1:0	1:2	1:4	1:8	1:0	1:0

2	1:2	1:4	1:8	1:8	1:4	1:2	1:2
3	1:2	1:8	1:16	1:16	1:16	1:16	1:2
4	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8	1:2	1:4
5	1:4	1:4	1:8	1:8	1:2	1:0	1:0
M±m	1:3,2±1,8	1:4,8±1,8	1:8,4±3,1	1:8,8±3,1	1:7,6±3,1	1:4,0±3,6	1:1,6±0,9

Как видно из таблицы, титр антител к *S. dysgalactiae* у коров опытной группы до введения вакцины в среднем составил 1:5,2±0,8. После вакцинации он варьировал от 1:16 до 1:32, его максимальное значение отмечено во второй и третий месяцы исследований и в среднем составило 1:30,5±1,2, что выше первоначальных значений (до вакцинации) в 5,9 раза и выше максимального среднего значения по сравнению с контрольной группой (1:8,8±3,1) в 3,5 раза. Спустя шесть месяцев наблюдений средний титр антител был равен 1:18,1±1,8.

В контрольной группе животных средний титр антител на протяжении шести месяцев исследований варьировал от 1:4,8±1,8 в первый месяц до 1:8,8±3,1 в третий месяц исследования.

Испытания ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров в двух обследованных нами хозяйствах показали, что заболеваемость вакцинированных коров маститом на протяжении шести мес. была ниже, чем невакцинированных животных – в 4,0 раза в СХПК «Передовой» и в 3,3 раза в ОАО «Заря».

При бактериологических исследованиях секрета вымени у вакцинированных в отличие от невакцинированных животных патогенных стафилококков и стрептококков не обнаруживали. По результатам серологических исследований в опытной группе после вакцинации определили нарастание титра антител к *S. aureus*, *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae* от 1:8 до 1:64, а у некоторых животных до 1:128 к 2-3 месяцу исследований и его снижение к концу шестого месяца, что является существенным диагностическим значением. В контрольной группе титр антител менялся – от 1:0 и у некоторых коров до 1:16.

4.5.3 Эффективность схем борьбы с маститами коров

С целью изучения совместного применения неспецифической (обработка дезинфицирующими средствами) и специфической профилактики (иммунизация животных) в борьбе с заболеваемостью коров маститами, провели опыт с использованием двух схем:

1) применение неспецифической профилактики, выраженное в обработке сосков вымени коров после доения с помощью дезинфицирующих средств «Лорена» (лосьон) и ProfiClean Iodine;

2) применение неспецифической профилактики, выраженное в обработке сосков вымени коров после доения с помощью дезинфицирующих средств «Лорена» (лосьон) и ProfiClean Iodine совместно со специфической профилактикой – иммунизация животных ассоциированной инактивированной вакциной против маститов коров. Животных иммунизировали в сухостойный период (за 40 дней до отела), а все исследования проводили в лактационный период.

Для проведения опыта отобрали 4 группы коров по десять голов в каждой:

1. контрольная группа – использование дезинфицирующего средства (ProfiClean Iodine) для обработки сосков вымени коров после доения;

2. опытная группа № 1 – использование дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) для обработки сосков вымени коров после доения;

3. опытная группа № 2 – использование дезинфицирующего средства (ProfiClean Iodine) для обработки сосков вымени коров после доения на иммунизированных ассоциированной инактивированной вакциной против маститов коров;

4. опытная группа № 3 – использование дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) для обработки сосков вымени коров после доения на иммунизированных ассоциированной инактивированной вакциной против маститов коров.

Опыт проводили в СХПК «Племзавод Майский» (ф. Майский) Вологодской области на протяжении пяти месяцев после иммунизации коров (Приложение № 4). Указанные группы животных ежемесячно исследовали на субклинический

мастит с помощью быстрого маститного теста и отбирали секрет вымени для бактериологического исследования. Результаты БМТ представлены в таблице 32.

Таблица 32 – Процент заболеваемости маститом коров за период наблюдения

Количество животных, гол.	Переболело маститом, гол.%	В том числе по месяцам наблюдения				
		1	2	3	4	5
Контрольная группа						
10	9/90,0	3/30,0	2/20,0	3/30,0	1/10,0	0/0
		из них повторно				
			1/10,0	1/10,0	0/0	0/0
Опытная группа № 1						
10	6/60,0	1/10,0	2/20,0	1/10,0	0/0	2/20,0
		из них повторно				
			1/10,0	0/0	0/0	0/0
Опытная группа № 2						
10	2/20,0	1/10,0	1/10,0	0/0	0/0	0/0
		из них повторно				
			0/0			
Опытная группа № 3						
10	1/10,0	1/10,0	0/0	0/0	0/0	0/0

Исходя из данных таблицы 32, в контрольной группе за период наблюдения маститом переболело девять коров (90,0%), в том числе по месяцам наблюдения от 0 до 30,0%. Из общего числа переболевших коров рецидив заболевания в последующие месяцы отмечен у двух коров.

В опытной группе № 1 маститом переболело 60,0% коров, в том числе по мес. наблюдения от 0 до 20,0% (рецидив заболевания отмечен у одной коровы).

В опытных группах № 2 и 3 переболели две и одна корова соответственно (20,0 и 10,0%) без рецидива заболевания.

Наибольшее количество переболевших маститом коров выявлено в контрольной группе (90,0%), обработанных только дезинфицирующим средством, а наименьшее – в опытных группах № 2 и 3, обработанных дезинфицирующими средствами и иммунизированных вакциной (20,0 и 10,0%).

При проведении ежемесячных (в течение 5-ти месяцев) бактериологических исследований секрета вымени коров четырех групп патогенные стафилококки (*S. aureus*) были изолированы у трех коров (30,0%) из контрольной группы.

Патогенные стрептококки и энтеробактерии выделены не были. Условно-патогенные стафилококки обнаружены в секрете вымени животных всех исследуемых групп с максимальными значениями в контрольной и группе № 1 (50,0 и 40,0% соответственно) и с минимальными в группах № 2 и № 3 (10,0%) (таблица 33).

Таблица 33 – Микрофлора, выделенная из молока коров контрольной и опытных групп за период наблюдения, культур/%

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа № 1	Опытная группа № 2	Опытная группа № 3
Количество животных по группам	10	10	10	10
Выделенная микрофлора				
Патогенные стафилококки	3/30,0	0/0	0/0	0/0
Патогенные стрептококки	0/0	0/0	0/0	0/0
Условно-патогенные стафилококки	5/50,0	4/40,0	1/10,0	1/10,0
Энтеробактерии	0/0	0/0	0/0	0/0

Исходя из результатов проведенных исследований, установлено, что схема № 2 наиболее эффективна в профилактике мастита коров. Так, заболеваемость животных маститом была ниже в 4,5 раза при сравнении контрольной и опытной группы № 2 и в 9,0 раз при сравнении контрольной и опытной группы № 3.

Нами был рассчитан коэффициент эффективности вакцинации (показатель защищенности). Профилактическая эффективность совместного применения дезинфицирующего средства ProfiClean Iodine и ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров по показателю заболеваемости привитых (опытная группа № 2) и непривитых животных (контрольная) составила 78,0%.

Профилактическая эффективность совместного применения дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) и ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров по показателю заболеваемости привитых (опытная группа № 3) и непривитых животных (контрольная группа) составила 89,0%.

Таким образом, установлено, что совместное применение дезинфицирующих средств и ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров снижает заболеваемость животных воспалением молочной железы, а схема № 2 оказалась наиболее эффективной.

5 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Маститы коров широко распространены и причиняют значительный ущерб сельскохозяйственным предприятиям во всем мире. По данным проведенных исследований, маститами на фермах в течение года переболевает больше половины коров – в двух обследованных хозяйствах выявлено 68,5% и 68,7% переболевших животных. Часть животных переболевает однократно, некоторые повторно – 56,2% и 58,5% голов и даже встречаются коровы, у которых мастит в течение года был выявлен до семи раз – 3,8% и 2,3% голов.

Анализ результатов исследований показал, что наибольшее количество коров в лактационный период переболевают маститом в первый месяц после отела – 31,4% от числа исследованных животных. Коровы болеют воспалением молочной железы как в субклинической, так и в клинической форме, но чаще заболевание протекает без явных клинических признаков. Некоторые авторы [49] сообщают, что скрытыми маститами коровы заболевают в 1,5 – 2 раза чаще, чем клинически выраженными. Н.Ю. Терентьева при проведении исследований в хозяйствах Ульяновской обл. отмечала, что субклиническая форма мастита (70,83 – 83,75%) преобладала над клинической (16,25 – 29,17%) [153]. М.Г. Халипаев в своих исследованиях установил, что коровы болели клиническим маститом реже (26 голов или 8%), чем субклиническим (66 голов или 20%) [161].

По сведениям, полученным нами в сельскохозяйственных предприятиях, количество животных, больных субклиническими маститами, превышало число коров с клиническими формами маститов. Так, в двух из пяти хозяйствах превышение субклинических над клиническими маститами составляло 5,9 и 2,5 раз, соответственно. Еще в одном из обследованных нами хозяйстве процент выявления коров с субклиническим маститом ($22,7 \pm 0,81$ %) был в 3,3 раза выше процента выявления животных с клинически выраженным воспалением молочной железы ($6,8 \pm 0,44$ %).

Мастит является многофакторным заболеванием, но чаще всего болезнь возникает в результате инфекции, нарушения правил доения и ухода за выменем и доильным оборудованием, несоответствия аппаратов машинного доения

требованиям по техническому состоянию [49]. Маститы, вызванные указанными причинами, зачастую приобретают массовый характер и проявляются в виде вспышек заболевания, что приводит к значительному экономическому ущербу.

Нами обследовано семь хозяйств Вологодской области на соответствие технического состояния доильного оборудования, соблюдения правил машинного доения и наблюдения за животными в процессе доения. При этом установлено, что у коров имеются механические повреждения сосков вымени в связи с техническими неполадками молочного оборудования (изношенная сосковая резина, нестабильный уровень вакуума), данные признаки зафиксированы в пяти из семи хозяйств области. В двух из семи обследованных хозяйствах выявлены нарушения правил машинного доения (недодаивание, холостое доение, нарушение режима доения, отсутствие средств для обработки вымени до и после доения и др.). Перечисленные нарушения являются неинфекционными и могут быть устранены путем исправления неполадок в доильном оборудовании и соблюдения работниками правил машинного доения.

Инфекционный фактор играет огромную роль в возникновении воспаления молочной железы. По данным В.И. Мутовина [105], 80% всех маститов сопровождается развитием инфекционного процесса. Куделина Н.А. и Тузов И.Н. [75] считают, что микробы могут быть непосредственной причиной маститов. Так, при проведении микробиологических исследований пяти проб секрета из пораженных долей маститом коров во всех случаях они выделили патогенные штаммы стафилококков, стрептококков, кишечной палочки.

Воздействовать на возбудителей данного заболевания необходимо комплексно, применяя различные методы борьбы, которые не позволят проникнуть патогену в молочную железу и вызвать в ней воспаление.

При изучении спектра возбудителей на протяжении семи лет в 32-х сельскохозяйственных предприятиях путем проведения микробиологических исследований секрета вымени больных маститом коров, нами установлено следующее. Наибольший удельный вес в выделенной микрофлоре занимают кокковые бактерии – 87,2 % (629 культур) от общего количества изолированных

культур (721 культура). В том числе патогенные стафилококки – 33,4 %, условно-патогенные стафилококки – 21,5 %, стрептококки – 33,1 %. Количество изолированных энтеробактерий оказалось значительно ниже – 11,9 %.

В видовом спектре выделенной кокковой микрофлоры за 2020 и 2021 гг. из 23 хозяйств наблюдалось преобладание тех или иных микроорганизмов, но чаще всего выделялись бактерии вида *S. aureus* (54,7 %), *S. agalactiae* (36,7%), *S. dysgalactiae* (26,7%).

Данные Г.Н. Кузьмина тоже свидетельствуют о наибольшем выделении из маститного молока кокковой микрофлоры – *S. aureus* в 30,5 – 29,3% случаев, *S. agalactiae* в 22,0 – 17,7% случаев, *S. dysgalactiae* в 16,6 – 15,9% случаев [76].

В связи с тем, что микроорганизмы являются одной из главных причин воспаления молочной железы, ветеринарные врачи хозяйств все чаще применяют комплексные интрацистернальные противомаститные препараты (шприцы) для борьбы с ними. Перечень таких препаратов с каждым годом увеличивается, но проблема маститов не решается, даже наоборот усугубляется, поскольку нерациональное и зачастую бессистемное применение приводит к привыканию микрофлоры к антибиотикам и развитию антибиотико-резистентных клонов [3, 10, 26,77, 144].

Л.К.Семина [141] в исследованиях указывает о необходимости определения чувствительности бактерий к антибиотическим препаратам два раза в год. На данный момент в ветеринарных лабораториях устойчивость микробов определяют к коммерческим стандартным дискам с целью расчета минимальной ингибирующей концентрации к одному действующему веществу для подбора дозы антибактериального препарата. Однако в комплексных препаратах доза уже определена и в состав включены несколько действующих и вспомогательных веществ, что усиливает антибактериальное действие. Это создает неопределенность в отношении выявления чувствительности микроорганизмов к таким препаратам. С целью решения данной проблемы, нами был модифицирован диско-диффузионный метод с помощью картонных дисков, который включал в

себя выполнение нескольких этапов – от приготовления специальных сред до учета и интерпретации результатов.

Известно, что проблемой подбора эффективных препаратов для лечения людей занимался Кирби-Бауэр, который также модифицировал диско-диффузионный метод, используя для этого диски из фильтровальной бумаги и применяемые для терапии антибиотика [58].

При модификации метода установили время пропитывания картонных дисков в комплексных препаратах – один час. Остальные временные интервалы (3, 6, 12 и 24 ч) не способствовали значительному увеличению ЗЗР микроорганизмов к комплексным препаратам и на рекомендации по выбору лекарственных средств не влияли.

Для практичности применения модифицированного диско-диффузионного метода провели его сравнение с методом лунок к идентичным комплексным средствам. В результате сравнения получили практически аналогичные результаты по размерам ЗЗР микроорганизмов, рекомендации по выбору препаратов также совпадали, что подтверждает возможность использования того или иного способа на практике. Однако, модифицированный метод более практичен в применении, так как при нанесении дисков не происходит случайного попадания комплексного препарата на поверхность агара, что возможно при заполнении лунок препаратами.

При сравнении результатов, полученных с использованием модифицированного диско-диффузионного метода для определения чувствительности к комплексным антимикробным препаратам и коммерческих стандартных дисков, установлено, что ЗЗР микроорганизмов незначительно отличаются в сторону увеличения у дисков, пропитанных в комплексных препаратах. Это связано с тем, что концентрация действующих веществ в них несколько выше, чем в стандартных дисках. На выбор комплексного препарата и аналогичного действующего вещества это не влияло, что свидетельствует о возможности применения модифицированного диско-диффузионного метода для

определения чувствительности микроорганизмов к комплексным антимикробным средствам.

Далее модифицированный нами диско-диффузионный метод использовали для оценки чувствительности выделенных из маститного молока изолятов *S. aureus*, *S. dysgalactiae* и *E. coli* к комплексным антибактериальным препаратам. Полученные результаты показали, что ЗЗР возбудителей к комплексным антимикробным препаратам в разных хозяйствах различна. Коэффициент вариации культур отличается как по препаратам, так и по хозяйствам. В процессе исследований неоднократно обнаруживали, что кишечная палочка обладает высокой устойчивостью к применяемым комплексным препаратам. Н.Ю. Парамонова, С.В. Фириченкова также в своих исследованиях указывают, что представители семейства *Enterobacteriaceae*, выделенные от животных, формируют высокую резистентность к антибиотикам. За девять лет штаммы *E. coli* выработала резистентность к пеницилинам, тетрациклинам, аминогликозидам I поколения, цефалоспорином I поколения [112].

В связи с этим, если мастит вызван *E. coli*, то обычного использования комплексных антимикробных средств может быть не достаточно и необходимо применять другие схемы лечения. Поэтому, в целях борьбы с маститом коров, важно идентифицировать возбудителей болезни до вида и определять их чувствительность не просто к действующему веществу с минимальной ингибирующей концентрацией, а непосредственно к комплексным препаратам, которыми лечат животных. Модифицированный диско-диффузионный метод позволяет определиться с подбором эффективных антибиотиков, выявить чувствительные и нечувствительные штаммы бактерий с наибольшей и с наименьшей ЗЗР соответственно.

При борьбе с маститами важны профилактические мероприятия, выражающиеся в обработке вымени коров до и после доения. А.В.Притыченко и др. указывают, что преддоильные и последоильные действия помогают снизить заболеваемость маститом коров в стаде на 50 – 70% [125].

Наиболее значимым фактором является обработка дезинфицирующими средствами кожного покрова вымени после доения, так как сосковый канал после указанной процедуры находится в открытом состоянии в течение получаса, что способствует проникновению в него патогенной и условно-патогенной микрофлоры. И.М. Решетка, И.С. Коба [132], А.Н. Турченко [159] считают, что основная работа по профилактике мастита у коров должна вестись в направлении предотвращения попадания патогенной микрофлоры в молочную железу животных, так как ее инфицирование происходит, как правило, галактогенно через сосковый канал, особенно после доения, когда он в течение получаса остается открытым, а местная противомикробная защита оказывается сниженной.

Дезинфицирующие средства должны обладать не только эффективными бактерицидными свойствами, но и сохранять свое действие в течение длительного времени, быстро высыхать на коже и хорошо очищаться.

С этой целью были проведены лабораторные и производственные испытания готового дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон), которое относится к галогенсодержащим препаратам и содержит в составе свободный йод. Известно, что препараты на основе свободного йода считаются наиболее эффективными в отношении микроорганизмов, так как наряду с отрицательным ионом в таком растворе образуется йод с положительным знаком J^{+1} , присутствие которого и определяет антисептические свойства препарата [103]. Такие препараты взаимодействуют с белками микробной клетки, вызывая коагуляцию последних. А.М. Морозов, М.А. Беляк описывают, что препараты на основе йода осуществляют гибель клеток в течение нескольких секунд, что обеспечивает длительную эффективность во время пролиферации микроорганизмов [102].

В соответствии с регистрационными документами фирмы-разработчика дезинфицирующее средство «Лорена» (лосьон) при применении для обработки рук людей обладает бактерицидным, фунгицидным и вирулицидным действием, не оказывает раздражения на кожные покровы при многократном применении, не вызывает кожно-резорбтивный и сенсibiliзирующий эффект. Смягчающие и

увлажняющие компоненты средства обеспечивают эффективный уход за кожей сосков, предотвращая сухость, появление трещин и эрозий.

По полученным нами данным, отсутствие роста тест-культур (*S. aureus* штамм 209P, *E. coli* штамм 675) при 100%-ной концентрации (неразбавленное готовое средство) дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) при всех выбранных режимах экспозиции (30 сек., 1 мин., 2 мин., 5 мин. и 10 мин.) указывало на его высокую бактерицидную активность.

Производственные испытания показали, что в опытной группе коров по результатам двух исследований произошло снижение бактериальной обсемененности по сравнению с фоновыми значениями через 10 минут после обработки в 9,7 раза в 1-ом исследовании и в 15,4 раза во втором исследовании. Через 30 минут названный показатель незначительно повышался, но оставался ниже в 9,2 раза в 1-ом и в 7,1 раза во 2-ом исследовании.

Снижение показателей обсемененности на коже сосков после доения при применении дезинфицирующего средства в своих исследованиях отмечали Н.И. Попов, В.М. Сотникова, Н.А. Шурдуба и др. [122]. По результатам их исследований, применение средства «Ульянка-Последой» обеспечивало снижение КМАФАнМ на коже сосков в 7,6-8,3 раза через 3 и 6 часов после нанесения средства по сравнению с исходными значениями ОМЧ. Притыченко А.В., Скалубо К.И., Притыченко А.Н. и др. [125] отмечали снижение показателя КМАФАнМ через один час после обработки вымени.

Сравнительная оценка испытуемого и применяемого в хозяйстве средств, свидетельствовала, что средство «Лорена» (лосьон) сохраняло свое бактерицидное действие наиболее длительно, превалируя по таким сравниваемым показателям: через 30 минут после обработки в первом исследовании (1-й день опыта) – в 8,1 раза и в 5,7 раз во втором исследовании (10-й день опыта) соответственно.

При изучении колоний микроорганизмов из разных разведений смывов с поверхности вымени в двух пробах в опытной и контрольной группе (по одной в каждой) обнаружены БГКП до обработки сосков вымени коров

дезинфицирующими средствами. *S. aureus* в смывах не были выделены за весь период исследований. Коагулазоотрицательные стафилококки обнаружены через 30 мин после обработки дезинфицирующими средствами в обоих исследованиях (в опытной группе – в 1 пробе, в контрольной группе – в 3 и 5 пробах).

Наличие БГКП подтверждено и на среде Кода в указанных выше пробах опытной и контрольной группы в первый день опыта до обработки дезинфицирующими средствами. После обработки антисептическим препаратами указанных бактерий выявлено не было. В секрете вымени коров также патогенной и условно-патогенной микрофлоры не обнаружено, что еще раз доказывает важность дезинфекции сосков вымени коров после доения.

В сравнении с препаратом ProfiClean Iodine, применяемым на ферме, средство «Лорена» (лосьон) оказалось лучше, ввиду более длительного бактерицидного действия. Также отмечено, что дезинфицирующее средство «Лорена» (лосьон) быстро высыхает на коже вымени коров и хорошо смывается.

При борьбе с болезнетворными микроорганизмами важно использовать специфическую профилактику, позволяющую формировать в организме животного искусственный активный иммунитет. С. Пеперс считает, что вакцинация коров может снизить скорость распространения маститов и значительно сократить время болезни животного [114].

В открытых источниках упоминается о семи известных вакцинах против маститов коров с различным составом. В некоторых содержится один антиген, а некоторые перегружены антигенами, что впоследствии может привести к слабовыраженному иммунному ответу. В России зарегистрирована и применяется только одна вакцина, это создает ограничение при выборе препаратов для специфической профилактики маститов у коров.

В связи с тем, что на протяжении семи лет из секрета молочной железы коров в большом количестве обнаруживали кокковую микрофлору, представленную стафилококками и стрептококками, при планировании специфической профилактики было решено включить в состав

экспериментальной ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров патогенные штаммы *S. aureus*, *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae*.

Испытания ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров проводили в двух хозяйствах Вологодской области.

В первом хозяйстве за период исследования в группе вакцинированных животных переболело маститом 20% коров. В контрольной группе за этот же период выявлено 80% заболевших, что в 4-е раза больше по сравнению с вакцинированными животными.

При проведении ежемесячных бактериологических исследований молока в опытной группе коров патогенных стафилококков и стрептококков выявлено не было, в контрольной группе обнаружили *S. aureus* в четырех пробах молока (13,3%). В обеих группах выделяли условно-патогенные стафилококки, но в опытной их было на 11,6% меньше, чем в контрольной группе, и энтеробактерии – в опытной группе на 1,7 % ниже.

Во втором хозяйстве в опытной группе за период наблюдения переболело маститом две коровы из одиннадцати (18,2%). В контрольной группе выявлено три коровы из пяти с воспалением молочной железы (60,0%), что в 3,3 раза больше, чем в опытной группе.

При проведении ежемесячных бактериологических исследований молока в опытной группе коров патогенных стафилококков и стрептококков выявлено не было, а в контрольной группе у двух коров обнаружили *S. aureus* (6,6%) и у одной коровы *S. agalactiae* (3,3%). Условно-патогенных стафилококков и энтеробактерий в опытной группе было изолировано меньше, чем в контрольной группе на 21,2 и 0,3% соответственно.

При помощи серологических реакций (РА) у вакцинированных животных обоих хозяйств отметили нарастание титра антител к *S. aureus*, *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae* от 1:8 до 1:64, а у некоторых животных до 1:128 к 2-3-му месяцу после иммунизации и его снижение к 6-ому месяцу, что является существенным диагностическим значением [96]. В контрольной группе животных титр антител незначительно изменялся – от 1:0 до 1:16.

Таким образом, нами установлено, что вакцинация коров ассоциированной инактивированной вакциной снижает заболеваемость маститом на фермах, при бактериологических исследованиях патогенные стафилококки и стрептококки не выделяются, а у вакцинированных животных отмечается нарастание титра антител.

Эффективность специфической профилактики мастита коров зависит от многих факторов. С. Пеперс указывает, что эффективность коммерческой вакцины Startvac в общем составила 45 %, но при соблюдении ряда факторов, таких как правильное доение, соблюдение гигиены вымени, рациональной антибиотикотерапии, вакцинация ускоряет выздоровление, а также позволяет уменьшить широту распространения инфекции вплоть до полной ее элиминации [114].

В связи с этим провели дополнительный опыт совместного применения дезинфицирующих средств (ProfiClean Iodine и «Лорена» (лосьон)) на иммунизированных ассоциированной инактивированной вакциной против маститов коровах. Полученные результаты по показателю заболеваемости привитых и непривитых животных показали эффективность совместного применения ассоциированной инактивированной вакцины и ProfiClean Iodine на 78,0% и ассоциированной инактивированной вакцины и «Лорена» (лосьон) на 89,0%.

6 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Маститы коров – одна из острых проблем промышленного молочного скотоводства. Заболевание возникает в любое время года и причиняет значительный экономический ущерб, который состоит из преждевременной выбраковки и снижения продуктивности коров, ухудшения санитарного качества молока и других проблем.

Борьбу с маститами в хозяйствах необходимо проводить комплексно, начиная с обследования сельскохозяйственного предприятия и выяснения причин возникновения болезни. Если технические неполадки в доильном оборудовании, несоблюдение правил машинного доения, неполноценное кормление устранить проще, то избавиться от инфекционной причины заболевания намного сложнее, тем более что бактерии обладают способностью передаваться от одного животного другому в течение короткого периода времени и вызывать массовые маститы коров. Усовершенствованные нами мероприятия нацелены на устранение одной из основных причин мастита – микробного фактора. Мероприятия выражаются в применении дезинфицирующего средства с эффективным и пролонгированным антисептическим действием, ассоциированной инактивированной вакцины, направленной на повышение резистентности организма животного к кокковым инфекциям и модифицированного диско-диффузионного метода, разработанного для выявления устойчивых штаммов возбудителей к применяемым в хозяйствах комплексным антимикробным препаратам.

7 ВЫВОДЫ

1. Маститами различных форм в течение календарного года переболевает больше половины коров, так в двух обследованных нами хозяйствах заболевание было выявлено у 68,5% и 68,7% животных. Мастит в субклинической форме встречается чаще, чем в клинической. Наиболее высокое превышение отмечено в трех хозяйствах – в 2,5, 3,3 и 5,9 раз соответственно.

2. Проведенные исследования показали, что патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, способные вызвать воспаление тканей молочной железы, присутствуют в 57,2 % случаев (721 культура из 1260 проб). Второй причиной является неисправность доильного оборудования и нарушение правил машинного доения, приводящие к механическим травмам кожи и слизистой оболочки сосков вымени.

3. В 87 % случаев возбудителями инфекционных маститов у коров в обследованных животноводческих предприятиях Вологодской области являются представители кокковой микрофлоры: *S. aureus* – 54,7 %, *S. agalactiae* – 36,7%, *S. dysgalactiae* – 26,7% случаев.

4. Модифицирован диско-диффузионный метод. Полученные при его использовании результаты коррелируют с результатами при использовании стандартных дисков, что является сопоставимым результатом. Так, средний диаметр ЗЗР *S. aureus* и *E. coli* к стандартным дискам составил $20,8 \pm 2,72$ и $17,4 \pm 2,27$ мм, к дискам с комплексными препаратами – $26,2 \pm 1,81$ и $22,4 \pm 2,27$ мм соответственно.

5. Анализ чувствительности возбудителей маститов коров (*S. aureus*, *S. dysgalactiae*, *E. coli*) показал различие зон задержек роста микроорганизмов к комплексным антибактериальным препаратам. Коэффициенты вариации указанных культур отличались как по хозяйствам, так и по препаратам. По хозяйствам коэффициент варьировал к *S. aureus* от 12,2 до 19,1%, к *S. dysgalactiae* от 11,8 до 56,1%, к *E. coli* от 16,2 до 29,3%. По препаратам коэффициент варьировал к *S. aureus* от 8,2 до 26,3%, к *S. dysgalactiae* от 20,7 до 89,2%, к *E. coli* от 11,3 до 54,3%.

6. Использование дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) для обработки сосков вымени коров после доения позволяет снизить бактериальную обсемененность кожи – в 9,7 и в 15,4 раза и заболеваемость коров маститами в 1,5 раза.

7. Вакцина против маститов коров ассоциированная инактивированная безвредна при двукратном введении в дозе 5,0 см³ для животных в сухостойный период. Испытание эффективности препарата в двух хозяйствах Вологодской области позволило снизить заболеваемость коров маститами в 4,0 и 3,3 раза соответственно. При этом у вакцинированных коров в пробах молока патогенная кокковая микрофлора не обнаружена и отмечено нарастание титра антител к антигенам (от 1:8 до 1:128). У животных контрольных групп выделяли патогенные кокковые микроорганизмы, титр антител изменялся незначительно (от 1:0 до 1:16).

8. Сравнительные испытания схем борьбы с маститами коров показали значительное преимущество совместной комбинации неспецифической (дезинфицирующее средство «Лорена» (лосьон)) и специфической (вакцина против маститов коров ассоциированная инактивированная) профилактики, эффективность которой составила 89,0%.

8 ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Модифицированный нами диско-диффузионный метод определения чувствительности микроорганизмов может быть использован в ветеринарных лабораториях при изучении резистентности циркулирующих микроорганизмов к комплексным антимикробным препаратам.

Испытанное с положительным эффектом дезинфицирующее средство «Лорена» (лосьон) для обработки сосков вымени коров после доения может быть рекомендовано для профилактики инфекционных маститов в животноводческих хозяйствах. Разработаны и утверждены: научный отчет по результатам лабораторных и производственных испытаний дезинфицирующего средства «Лорена», «Методические рекомендации по доклиническому испытанию лосьона «Лорена» для гигиенической обработки сосков вымени коров после доения» (Приложение № 5, № 6).

Разработана и апробирована в ветеринарной практике ассоциированная инактивированная вакцина против маститов коров из кокковой микрофлоры. Разработана и утверждена инструкция по ее применению и СТО по вакцине против маститов коров ассоциированной инактивированной (Приложение № 7 и № 8).

9 РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

С целью снижения заболеваемости коров маститами различных форм и получения молока высокого санитарного качества разработать непосредственно в хозяйстве комплекс мероприятий по борьбе с маститом, включающий в себя:

- определение чувствительности микрофлоры, вызывающей маститы у коров, к различным, в том числе комплексным антимикробным препаратам, не менее двух раз в год;

- лечение и запуск коров проводить с учетом чувствительности выделенных изолятов именно к применяемым в хозяйстве комплексным препаратам;

- обработку сосков вымени коров после доения дезинфицирующими средствами, сохраняющими длительно свое бактерицидное действие;

- использовать специфическую профилактику с учетом состава вакцины и циркулирующих штаммов микроорганизмов в хозяйстве;

- дисциплину и профессионализм операторов машинного доения;

- своевременный ремонт доильного оборудования, его дезинфекцию.

10 СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абаев, И.В. Сравнение гемолитической активности и генов гемолитических токсинов клинических штаммов *Staphylococcus aureus*, изолированных на территории РФ / И.В. Абаев, Ю.П. Скрябин, О.В. Коробова [и др.]. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т. 64. № 5. – С. 294-298.
2. Авдеенко, А.В. Морфобioхимические показатели молока у коров при заболеваниях молочной железы / А.В. Авдеенко, Д.В. Кривенко // Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития: мат. межд. научн.-пр. конф., сб. статей – Саратов, 2010. – С. 11-12.
3. Авдудевская, Н.Н. Антибиотикотерапия мастита коров / Н.Н. Авдудевская // РЖ Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2021. – № 2 (38). – С. 162-168.
4. Авдудевская, Н.Н. Золотистый стафилококк – один из главных возбудителей мастита лактирующих коров / Н.Н. Авдудевская // РЖ Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2020. – № 2 (34). – С. 245-249.
5. Авдудевская, Н. Н. Усовершенствование мероприятий по борьбе с маститами коров в сельскохозяйственных предприятиях / Н. Н. Авдудевская, Л. К. Семина. // Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного комплекса регионов: Сборник докладов IV Международной научно-практической конференции. – Курск: ФГБНУ "Курский федеральный аграрный научный центр", 2022. – С. 457 – 461.
6. Алиев, А.Ю. Эффективный метод лечения мастита у коров / А.Ю. Алиев // РЖ Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2020. – № 2 (34). – С. 263-267.
7. Амануллин, Р.А. Эффективность применения вакцины Ваколин против маститов коров / Р.А. Амануллин, Т.Н. Грязнева // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2016. – № 4. – С. 44-47.
8. Андрианов, Е.А. Машинное доение и маститы коров / Е.А. Андрианов, А.М. Андрианов, А.А. Андрианов // Актуальные направления научных исследований XXI века: теория и практика. – 2014. – Т. 2. № 5-3 (10-3). – С. 179-182.
9. Анюлис, Э. Диагностика и лечение скрытых маститов у коров / Э. Анюлис, С. Апертас // Мат. межд. научн.-пр. конф. по акушерству, гинекологии и биотехнологии репродукции: сб. статей. – Санкт-Петербург, 2001. – С. 12-13.
10. Артемьева, О.А. Антибиотикорезистентность штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных из молока высокопродуктивных коров / О.А. Артемьева, Д.А. Никанова, Е.Н. Котковская [и др.]. // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51. № 6. – С. 867-874.
11. Ашенбреннер, А.И. Экспериментальное изучение противовоспалительной активности нового комплексного противомаститного препарата / А.И. Ашенбреннер, Ю.А. Хаперский, Н.Ю. Беляева, [и др.]. // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2016. – № 10 (144). – С. 122-126.

12. Баймишева, Д.Ш. Влияние типа доильных установок на продуктивность и качественные показатели молока коров черно-пестрой породы: специальность 06.02.10 «Частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства»: дисс. на соиск. уч. ст. канд. сельскохоз. наук / Баймишева Дамиля Шарипулловна; ФГБОУ ВПО «Самарская гос. с/х академия». — Усть-Кинельский, 2012. — 127 с.

13. Балым, Ю. П. Распространение маститов у коров, разработка средств их профилактики и терапии с использованием йодофоров: специальность 16.00.03 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с митотоксикологией и иммунология»: дисс. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук / Балым Юрий Петрович; Украин. акад. аграр. наук. — Харьков, 2008. — 184 с.

14. Батраков, А.Я. Меры профилактики болезней вымени у коров / А.Я. Батраков, С.В. Васильева, С.В. Винникова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. — 2014. — № 2 (26). — С. 80-84.

15. Белкин, Б. Л. Мастит коров / Б. Л. Белкин, В. Ю. Комаров, В. Б. Андреев. — Германия: Lap Lambert Acad. Publ., 2015. — 112 с.

16. Белкин, Б.Л. Опыт подготовки вымени коров к доению / Б.Л. Белкин, Л.А. Черепахина, Е.Н. Скребнева // Материалы международной научно-практической конференции «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии», посвященной 100-летию со дня рождения академика ВАСХНИЛ А.А. Полякова // Сборник научных трудов ВНИИВСГиЭ / Москва. — 2004. — Т. 116. — С.322 – 323.

17. Белкин, Б.Л. Мастит коров: этиология, патогенез, диагностика, лечение и профилактика / Б.Л. Белкин, Л.А. Черепахина, В.М. Сотникова, Т.В. Попкова, Е.Н. Скребнева. — Изд-во: Орел ГАУ — 2007. — С. 215.

18. Белкин, Б.Л. О бактерицидной активности лактома тетраметилендиэтилентетрамина в отношении патогена мастита коров / Б.Л. Белкин, Л.А. Черепахина, В.Н. Баркова, С.В. Андреев // Вестник Орловского государственного аграрного университета. — 2012. — № 1 (34). — С. 101-102.

19. Белобороденко, М.А. Состояние организма коров при воспалении молочной железы и озонотерапия в сочетании с голубой глиной / М.А. Белобороденко, Ю.А. Писарева, А.М. Белобороденко, Т.А. Белобороденко, И.А. Родин // Вестник Государственного аграрного университета Северного Зауралья. — 2017. — № 2 (37). — С. 12-17.

20. Брылин, А.П. Программа по борьбе с маститами и улучшению качества молока /А.П. Брылин, А.В. Бойко // Ветеринария. — 2006. — № 5. — С. 9-11.

21. Брюхова, И.В. Изучение влияния препарата "Прималакт" на организм и молочную железу лактирующих коров / И.В. Брюхова, Н.Т. Климов, Н.А. Хохлова, Ю.А. Чаплыгина // Аграрный вестник Урала. — 2020. — № 3 (194). — С. 49-56.

22. Бурова, Л.А. Основные факторы патогенности *Streptococcus pyogenes* / Л.А. Бурова, А.А. Тотолян // Инфекция и иммунитет. — 2022. — Т. 12. № 1. — С. 33-50.

23. Васильев, В.Г. Лечение коров, больных маститом / В.Г. Васильев // Ветеринария. – 1984. – № 7. – С. 52 – 53.
24. Вареников, М.В. Профилактика мастита – высокая рентабельность молочного производства / М.В. Вареников, В.В. Ташланов, И.А. Морозов // Молочное и мясное скотоводство. – 2014. – № 8. – С. 32-35.
25. Варфоломеева, К.В. Современный ассортимент противомаститных лекарственных средств в ветеринарии / К.В. Варфоломеева, Н.А. Бузмакова, Т.В. Бойко // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2020. – № 4 (13). – С. 123-142.
26. Воробьева, Н. В. Теоретическое и практическое обоснование новых подходов профилактики и лечения бактериальных маститов у коров в сухостойный период: спец. 16.00.03 «Вет. микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология»: дисс. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук / Воробьева Нелли Васильевна; ФГОУ ВПО «Курская гос. с/х академия им. профессора И.И. Иванова». – Курск, 2006. – 151 с.
27. Гавриков, А.В. Комбинированные инъекционные препараты антибиотиков / А.В. Гавриков // Ветеринария. – 2013. – № 6. – С. 14 – 20.
28. Ганиев, А. А. Проблема маститов коров и экологически безвредный метод их лечения / А. А. Ганиев, М. Г. Зухрабов, И. В. Шамсутдинова. // Материалы межд. научно-практической конф. «Проблемы акушерско-гинекологической патологии и воспроизводства сельскохозяйственных животных», посвященной 100-летию А.П. Студенцова. – Казань: Сборник, 2003. – С. 104-108.
29. Гераймович, О.А. Профилактика и лечение мастита молочных коров / О.А. Гераймович, А.Ю. Киселев, А.К. Мамахай // Инновации в сельском хозяйстве. – 2019. – № 4 (33). – С. 124-131.
30. ГОСТ 26670-91 Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов. – Москва: Стандартинформ, 1993. 12 с.
31. ГОСТ 30347-2016 Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus*. – Москва: Стандартинформ, 2016. 14 с.
32. ГОСТ 6722-75 Картон фильтровальный технический. Технические условия. – Москва: Стандартинформ, 1993. 6 с.
33. Гончаров, В.П. Профилактика и лечение маститов у животных / В.П. Гончаров, В.А. Карпов, И.Л. Якимчук. – М.: Россельхозиздат, – 1980. – 170 с.
34. Горбатов, А.В. Факторы вирулентности стрептококков и стафилококков и специфическая профилактика маститов у коров / А.В. Горбатов, Н.А. Соколова, М.Н. Лощинин // РЖ Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2019. – № 4 (32). – С. 428-433.
35. Давлатмуродов, Т. М. Роль патогенов в этиологии мастита коров и рациональные способы его терапии: спец. 16.00.03 «Вет. микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология»: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук / Давлатмуродов Тоирджон Мирзоалиевич; Таджикский аграрный универ. и научно-исслед. вет. инст. академии с/х наук Республики Таджикистан. – Душанбе, 2004. – 28 с.

36. Дегтярь, А.С. Причины возникновения мастита у коров и его профилактика / А.С. Дегтярь, Р.В. Рубашкин // Известия Кабардино-Балкарского государственного аграрного университета им. В.М. Кокова. – 2018. – № 4 (22). – С. 33-36.
37. Демидова, Л. Д. Ветеринарно-санитарные аспекты борьбы с маститом коров и повышение санитарного качества молока: спец. 16.00.03, 16.00.06 «Вет. микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология»: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. доктора вет. наук / Демидова Лидия Дмитриевна; ВНИИ вет. санитарии, гигиены и экологии. – Москва, 1997. – 49 с.
38. Демидова, Л.Д. Новые средства для повышения санитарного качества молока / Л.Д. Демидова, В.М. Сотникова // Вет. консультант. – 2002. – № 10. – С. 12-13.
39. Дмитренко О.А. Токсины золотистого стафилококка и их токсины: роль в патогенезе и профилактике стафилококковой инфекции / О.А. Дмитренко // Молекулярная медицина. – 2016. – Т. 14. – № 4. – С. 10-19.
40. Долганов, В.А. Этиология мастита у коров / В.А. Долганов, О.С. Епанчинцева, Л.В. Карабанова // Россия молодая: передовые технологии – в промышленность. – 2013. – № 3. – С. 27-29.
41. Домотов, В.В. Диагностика и лечение мастита у коров / В.В. Домотов, С.Л. Васильева, К.Р. Нифонтов // Академический вестник Якутской государственной сельскохозяйственной академии. – 2020. – № 8 (13). – С. 12-17.
42. Ефименко, Т.А. Современное состояние проблемы антибиотикорезистентности патогенных бактерий / Т.А. Ефименко, Л.П. Терехова, О.В. Ефременкова // Антибиотики и химиотерапия. – 2019. – Т. 64. – № 5-6. – С. 64-68.
43. Завгородняя, Е.Ф. Усовершенствование способа идентификации энтеробактерий при диагностике дисбактериоза кишечника / Е.Ф. Завгородняя, В.А. Шмыленко // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2018. – № 34 (34). – С. 71-77.
44. Загороднев, Ю.П. Влияние факторов среды на заболеваемость коров маститом / Ю.П. Загороднев, Н.П. Смагин, Л.К. Попов // Наука и образование. – 2020. – Т. 3. № 1. – С. 76.
45. Золотухин, С.Н. Использование бактериофагов для ускоренной индикации и идентификации патогенных энтеробактерий в объектах ветеринарного надзора / С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // РЖ Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2016. – № 3 (19). – С. 51 – 56.
46. Ивашура, А. И. Мастит коров: (Диагностика, санитарно-технологическая оценка молока, лечение, генетическая профилактика): спец. 16.00.06 «Вет. санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза»: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. доктора вет. наук / Ивашура Анатолий Иванович; ВНИИ ветеринарной санитарии. – Москва, 1990. – 49 с.
47. Иванюк, В.П. Этиологические аспекты и разработка лечебных приемов при остром катаральном мастите у коров / В.П. Иванюк, Г.Н. Бобкова //

Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2020.– № 1 (81). – С. 136-139.

48. Ивченко, В. М. Эпизоотология и этиология маститов коров на крупных молочных фермах и система противоэпизоотических мероприятий: спец. 16.00.03 «Вет. микробиология, вирусология, эпизоотология, микология и иммунология»: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. доктора вет. наук / Ивченко Василий Моисеевич; Ленинградский ветеринарный институт. – Ленинград, 1991. – 39 с.

49. Ильина А. И. Болезни вымени у коров. / А. И. Ильина, А. И. Поспелов. Л.: Колос, 1968. – 142 с.

50. Ильясов, Ю.Ю. Геномный полиморфизм *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* / Ю.Ю. Ильясов, А.В. Дмитриев // Медицинский академический журнал. – 2012. – Т. 12. № 2. – С. 90-96.

51. Иноземцев, В. П. Квантовая терапия коров при воспалительных заболеваниях матки и молочной железы: спец. 16.00.07 «Акушерство и искусственное осеменение»: дисс. на соиск. уч. ст. доктора вет. наук / Иноземцев Валерий Павлович; Воронежский государственный аграрный университет им. К.Д. Глинки. – Воронеж, 1999. – 362 с.

52. Исакова, М.Н. Микробиологический фон при воспалении молочной железы у высокопродуктивных коров / М.Н. Исакова, М.В. Ряпосова, Н.А. Безбородова, О.А. Брицина // РЖ «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – № 2 (22). – 2017. С. 63-67.

53. Исакова, М.Н. Изменения показателей иммунного статуса коров на фоне применения противомаститной вакцины / М.Н. Исакова, М.В. Ряпосова, О.Ю. Опарина // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2019.– № 1 (6). – С. 91-95.

54. Каменская, Т.Н. Антимикробная активность и токсичность средства для обработки вымени коров после доения «Ветин-йод» / Т.Н. Каменская, С.А. Лукьянчик, О.В. Хендогина, А.А. Богуш, Е.И. Павлова // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. – 2018. – № 1. – С. 75-78.

55. Камышанов, А. С. Мастит у высокопродуктивных молочных коров в период лактации и их воспроизводительная функция: спец. 16.00.07 «Акушерство и искусственное осеменение»: дисс. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук / Камышанов Александр Сергеевич; Воронежский государственный аграрный университет им. К.Д. Глинки. – Воронеж, 2000. – 101 с.

56. Капустин, А. В. Этиологическая структура и специфическая профилактика клостридиозов крупного рогатого скота и овец: спец. 06.02.02 «Вет. микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология»: дисс. на соиск.уч.ст. докт. биол. наук / Капустин Андрей Владимирович; ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. – Москва, 2019. – 288 с.

57. Картушина, А. С. Совершенствование метода терапии коров при субклиническом мастите: спец. 06.02.06 «Вет. акушерство и биотехника репродукции животных»: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук /

Картушина Анна Сергеевна; ФГБОУ ВПО Донской гос. агр. универ. – пос. Персиановский, 2015. – 15 с.

58. Кирби, М. М. Испытание на диффузию диска / М. М. Кирби. // Wikipedia the free encyclopedia: [сайт]. – URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Kirby_Bauer.

59. Климов, Н.Т. Малозатратная и эффективная методика дифференциации кокковой микрофлоры при мастите у коров / Н.Т. Климов, Д.М. Пониткин, В.А. Париков, В.И. Слободяник, Е.Е. Шевелева // Ветеринарная патология. – 2008. – № 1 (24). – С. 45 – 47.

60. Климов, Н.Т. Изменение показателей естественного иммунитета и профиля цитокинов коров при заболевании субклиническим и клинически выраженным маститом / Н.Т. Климов, Л.Ю. Сашнина, В.И. Зимников // Постгеномные технологии: от теории к практике. Сборник трудов V Международной научной конференции. – Воронеж: Сборник, 2019. – С. 176-178.

61. Климов, Н.Т. Мастит коров. Симптомы, профилактика и лечение / Н.Т.Климов // БИО. – 2020. – № 4 (235). – С. 16 – 19.

62. Климова, Л.А. Опыт применения вакцины Стартвак в ООО "Некрасово – 1" Свердловской области / Л.А. Климова, М.В. Ряпосова, И.А. Шкуратова, М.Н. Тарасенко, М. Тарасов, Н.А. Павлова // Ветеринария. – 2014. – № 9. – С. 34 – 37.

63. Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». – Утв. Расширенным совещанием Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии, 2015. – 162 с.

64. Козлов, А.Н. Машинное доение и аспекты профилактики заболеваний коров маститом / А.Н. Козлов, В.И. Шатруков, П.А. Плескачев, А.С. Романов // АПК России. – 2020. – Т. 27. – № 2. – С. 327 – 332.

65. Комаров, В.Ю. Мастит коров: комплексная борьба с патологией / В.Ю. Комаров // Инновационные технологии и технические средства для АПК. Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. Под общей редакцией Н. И. Бухтоярова, Н. М. Дерканосовой, А. В. Дедова и др. – Воронеж: Сборник, 2015. – С. 105 – 108.

66. Комаров, В.Ю. Санитарная обработка вымени коров – важное звено в борьбе с маститом / В.Ю. Комаров, Б.Л. Белкин // РЖ Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2016. – № 3 (19). – С. 75 – 77.

67. Комаров, В.Ю. Диагностика мастита и оценка эффективности проводимой терапии / В.Ю. Комаров, Б.Л. Белкин // Инновации в АПК: проблемы и перспективы. – 2016. – № 1 (9). – С. 97 – 102.

68. Комаров, В.Ю. Использование диоксида хлора для преддоильной обработки вымени коров и разработка средства для последоильной обработки сосков вымени коров / В.Ю. Комаров // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2015. – № 111. – С. 874 – 885.

69. Кононенко, К.Н. Лечебно-профилактические мероприятия при маститах коров / К.Н. Кононенко // Закономерности развития региональных агропродовольственных систем. – 2021. – № 1. – С. 39 – 42.
70. Кононенко, К.Н. Изучение микробного пейзажа содержимого секрета молочной железы при маститах у коров / К.Н. Кононенко, А.А. Зубенко, Л.Н. Фетисов, Н.О. Андрос, А.Е. Святогорова // Ветеринария Северного Кавказа. – 2021. – № 2. – С. 32 – 37.
71. Кононенко, К.Н. Изучение микробного пейзажа содержимого секрета молочной железы при маститах у коров / К.Н. Кононенко, Л.Н. Фетисов, Н.О. Андрос // Ветеринария Северного Кавказа. – 2022. – № 3. С. 22 – 27.
72. Кононенко, К.Н. Новый препарат для профилактики субклинического мастита у коров в сухостойный период / К.Н.Кононенко // Островские чтения. – 2020.– № 1. – С. 96 – 98.
73. Конопельцев, И.Г. Воспаление вымени у коров / И.Г. Конопельцев, В.Н. Шулятьев . – 41а. – Санкт-Петербург: СПбГАВМ, 2010. – 353 с.
74. Кошелева, Д.Д. Современные методы лечения скрытого мастита у коров / Д.Д. Кошелева // Молодежь и наука. – 2022.– № 3.
75. Куделина, И.А. Профилактика инфекционного мастита у дойных коров на промышленной ферме учхоз «Краснодарское» / И.А. Куделина, И.Н. Тузов. Научное обеспечение агропромышленного комплекса. Сборник статей по материалам X Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 120-летию И. С. Косенко. Отв. за вып. А. Г. Кощаев. – Краснодар: Кубанский гос. агр. универ. имени И.Т. Трубилина, 2017. – С. 223-224.
76. Кузьмин, Г.Н. Инфекционный мастит коров / Г.Н. Кузьмин // монография. – Воронеж, 2004. – 145 с.
77. Кузьмин, В.А. Опыт применения зостерина и энзибиотикавицинала в терапии коров, больных маститом / В.А. Кузьмин, О.Р. Полякова // Международный вестник ветеринарии. – 2017. – № 4. – С. 82 – 86.
78. Ладанова, М.А. О создании препарата специфической профилактики мастита коров / М.А. Ладанова, О.Б. Новикова // Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания. Тезисы докладов Второй Всероссийской научной конференции с международным участием. – Иркутск: ИГУ, 2022. – С. 143-145.
79. Ларионов, Г.А. Динамика поражения четвертей вымени коров при субклиническом мастите в период лактации / Г.А. Ларионов, Л.М. Вязова, О.Н. Дмитриева // Аграрный вестник Урала. – 2015. – № 4 (134). – С. 45 – 49.
80. Ларионов, Г.А. Сравнительный анализ применения средств для обработки вымени в профилактике маститов и повышении качества молока коров / Г.А.Ларионов, Е.С. Ятрушева, О.Ю. Чеченешкина // Аграрный вестник Урала. – 2021.– № 7 (210). – С. 66 – 74.
81. Ларионов, Г.А. Влияние обработки вымени на уменьшение микробной обсемененности и количества соматических клеток в молоке коров / Г.А.Ларионов, В.Г.Семенов, О.Ю. Чеченешкина, Н.В. Щипцова // Молочнохозяйственный вестник. – 2019. – № 4 (36). – С. 67 – 78.

82. 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 аграрной науки. – 2020. – № 6 (87). – С. 61 – 65.
83. Левашов, Е. Амоксигард против микробной резистентности / Е. Левашов // Животноводство России. – 2015. – № 5. – С. 33.
84. Магомедов, А.С. Экономический ущерб от субклинического мастита коров / А.С. Магомедов, А.Ю. Алиев // Горное сельское хозяйство. – 2018. – № 2. – С. 102 – 107.
85. Макарова, Н.В. Молекулярно-генетическая оценка коров татарстанского типа по резистентности к маститу: спец. 06.02.07 «Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных»: дисс. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук / Макарова Наталья Владимировна; ФГБОУ ВО «Казанская гос. академия вет. медицины им. Н.Э. Баумана». – Казань, 2019. – 129 с.
86. Маринин Е.А. Биометрическая обработка лабораторных, клинических и эпизоотологических данных. Методическое руководство / Е.А. Маринин. – Новочеркасск: СКЗНИВИ, 1980. – 38 с.
87. Мартыненко, Я.Н. Токсигенные свойства как фактор патогенности кишечной палочки / Я.Н. Мартыненко, В.В. Кремьянский // Вопросы науки и образования: теоретические и практические аспекты. Материалы Международной (заочной) научно-практической конференции. Под общей редакцией А.И. Вострецова. – Прага, Чехия: Мир науки, 2017. – С. 151-156.
88. Матренов, И.С. Изучение антибиотикорезистентности возбудителей мастита у коров при микст-инфекции / И.С. Матренов, Е.С. Красникова, В.В. Павленко // Агрофорсайт. – 2018. – № 4 (16). – С. 8 – 11.
89. Мелихов, С.В. Применение комплексных антибактериальных препаратов в птицеводстве и животноводстве / С.В. Мелихов, В.Н. Родионов // Ветеринария Кубани. – 2012. – № 6. – С. 6 – 8.
90. Методические рекомендации 4.2.0220-20. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы санитарно-бактериологического исследования микробной обсемененности объектов внешней среды. – Утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020. – 15 с.
91. Методические рекомендации Диагностика, прогнозирование течения и лечение острых кишечных инфекций условно-патогенной и смешанной этиологии. – Утв. М-вом здравоохранения РСФСР, 1990. – 27 с.
92. Методические рекомендации по оценке качества моющих и дезинфицирующих средств, предназначенных для санитарной обработки оборудования на животноводческих фермах и молочных комплексах. – М.: ВАСХНИИЛ, – 1981. – 103 с.
93. Методические рекомендации по микробиологическому исследованию молока и секрета вымени коров для диагностики мастита / В.М. Карташова, Л.А. Таранова. – Москва: Россельхоакадемия, 1994. – 35 с.

94. Методические указания по бактериологическому исследованию молока и секрета вымени коров. – Утв. Главным управлением ветеринарии МСХ СССР, 1983. – 14 с.

95. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. МУК 4.2. 1890-04. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.

96. Методические указания 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллез, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды. – М: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. – 110 с.

97. Мирончик, С.В. Современные тенденции в лечении коров, больных маститом / С.В. Мирончик, Н.В. Бабаянц // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2021.– № 24-2. – С. 277 – 285.

98. Мирюгина, Р.Н. Характеристика биологических свойств *Staphylococcus aureus* / Р.Н. Мирюгина // Университетская медицина Урала. – 2017. – Т. 3. – № 2 (9). – С. 76 – 78.

99. Михалёва, Т.В. Антибиотикорезистентность: современные подходы и пути преодоления (обзор) / Т.В. Михалёва, О.И. Захарова, П.В. Ильясов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2019. – Т. 55.– № 2. – С. 124 – 132.

100. Михалишин, В.В. Адьюванты и их использование / В.В. Михалишин, Н.С. Мамков // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2008. – Т. 6. – С. 340 – 371.

101. Мищенко, А.В. Проблема везикулярных поражений кожи вымени коров / А.В. Мищенко, В.А. Мищенко, Р.А. Кривонос, Э.А. Аншба, О.Ю. Черных // Ветеринария Кубани. – 2014.–№ 6. – С. 6 – 8.

102. Морозов, А.М. О возможности применения Повидон-йода в хирургической практике / А.М. Морозов, М.А. Беляк // Амбулаторная хирургия. – 2021. – Т. 18. № 2. – С. 68 – 76.

103. Мохнач, В.О. Соединения йода с высокополимерами, их микробные и лечебные свойства / В.О. Мохнач. JL: АН СССР, 1962. – 176 с.

104. Мудрак, А. А. Характеристика некоторых методов и средств профилактики и терапии маститов у коров / А. А. Мудрак, Б. В. Гаврилов. // Вестник научно-технического творчества молодежи Кубанского ГАУ. Сборник статей по материалам научно-исследовательских работ в 4 т. – Краснодар: Кубанский гос. аграрный универ. им. И.Т. Трубилина, 2018. – С. 51-55.

105. Мутовин, В.И. Борьба с маститами коров / В.И. Мутовин. – М.: Сельхозиздат, 1963. – 159 с.

106. Наставление по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров. – Департамент ветеринарии. – 30.03.2000 г. – № 13-5-2/1948.

107. Науменко, З.С. Устойчивость *Staphylococcus aureus* к антибактериальным препаратам / З.С. Науменко, Л.В. Розова // Гений ортопедии. – 2007. – № 2. – С. 36 – 38.

108. Никульшина, Ю. Б. Комплексный метод лечения различных форм мастита коров: спец. 16.00.07 «Вет. акуш. и биотехника репродукции животных»:

дисс. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук / Никульшина Юлия Борисовна; Ульяновская гос. сельхоз. академия. – Саратов, 2004. – 168 с.

109. Новиков, В.В. Профилактика мастита высокопродуктивных коров в условиях ОАО "Агрообъединение "Кубань" / В.В. Новиков, А.И. Околелова, Б.В. Гаврилов, И.А. Родин, А.В. Седов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2019.– № 3 (77). – С. 224 – 227.

110. Нуртдинова, Л.Г. Анализ маститной ситуации в хозяйствах зоны Южного Урала / Г. Л. Нуртдинова // Всесоюзная научная конференция «Проблемы диагностики, терапии и профилактики незаразных болезней сельскохозяйственных животных в промышленном животноводстве». – Воронеж: Всесоюзный научно-исследовательский институт незаразных болезней животных, 1986. – С. 42.

111. Павленко, О. Б. Морфофункциональное обоснование применения пробиотиков при субклиническом мастите у коров: спец. 06.02.06 «Вет. акуш. и биотехника репродукции животных»: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. докт.биол. наук / Павленко Ольга Борисовна; Сев.-Кавказ. зон. науч.-исслед. вет. ин-т РАСХН. – Новочеркасск, 2016. –45 с.

112. Парамонова, Н.Ю. Результаты территориального мониторинга антибиотикорезистентности кишечной палочки / Н.Ю. Парамонова, С.В. Фириченкова // Вестник ветеринарии. – 2011. – № 4 (59). – С. 78 – 79.

113. Пархоменко, Ю.С. Анализ эффективности антимикробных препаратов в отношении бактериальных возбудителей маститов коров / Ю.С. Пархоменко, О.А. Манжурина, Е.В. Семенова, И.С. Перепелкина, И.Н. Рожкова, К.О. Копытина // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2020. – № 2 (11). – С. 133 – 142.

114. Пеперс, С. Вакцинация – современный способ профилактики маститов / С. Пеперс // БИО. – 2018. – № 9 (216). – С. 12 – 15.

115. Племяшов, К.В. Опыт применения препарат «Скинлаиф» для обработки сосков вымени после доения в хозяйствах Ленинградской области / К.В. Племяшов, А.В. Дьяченко, Е.А. Корочкина // Эффективное животноводство. – 2016. – № 2 (123). – С. 20.

116. Плященко С.И., Сидоров В.Т. Естественная резистентность организма животных. Л., 1979. – 184 с.

117. Поболелова, Ю.И. Идентификация патотипов и генов антибиотикорезистентности музейных штаммов диареогенных *E.coli* / Ю.И. Поболелова, С.П. Яцентюк // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко. – 2018. – Т. 80.– № 1. – С. – 284 – 290.

118. Подрез, В.Н. Влияние санитарной обработки вымени на микробную обсемененность сосков и качество молока / В.Н. Подрез, М.А. Лытина, С.Л. Карпеня, Ю.В. Шамич, А.М. Карпеня // Зоотехническая наука Беларуси. – 2021. – Т. 56. № 2. – С. 169 – 177.

119. Подрез, В.Н. Гигиеническая защита сосков вымени в профилактике заболеваемости коров маститом / В.Н.Подрез, М.А. Лытина // Ученые записки

учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2021. – Т. 57.– № 1. – С. 108 – 112.

120. Полосенко, О.В. Сравнительный анализ питательных сред для определения химических свойств энтеробактерий / О.В. Полосенко, А.П. Шепелин // Бактериология. – 2020. – Т. 5.– № 1. – С. 41 – 47.

121. Попов, Н.И. Ветеринарная дезинфекция на службе страны / Н.И. Попов, В.В. Ивановцев, Г.Д. Волковский и др. // Ветеринария. – 2005. – № 10. – С. 11 – 14.

122. Попов, Н.И. Изучение эффективности использования антисептического средства «Ульянка» для обработки вымени коров / Н.И. Попов, В.М. Сотникова, Н.А. Шурдуба, Д.В. Грузнов // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2017. – № 1 (21). – С. 6 – 11.

123. Попов, Л.К. Влияние некоторых факторов внешней среды на заболеваемость коров субклиническими маститами / Л.К. Попов, Ю.Л. Попов // Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии животных: Междунар. координац. совещание. – Воронеж, 1997. – С. 419–420.

124. Приступа, Е.Н. Эффективность молочного скотоводства и изменение качества молока при заболевании коров маститом / Е.Н. Приступа, В.В. Швечиков // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2007. – № 5 (141). – С. 135 – 138.

125. Притыченко, А.В. Эффективность обработки вымени коров после доения / А.В. Притыченко, К.И. Скалубо, А.Н. Притыченко, И.М. Рябинкова // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2017. – Т. 53. – № 1. – С. 257 – 259.

126. Притыченко, А.В. Санитарные показатели молока при применении гигиенического средства для обработки вымени коров после доения / А.В. Притыченко, К.И. Скалубо, И.М. Рябинкова, А.Н. Притыченко // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2017. – Т. 53.– № 1. – С. 260 – 263.

127. Прохорова, А.Ю. Сравнительная оценка эффективности разных схем лечения коров с острым катаральным маститом / А.Ю. Прохорова, Н.Г. Курочкина // Молодежь и наука. – 2017.– № 4-1. – С. 58.

128. Прудникова, А. В. Современные методы лечения фибринозного мастита у коров / А. В. Прудникова. // Научное обеспечение агропромышленного комплекса. Сборник статей по материалам 75-й научно-практической конференции студентов по итогам НИР за 2019 год. – Краснодар: Кубанский гос. аграрный университет им. И.Т. Трубилина, 2020. – С. 108-110.

129. Пудовкин, Д. Профилактика мастита у коров в сухостойный период / Д. Пудовкин // Животноводство России. – 2014.– № S1. – С. 33.

130. Рафикова, Л. М. Сравнительная характеристика степени патогенности *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis* при различных способах введения на биологической модели / Л. М. Рафикова, Г. И. Абдуллина, В. А. Кириллова. // Фундаментальные и прикладные научные исследования: актуальные

вопросы, достижения и инновации. Сборник статей победителей V Международной научно-практической конференции: в 4 частях. – Пенза: Наука и Просвещение, 2017. – С. 220–225.

131. Ремизова, Е.В. Иммуногенность экспериментальной ассоциированной вакцины против маститов коров / Е.В. Ремизова, М.Н. Лощинин, А.В. Горбатов, Л.К. Семина, З.А. Скулябина, Н.Н. Авдеевская, Н.А. Соколова, Х.С. Горбатова // Ветеринарная патология. – 2022.– № 1 (79). – С. 56 – 61.

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

133. Родин И.А. Маститы коров: этиология, лечение, профилактика / Монография. Краснодар, 1999. – С. 29 – 102.

134. Рубцов, В.И. Профилактика и лечение мастита у коров / В.И. Рубцов // Ветеринария. – 2006. – № 9. – С. 32 – 36.

135. Рыжакина, Е. А. Оптимизация ветеринарно-санитарных и зоогигиенических условий содержания коров с целью профилактики мастита и получения молока высокого качества в условиях Северо-Западного региона РФ: спец. 06.02.05 «вет. санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза»: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук / Рыжакина Елена Александровна; ГНУ ВНИИВСГЭ Россельхозакадемии и Вол. филиал ГНУ ВИЭВ им. Я.Р. Коваленко Россельхозакадемии. – Москва, 2013. – 25 с.

136. Рысбекова, Ж.Ж. Диагностика и лечение субклинического мастита у коров / Ж.Ж. Рысбекова, Т.Ж. Абдрахманов// Сборник Perspective research and development. – 2021. – С. 183 – 186.

137. Рыщанова, Р.М. Устойчивость к антибиотикам и способность к образованию биопленок золотистого стафилококка, выделенного из молока коров Костанайской области РК / Р.М. Рыщанова, А.М. Мендыбаева, Г.Б. Муканов, П.В. Шевченко, Ж.Ж. Бермухаметов // Инновации и продовольственная безопасность. – 2021. – № 3 (33). – С. 29 – 39.

138. Ряпосова, М.В. Проблема заболеваемости высокопродуктивных коров маститом / М.В. Ряпосова, У.В. Сивкова, М.Н. Исакова // БИО. – 2020. – № 4 (235). – С. 22 – 27.

139. Сафронов, С. Л. Научно-практическое обоснование увеличения производства продукции скота черно-пестрой породы: спец. 06.02.10 «Частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства»: дисс. на соиск. уч. ст. докт. с/х наук / Сафронов Сергей Леонидович; Рос.гос. аграр. ун-т– Москва, 2019. – 304 с.

140. Свириденко, Г.М. Бактерии группы кишечных палочек – основная санитарно-показательная микрофлора молочных продуктов / Г.М. Свириденко // Молочная промышленность. – 2009. – № 6. – С. 73 – 75.

141. Семина, Л.К. Комплекс мероприятий по снижению заболеваемости коров маститом и получению молока высокого санитарного качества: Методические наставления / Л.К. Семина, Т.Г. Ворошилова, Е.А. Рыжакина, З.А. Скулябина, Н.Н. Гороховская. – Вологда – Молочное: ИЦ ВГМХА, 2012. – 36 с.

142. Сёмина, Л.К. К вопросу о сроках вакцинации коров против мастита / Л. К. Сёмина, Е. В. Ремизова, З. А. Скулябина [и др.]. // Наука, образование, инновации: апробация результатов исследований. Материалы Международной (заочной) научно-практической конференции. – Нефтекамск: Научно-изд. центр "Мир науки", 2017. – С. 252 – 256.

143. Сергеева, М.А. Эффективность использования дезинфицирующих средств при производстве качественного сырого молока / М.А.Сергеева, Н.В. Щипцова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2017. – № 6 (152). – С. 122 – 126.

144. Скогорева, А. М. Инфекционные болезни: к вопросу лечения субклинического мастита у коров / А. М. Скогорева, О. А. Манжурина, О. В. Попова. // Ветеринарно-санитарные аспекты качества и безопасности сельскохозяйственной продукции. Материалы IV Международной научно-практической конференции. – Воронеж: Воронежский гос. аграрный университет им. Императора Петра I, 2020. – С. 189 – 191.

145. Скородумов, Д.И. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных / Д.И. Скородумов, В.В. Субботин, М.А. Сидоров, Т.С. Костенко. – 2005. – С. 652.

146. Слободяник, В.И. Иммунологические аспекты физиологии и патологии молочной железы коров / В.И. Слободяник, В.А. Париков, Н.Т. Климов, В.В. Подберезный. – Таганрог: Таганрогский гос. пед. ин-т, 2009. – 375 с.

147. Сотникова, В.М. Изучение эффективности использования йодсодержащего дезинфицирующего средства «Deosan activatepre/post» для обработки сосков вымени до и после доения / В.М. Сотникова, Н.А. Шурдуба, Н.И. Попов, Д.В. Грузнов // РЖ Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2016. – № 3 (19). – С. 40 – 44.

148. Стекольников, А.А. Профилактика мастита у высокопродуктивных коров в ЗАО «Племхоз им. Тельмана» / А.А. Стекольников, М.А. Ладанова, П.С. Анипченко // Международный вестник ветеринарии. – 2017. – № 3. – С. 82 – 85.

149. Степанова, Е.А. Токсикологическая характеристика нового поликомпонентного противомаститного препарата "Мастин" для лечения мастита у коров / Е.А.Степанова, И.И. Кузьминский, А.В. Лиленко, А.А. Богуш, А.Ф.Трофимов // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. – 2018.– № 1. – С. 59 – 62.

150. Стребкова, В.В. Использование метода коагулирования для окончательной идентификации streptococcus agalactiae от других бета-гемолитических стрептококков / В.В. Стребкова, Г.И. Нехаева, Н.А. Рыбина, С.И. Паринова, М.И. Попова // Многопрофильный стационар. – 2017. – Т. 4.– № 1. – С. 22 – 23.

151. Студенцов А.П. Болезни вымени коров. М.: Сельхозгиз, 1952. – 150 с.

152. Темникова, Л. В. Комплексный препарат АСП при мастите коров: спец. 06.02.06 «Вет. акушерство и биотехника репродукции животных»: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук / Темникова, Любовь Владимировна; С.-Петербург. гос. акад. вет. медицины. – Санкт-Петербург, 2012. – 22 с.

153. Терентьева, Н.Ю. Распространение мастита у коров в хозяйствах Ульяновской области / Н.Ю. Терентьева, Б.А. Ермолаев // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 2 (30). – С. 141 – 147.

154. Терлецкий, В.П. Идентификация патогенных бактериальных штаммов золотистого стафилококка в современной профилактической ветеринарии / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, О.Б. Новикова, М.Ш. Гаплаев // Эффективное животноводство. – 2019. – № 2 (150). – С. 50 – 52.

155. Тимаков, А.В. Маститы стафилококковой этиологии и пищевая безопасность молока и молочных продуктов / А.В. Тимаков, Т.К. Тимакова, А.Т. Шмаров // Вестник АПК Верхневолжья. – 2015. – № 4 (32). – С. 56 – 59.

156. Тимаков, А.В. Комплексная терапия больных гнойными формами мастита коров / Тимаков А.В., Тимакова Т.К. // Вестник АПК Верхневолжья. – 2017.– № 3 (39). – С. 18 – 21.

157. Ткачев, М. А. Основные принципы профилактики мастита у коров / М. А. Ткачев, Л. В. Ткачева. // Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства. Материалы национальной научно-практической конференции с международным участием посвященной памяти докт. биол. наук, проф. Е.П. Ващекина. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2021. – С. 187 – 191.

158. Тогобицкая, Д. Р. Совершенствование комплексных лечебно-профилактических мероприятий при мастите коров в условиях Республики Башкортостан: спец. 06.02.06 «Ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных»: дисс. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук / Тогобицкая Диана Ривхатовна; ФГБНУ Башкирский НИИ СХ УФИЦ РАН. – Саратов, 2019. – 155 с.

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

160. Фисенкова, И. В. Разработка и совершенствование методов лечения коров при маститах: спец. 16.00.07 «Вет. акушерство и биотехника репродукции животных»: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук / Фисенкова Инга Вилориковна ; Санкт-Петербург. гос. акад. вет. мед. – Санкт-Петербург, 1997. – 18 с.

161. Халипаев, М.Г. Диагностика и лечение субклинического мастита у коров / М.Г. Халипаев, О.П. Сакидибиров // Проблемы развития АПК региона. – 2019. – № 3 (39). – С. 202 – 206.

162. Хорошевская, Л.В. Проблемы антибиотикорезистентности в современном мире / Л.В. Хорошевская, А.П. Хорошевский, М.И. Сложенкина, А.А. Мосолов // Аграрно-пищевые инновации. – 2021.– № 4 (16). – С. 47 – 54.

163. Чекрышева, В. В. Эффективность инновационной разработки для лечения коров при серозном мастите / В.В. Чекрышева, О.М. Облав // Теоретические и практические аспекты развития современной науки: теория,

методология, практика. Сборник статей по материалам международной научно-практической конференции. Том 1. – Уфа: ООО "НИЦ "Вестник науки", 2019. – С. 37 – 41.

164. Челнокова, М.И. Диагностика и терапия мастита коров / М.И. Челнокова, Н.А. Щербакова // Известия Великолукской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – № 1. – С. 20 – 24.

165. Чепурная, И.М. Проблемы биохимической идентификации клинически значимых видов стрептококков / И.М. Чепурная, О.И. Степанов // Медицинский алфавит. – 2011. – Т. 4. – № 22. – С. 30 – 32.

166. Черепяхина, Л.А. Профилактика инфекционного мастита коров / Л.А. Черепяхина // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2008. – № 2 (11). – С. 31 – 32.

167. Черепяхина, Л.А. Комплексный подход к профилактике мастита у коров / Л.А. Черепяхина // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2009. – № 2 (17). – С. 44 – 45.

168. Черепяхина, Л. А. Использование раствора асепура в преддоильной обработке вымени / Л.А. Черепяхина, А.Г. Миляновский, Б.Л. Белкин. // Зоогигиена, ветеринарная санитария и экология – основы профилактики заболеваний животных. Мат. межд. научно-практической конф., посв. памяти Даниловой А.К., Заслуженного деятеля науки РСФСР, Почетного проф. МВА им. К.И. Скрябина в связи со 100-летием со дня рождения.– Москва: Моск. гос. академия вет. медицины и биотехнологии, 2006. – С. 256-257.

169. Чужебаева, Г.Д. Основные биологические свойства и устойчивость к антибиотикам *staphylococcus aureus* и *streptococcus agalactiae*, выделенных из молока коров Костанайской области Казахстана / Г.Д.Чужебаева, Г.К.Алиева, Б.М. Байменов // Наука и образование. – 2022.– № 1-1 (66). – С. 3 – 12.

170. Шамсиева, Л. В. Ветеринарно-гигиеническое обоснование продуктивных качеств коров на фоне генетических факторов: спец. 06.02.05 и 06.02.07 «Вет. сан., экология, зоогигиена и вет.-сан. экспертиза. Разведение, селекция и генетика с/х животных»: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук / Шамсиева, Лейсан Варисовна; ФГБОУ «Казанская гос. академия вет. медицины Н.Э. Баумана» и в ФГБНУ «Татарский НИИ сельского хозяйства». – Казань, 2018. – 24 с.

171. Шепелин, А.П. Выявление стафилококков при использовании современных импортозамещающих питательных сред / А.П. Шепелин, А.Б. Сергеева, О.В. Полосенко // Бактериология. – 2018. – Т. 3.– № 2. – С. 64 – 71.

172. Шурдуба, Н.А. Определение энтеротоксигенности *S. aureus*, выделенного из молока и молочных продуктов / Н.А. Шурдуба, А.М. Нагорных // РЖ Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2009. – № 1 (1). – С. 20 – 24.

173. Явников, Н.В. Лечение коров, больных маститами / Н.В. Явников // Успехи современной науки. – 2016. – Т. 9. № 11. – С. 68 – 70.

174. Яникина, М.А. Лечение и профилактика маститов у коров / М.А. Яникина // Вестник науки. – 2021. – Т. 5. № 1 (34). – С. 216 – 218.

175. Ярец, Ю.И. Биологические свойства *staphylococcus aureus*– продуцентов биопленки, выделенных из раневого отделяемого пациентов / Ю.И. Ярец, Н.И. Шевченко, В.Н. Мартинков // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2021.– № 2 (26). – С. 134 – 143.
176. Abdelsalam, M. Dissemination of streptococcal pyrogenic exotoxins (spegg) with an is – like element in fish isolates of *streptococcus dysgalactiae* // M. Abdelsalam, T. Yoshida, S. Chen / FEMS Microbiology Letters. – 2010. – Т. 309. №1. – P. 105 – 113.
177. Biggs, A. Mastitis in Cattle. – 2008. – P. 192.
178. Bolgov, A.E. The influence of different factors on resistance of dairy cows to mastitis // A.E. Bolgov, E.P. Karmanova, L.N. Muravja, V.E. Makarova, S.G. Shterkel, N.V. Grishina / Journal of Animal and Feed Sciences. – 2002. – Т. 11. № 2.– P. 237 – 254.
179. Fedota, O.M. Genetics of resistance to clinical mastitis in cows: a review // O.M. Fedota, S.Yu. Ruban, V.I. Bolotin, I.O. Klochko / Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety. – 2015. – Т. 1. № 4. – P. 22 – 27.
180. Fursova, K.K. Exotoxin diversity of *staphylococcus aureus* isolated from milk of cows with subclinical mastitis in central Russia // K.K. Fursova, M.P. Shchannikova, I.V. Loskutova, A.O. Shepelyakovskaya, O.A. Artem'eva, D.A. Nikanova, N.A. Zinovieva, F.A. Brovko, A.G. Laman, A.M. Boutanaev, S.L. Sokolov / Journal of Dairy Science. – 2018. – Т. 101. № 5. – P. 4325 – 4331.
181. Mazurenko, V.R. Biomarkers of subclinical mastitis in the mammary gland of cows // V.R. Mazurenko, O.V. Manchulyak / Biotechnologia Acta. – 2017. – Т. 10. № 4.– P. 53 – 58.
182. Nishiki, I. Cloning and expression of serum opacity factor in fish pathogenic *streptococcus dysgalactiae* and its application to discriminate between fish and mammalian isolates // I. Nishiki, Y. Horikiri, T. Itami, T. Yoshida / FEMS Microbiology Letters. – 2011. – Т. 323. № 1. – P. 68 – 74.
183. Rato, M.G. Virulence gene pool detected in bovine group C *streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae* isolates by use of a group A *s. pyogenes* virulence microarray // M.G. Rato, I. Santos-Sanches, A. Nerlich, R. Bergmann, G.S. Chhatwal, R. Bexiga, S.F. Nunes, C.L. Vilela / Journal of Clinical Microbiology. – 2011. – Т. 49. № 7. – P. 2470 – 2479.
184. Richards, V.P. Comparative genomics and the role of lateral gene transfer in the evolution of bovine adapted *streptococcus agalactiae* // V.P. Richards, P. Lang, P.D. Pavinski Bitar, T. Lefébure, M.J. Stanhope, Y.H. Schukken, R.N. Zadoks / Infection, Genetics and Evolution. – 2011. – Т. 11. № 6.– P. 1263 – 1275.
185. Semina, L.K. Problems and trends in the development of dairy livestock in Russia / L.K. Semina, N.N. Avduevskaya, Z.A. Skulyabina, E.V. Remizova, A.V. Gorbатов // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering. – Krasnoyarsk, Russian Federation.– 2021. – С. 12090.
186. Shome, B.R. Multiplex PCR assay for species identification of bovine mastitis pathogens // B.R. Shome, S. Das Mitra, M. Bhuvana, N. Krithiga, D. Velu, R.

Shome, H. Rahman, S. Isloor, S.B. Barbuddhe / Journal of Applied Microbiology. – 2011. – T. 111. № 6.– P. 1349 – 1356.

187. Suzuki, H. Comparative genomic analysis of the streptococcus dysgalactiae species group: gene content, molecular adaption, and promoter evolution // H. Suzuki, T. Lefébure, P.P. Bitar, P. Lang, M.J. Stanhope, M.J. Hubisz, A. Siepe / Genome Biology and Evolution. – 2011. – T. 3. № 1.– P. 168 – 185.

188. Vélez, J.R. Whole-genome sequence analysis of antimicrobial resistance genes in streptococcus uberis and streptococcus dysgalactiae isolates from Canadian dairy herds // J.R. Vélez, M. Cameron, L.C. Heider, M. Saab, J. Sánchez, J.C. Rodríguez-Lecompte, F. Xia. / Frontiers in Vet. Science. – 2017. – T. 4. № MAY. – P. 63.

189. Zhao, J. Cloning, expression, and characterization of the superantigen streptococcal pyrogenic exotoxin G from streptococcus dysgalactiae // J. Zhao, T. Kirikae, T. Miyoshi-Akiyama, H. Kato, K. Imanishi, T. Uchiyama, T. Hayashi, R. Abe, S. Saarinen, A.C. Papageorgiou / Infection and Immunity. – 2007. – T. 75. № 4.– P. 1721 – 1729.

11 ПРИЛОЖЕНИЯ

К диссертационной работе прилагаются копии следующих документов:

№№ приложений	Название документа	Стр.
1.	Акт испытаний дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон)	137
2.	Акт испытаний ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров в СХПК «Передовой», ф. Алешино	140
3.	Акт испытаний ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров в ОАО «Заря», ф. Высоково	142
4.	Акт испытаний совместного применения дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) и ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров	144
5.	Научный отчет по результатам лабораторных и производственных испытаний ряда показателей дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон)	146
6.	«Методические рекомендации по доклиническому испытанию лосьона «Лорена» для гигиенической обработки сосков вымени коров после доения»	147
7.	Инструкция по применению вакцины против маститов коров ассоциированной инактивированной	149
8.	Стандарт организации – вакцина против маститов коров ассоциированная инактивированная	150
9.	Свидетельства о депонировании штаммов микроорганизмов (3 шт.)	152



Вологодская обл., Вологодский р-н, п. Майский

АКТ

Комиссия в составе: главного ветеринарного врача СХПК «Племзавод Майский» Власова И.А., ветеринарного врача к. Майский СХПК «Племзавод Майский» Никоновой М.А., сотрудников Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН Семиной Л.К., Скулябиной З.А., Авдеевской Н.Н. составила настоящий акт по результатам производственного испытания дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) (производитель – ООО «ОТФ «Этрис»), проведенного на комплексе Майский СХПК «Племзавод Майский» Вологодского р-на Вологодской обл. в период с 16.08 по 26.08.2021 г.

Дезинфицирующее средство «Лорена» представляет собой прозрачную жидкость светло-коричневого цвета с характерным запахом спирта, содержит в качестве основного действующего вещества 0,025 % свободного йода, обладает антимикробной активностью в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий, дрожжеподобных грибов рода *Candida*. Относится к 4 классу малоопасных веществ по классификации ГОСТ 12.1.007-76, не оказывает раздражающего действия на кожу, не обладает кожно-резорбтивным и сенсibiliзирующим эффектами.

Дезинфицирующее средство «Лорена» использовали для последовательной обработки сосков вымени коров с целью установления влияния на профилактику возникновения маститов различных форм.

Для проведения опыта было сформировано две группы животных по 10 гол в каждой. В опытной группе животных обработку сосков вымени проводили на протяжении 10 дней средством «Лорена» после каждого доения путем опускания соска в стаканчик с раствором, применяли 100-% концентрацию средства. В качестве контроля использовали средство «ProfiClean Iodine после доения», применяемое в хозяйстве для последовательной обработки вымени ранее. Режим обработок – после утренней, дневной и вечерней дойки, т.е. в соответствии с режимом, принятым в данном хозяйстве.

Результаты средних показателей бактериологических исследований смывов с сосков вымени коров приведены в таблице 1.

Таблица 1

Бактериальная загрязненность сосков вымени коров до и после обработки дезинфицирующими средствами (на 1 см² поверхности)

Опыт				Контроль			
№	После доения до обработки, (фоновые значения), (КМАФАнМ)	Через 10 мин после обработки (КМАФАнМ)	Через 30 мин после обработки (КМАФАнМ)	№	После доения до обработки (фоновые значения), (КМАФАнМ)	Через 10 мин после обработки (КМАФАнМ)	Через 30 мин после обработки и (КМАФАнМ)
1 исследование (1 день опыта)							
M ± m	22379,3±1168,3	2298,6±73,3	2432,6±165,0	M ± m	26283,2±1022,5	1112,0±171,6	19797,3±2814,1
2 исследование (10 день опыта)							
M ± m	2708,6±424,1	175,3±14,1	380,2±104,1	M ± m	3407,9±667,5	249,3±36,6	2160,0±171,6

Из таблицы 1 видно, что в опытной группе по результатам 1-го и 2-го исследований произошло снижение средних показателей загрязненности микроорганизмами в 1 см² после применения средства «Лорена». Так, через 10 мин после обработки в первом исследовании указанный показатель снизился и составил 2298,6±73,3 или в 9,7 раза меньше по сравнению с фоновым значением (22379,3±1168,3), при втором исследовании – в 15,4 раза (с 2708,6±424,1 до 175,3±14,1).

В первом и втором исследованиях в опытной группе через 30 минут названный показатель незначительно повышался, но оставался ниже по сравнению с фоновыми значениями до обработки в 9,2 раза (с 22379,3±1168,3 до 2432,6±165,0) в первом и в 7,1 раз (с 2708,6±424,1 до 380,2±104,1) во втором исследованиях соответственно.

При сравнении испытуемого и применяемого в хозяйстве средств, средство «Лорена» сохраняло бактерицидное действие более длительно и превалировало по таким сравниваемым показателям: через 10 минут после обработки во втором исследовании – в 1,4 раза, через 30 минут после обработки в первом исследовании – в 8,1 раза и в 5,7 раз во втором исследовании соответственно.

Наличие бактерий группы кишечной палочки в смывах обнаружены у третьей коровы в опыте и у четвертой в контроле в 1-ый день опыта после доения до обработки препаратами. После обработки дезинфицирующими средствами БГКП не выявлены. Культуры *S. aureus* в смывах не были выделены за весь период исследований. Коагулазоотрицательные стафилококки выделены через 30 минут после обработки дезинфицирующими средствами в обоих исследованиях. В опытной группе они были обнаружены в первой пробе,

в контрольной группе – в третьей и пятой. Остальная микрофлора состояла из молочнокислых стрептококков и грамположительных палочек.

В пробах молока в опытной и контрольной группе коров в первый и второй день исследования патогенной и условно-патогенной микрофлоры не выделено. Вся микрофлора состояла из молочнокислых стрептококков и грамположительных микроорганизмов. В некоторых пробах – в 5-ой в первый день исследования и в 3-ей и 5-ой на десятый день в опыте и 4-ой – в первый день исследования в контроле рост микроорганизмов в пробах молока отсутствовал.

Заключение

Комиссия считает, что дезинфицирующее средство «Лорена» (лосьон) в концентрации 100 % обладает хорошим бактерицидным действием и является эффективным в применении его в производственных условиях при всех выбранных экспозициях в качестве средства для обработки вымени коров после доения.

Побочных явлений и осложнений при применении дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) не установлено.

Подписи:

Главный ветеринарный врач
СХПК «Племзавод Майский»



И.А. Власов

Ветеринарный врач
комплекса «Майский»

М.А. Никонова

Сотрудники Вологодского филиала
ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН:

Ведущий научный сотрудник



Л.К. Семина

Ст. научный сотрудник



З.А. Скулябина

Научный сотрудник



Н.Н. Авдеевская

«УТВЕРЖДАЮ»

Председатель

СХПК КОЛХОЗ «ПЕРЕДОВОЙ»

Барболин В.Г.



2018г.

Вологодская обл., Вологодский р-н,
с. Кубенское

АКТ

Комиссия в составе: главного ветеринарного врача СХПК колхоз «Передовой» Козловой Н.Б., ветеринарного врача ф. Алешино СХПК колхоз «Передовой» Абрамовой И.Е., сотрудников Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН Семиной Л.К., Ремизовой Е.В., Авдученковой Н.Н., Скулябиной З.А. в период с 2016 по 2017 г. составила настоящий акт по результатам оценки эффективности применения ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров, разработанной ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Клинические испытания препарата проведены в СХПК «Передовой» Вологодского р-на Вологодской обл.

Для проведения опыта было сформировано две группы животных: опытная (10 голов) и контрольная (5 голов).

Коров опытной группы иммунизировали двукратно с интервалом в 14-21 день, первое введение – за 40 дней до отела. Препарат вводили подкожно в среднюю треть шеи в объеме 5,0 см³. Животным контрольной группы одновременно вводили стерильный физиологический раствор по аналогичной схеме.

Критерием эффективности проведенной вакцинации являлось отсутствие маститов у вакцинированных животных, что определяли путем исследования секрета вымени с помощью быстрого маститного теста («Кенотест»), а также бактериологических исследований молока в течение первых шести месяцев после иммунизации. Дополнительно проводили определение титра специфических антител в сыворотке крови к возбудителям, входящим в состав вакцины: *S. aureus*, *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae* до проведения иммунизации и через 1, 2, 3, 4, 5 и 6 месяцев после двукратного введения препарата. Животных контрольной группы также подвергали всем названным исследованиям.

Комиссией было установлено, что в опытной группе (10 голов) за период наблюдения переболело маститом две коровы (20,0%). При бактериологических исследованиях молока патогенных стафилококков и стрептококков не обнаруживали.

В контрольной группе (5 голов) за этот же период выявлено четыре коровы (80,0%) с субклиническими маститами. При бактериологических

исследованиях молока выделяли патогенные стафилококки (*S. aureus*) – 13,3%, патогенных стрептококков обнаружено не было.

В результате серологических исследований установлено, что в опытной группе коров (10 голов) титр антител к антигенам *S. aureus*, *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae* нарастал в среднем от 1:8 до 1:64, у отдельных животных до 1:128 через 2 месяца после иммунизации, в дальнейшем наблюдалось постепенное снижение титра антител к 6 месяцу. В контрольной группе (5 голов) животных титр антител незначительно менялся – от 1:0 до 1:16.

Осложнений системного и/или местного характера после применения ассоциированной инактивированной вакцины против маститов у коров не наблюдали.

Заключение

Комиссия считает, что ассоциированная инактивированная вакцина против маститов коров, разработанная ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, является безвредным и эффективным иммунобиологическим препаратом, обеспечивающим формирование иммунитета у коров к наиболее широко распространенным возбудителям инфекционных маститов, что подтверждено проведенными испытаниями в условиях СХПК колхоз «Передовой», и может быть рекомендована для использования в животноводческих хозяйствах.

Подписи:

Главный ветеринарный врач
СХПК колхоз «Передовой»



Н.Б.Козлова

Ветврач ф. Алешино
СХПК колхоз «Передовой»



И.Е. Абрамова

Сотрудники Вологодского филиала
ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН:

Зав. отделом



Л.К. Семина

Старший научный сотрудник



Е.В. Ремизова

Научный сотрудник



Н.Н. Авдеевская

Старший научный сотрудник



З.А. Скулябина

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ОАО «ЗАРЯ»

Секушин А.П.

2018 г.



Вологодская обл., Вол.р-н,

п. Заря

АКТ

Комиссия в составе: главного ветеринарного врача ОАО «Заря» Наволоцкой Е.В., ветврача ф. Высоково ОАО «Заря» Гордеевой Л.А., сотрудников Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН Семиной Л.К., Авдучевой Н.Н., Скулябиной З.А. в период с 2017 по 2018 г. составила настоящий акт по результатам оценки эффективности применения ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров, разработанной ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Клинические испытания препарата проведены в ОАО «Заря» Вологодского р-на Вологодской обл.

Для проведения опыта было сформировано две группы животных: опытная (11 голов) и контрольная (5 голов).

Коров опытной группы иммунизировали двукратно с интервалом в 14-21 день, первое введение – за 40 дней до отела. Препарат вводили подкожно в среднюю треть шеи в объеме 5,0 см³. Животным контрольной группы одновременно вводили стерильный физиологический раствор по аналогичной схеме.

Критерием эффективности проведенной вакцинации являлось отсутствие маститов у вакцинированных животных, что определяли путем исследования секрета вымени с помощью быстрого маститного теста («Кенотест»), а также бактериологических исследований молока в течение первых шести месяцев после иммунизации. Дополнительно проводили определение титра специфических антител в сыворотке крови к возбудителям, входящим в состав вакцины: *S. aureus*, *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae* до проведения иммунизации и через 1, 2, 3, 4, 5 и 6 месяцев после двукратного введения препарата. Животных контрольной группы также подвергали всем названным исследованиям.

Комиссией было установлено, что в опытной группе (11 голов) за период наблюдения переболело маститом две коровы (18,2%). При бактериологических исследованиях молока патогенных стафилококков и стрептококков не обнаруживали.

В контрольной группе (5 голов) за этот же период выявлено три коровы с воспалением молочной железы (60,0%). При бактериологических исследованиях выделяли патогенные стафилококки (*S. aureus*) – 6,6% и патогенные стрептококки (*S. agalactiae*) – 3,3%.

В результате серологических исследований установлено, что в опытной группе коров (11 голов) титр антител к антигенам *S. aureus*, *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae* нарастал в среднем от 1:8 до 1:64, у отдельных животных до 1:128 через 2 месяца после иммунизации, в дальнейшем наблюдалось постепенное снижение титра антител к 6 месяцу. В контрольной группе (5 голов) животных титр антител незначительно менялся – от 1:0 до 1:16.

Осложнений системного и/или местного характера после применения ассоциированной инактивированной вакцины против маститов у коров не наблюдали.

Заключение

Комиссия считает, что ассоциированная инактивированная вакцина против маститов коров, разработанная ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, является безвредным и эффективным иммунобиологическим препаратом, обеспечивающим формирование иммунитета у коров к наиболее широко распространенным возбудителям инфекционных маститов, что подтверждено проведенными испытаниями в условиях ОАО «Заря», и может быть рекомендована для использования в животноводческих хозяйствах.

Главный ветеринарный врач

ОАО «Заря»



Е.В. Наволоцкая

Ветврач ф. Высоково ОАО «Заря»



Л.А. Гордеева

Сотрудники Вологодского филиала
ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН:

Ведущий научный сотрудник



Л.К. Семина

Научный сотрудник



Н.Н. Авдудевская

Старший научный сотрудник



З.А. Скулябина



Вологодская обл., Вол.р-н, п. Майский

АКТ

Комиссия в составе: главного ветеринарного врача СХПК «Племзавод Майский» Власова И.А., ветеринарного врача комплекса «Майский» Никоновой М.А., сотрудников Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН Семиной Л.К., Скулябиной З.А., Авдудевской Н.Н. в период с сентября 2021 г. по март 2022 г. составила настоящий акт по результатам оценки совместного применения дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) (производитель – ООО «ОТФ «Этрис») и ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров, разработанной ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Клинические испытания совместного применения препаратов проведены в СХПК «Племзавод Майский» Вологодского района Вологодской области.

Для проведения опыта было сформировано четыре группы животных: контрольная группа с применением дезинфицирующего средства ProfiClean Iodine (10 голов), опытная группа №1 с применением дезинфицирующего средства «Лорена» (10 голов), опытная группа № 2 с применением дезинфицирующего средства ProfiClean Iodine на иммунизированных ассоциированной инактивированной вакциной коровах (10 голов), опытная группа № 3 с применением дезинфицирующего средства «Лорена» на иммунизированных ассоциированной инактивированной вакциной коровах (10 голов).

Дезинфицирующие средства «Лорена» (лосьон) и ProfiClean Iodine использовали для последовательной обработки сосков вымени коров с целью установления влияния на профилактику возникновения маститов различных форм.

Коров опытной группы иммунизировали двукратно с интервалом в 14-21 день, первое введение – за 40 дней до отела. Препарат вводили подкожно в среднюю треть шеи в объеме 5,0 см³. Животным контрольной группы одновременно вводили стерильный физиологический раствор по аналогичной схеме.

Оценку эффективности осуществляли путем ежемесячного исследования секрета молочной железы всех 4-х групп животных с помощью быстрого маститного теста («Кенотест») и бактериологического анализа в течение пяти месяцев после иммунизации.

В опытной группе № 1 маститом переболело шесть коров (60,0%), в том числе по месяцам наблюдения от 0 до 20,0%, рецидив заболевания отмечен у одной коровы.

В опытных группах № 2 и 3 переболели две и одна корова соответственно (20,0 и 10,0%), без рецидивов заболевания.

В контрольной группе за период наблюдения маститом переболело девять коров (90,0%), в том числе по месяцам наблюдения от 0 до 30,0%. Из общего числа переболевших коров рецидив заболевания в последующие месяцы отмечен у двух коров.

При проведении бактериологических исследований секрета вымени коров четырех групп патогенные стафилококки (*S. aureus*) были изолированы у трех коров (30,0%) из контрольной группы. Патогенные стрептококки и энтеробактерии выделены не были. Условно-патогенные стафилококки были обнаружены в секрете молочной железы животных всех исследуемых групп с максимальными значениями в контрольной и группе № 1 (50,0 и 40,0% соответственно) и с минимальными в группах № 2 и № 3 (10,0%).

Осложнений системного и/или местного характера после применения ассоциированной инактивированной вакцины против маститов у коров не наблюдали.

Заключение

Комиссия считает, что совместное применение дезинфицирующих средств и ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров снижает заболеваемость животных воспалением молочной железы, а результаты в опытной группе № 3 (применение дезинфицирующего средства «Лорена» на иммунизированных ассоциированной инактивированной вакциной коровах) оказались наиболее эффективными, что подтверждено проведенными испытаниями в условиях СХПК «Племзавод Майский».

Подписи:

Главный ветеринарный врач
СХПК «Племзавод Майский»



И.А. Власов

Ветеринарный врач
комплекса «Майский»

М.А. Никонова

Сотрудники Вологодского филиала
ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН:

Ведущий научный сотрудник



Л.К. Семина

Ст. научный сотрудник



З.А. Скулябина

Научный сотрудник



Н.Н. Авдуевская

ВОЛОГОДСКИЙ ФИЛИАЛ
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский
институт экспериментальной ветеринарии
имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»
(Вологодский филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)

«УТВЕРЖДАЮ»

в Отделом в лице Руководителя
 Вологодским филиатом ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН



И.Н. Симанова И.Н. Симанова

07.09. 2021г.

НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ

Результаты лабораторных и производственных
испытаний ряда показателей
дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон)

Исполнители:

Ведущий научный сотрудник,
 кандидат вет. наук

Л.К. Семина

Ст. научный сотрудник

З.А. Скулябина

Научный сотрудник

Н.Н. Авдуевская

Вологда – 2021

«УТВЕРЖДАЮ»

Руководитель ВНИИВСГЭ – филиал
ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, д.б.н.,
академик РАН *В.И. Дорожкин*
«14» *сентября* 2021 г.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

по доклиническому испытанию лосьона «Лорена» для гигиенической
обработки сосков вымени коров после доения
(период испытания 2021 - 2022 гг.)

I. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1. В качестве действующего вещества средство лосьон содержит свободный йод ($0,025 \pm 0,012\%$), сульфозтоксилат натрия ($0,08\%$), неонол АФ 9-10 ($0,4\%$), молочная кислота ($2,4\%$), глицерин ($0,7\%$), 2-пропанол ($25,0\%$), и дистиллированная вода (до 100%).

2. Лосьон представляет собой готовую к применению прозрачную жидкость светло-коричневого цвета с характерным йодно-спиртовым запахом.

3. Средство выпускается в полимерных канистрах в объеме 5 дм^3 . Гарантийный срок годности средства в невскрытой упаковке производителя – 2 года с даты изготовления. После первого вскрытия использовать в течение 3 месяцев.

4. Хранить средство необходимо в упаковке изготовителя в крытом сухом складском помещении, защищенном от воздействия прямых солнечных лучей и источников тепла при температуре не ниже 0°C и не выше 35°C .

5. Транспортировка средства допускается всеми видами наземного транспорта в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на каждом виде транспорта и гарантирующими сохранность средства и тары.

В случае замораживания средства во время транспортирования, оттаивание осуществляется при комнатной температуре без принудительного нагревания. Средство перед применением перемешать.

II. ПОРЯДОК ИСПЫТАНИЯ

6. Лосьон «Лорена» применяют в 100% -ной концентрации для обработки сосков вымени коров после доения. Для этого указанное средство наливают в пластиковый стаканчик для обработки сосков, наполняемость которого должна составлять не менее $\frac{3}{4}$ объема всего стакана. Затем лосьон «Лорена» наносят на соски вымени методом погружения в стаканчик каждого соска не менее $\frac{2}{3}$ длины на несколько секунд. Средство высыхает на сосках, смывания не требуется.

III. МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

7 Лосьон «Лорена» используется только для наружного применения в соответствии с методическими рекомендациями по доклиническому испытанию для гигиенической обработки сосков вымени коров после доения.

8. Работы проводить в комбинезоне или халате, в резиновом фартуке, сапогах, очках и резиновых перчатках.

9. Не использовать средство по истечении срока годности.

10. При попадании средства на поврежденные участки кожи необходимо промыть их водой. При случайном попадании средства в глаза их следует обильно промыть под струей воды в течение 10-15 минут. При необходимости обратиться к окулисту.

Средство для обработки сосков вымени коров после доения разработано в ООО «ОТФ «Этрис» и Вологодским филиалом ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН.

Производитель лосьона «Лорена» для обработки сосков вымени коров после доения – ООО «ОТФ «Этрис», 172009, Тверская область, г. Торжок, ул. Чехова, 2А, Российская Федерация.

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБГНУ ФНЦ ВИЭВ РАН

А.М. Гулюкин

« 04 » _____ 2023 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по ветеринарному применению
вакцины против маститов коров ассоциированной инактивированной

(Организация-разработчик – ФБГНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва, 109428, г.
Москва, Рязанский проспект, д. 24, к.1)

I. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Торговое наименование.

Международное непатентованное наименование – Вакцина против маститов коров ассоциированная инактивированная.

2. Лекарственная форма – суспензия для инъекций. Вакцина изготовлена из протективных антигенов *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* и *Streptococcus dysgalactiae* в концентрации $4,0 \cdot 10^9$ м.к./см³ каждого штамма, инактивированных формалином, и адьюванта – раствор гидроксида алюминия в количестве 15%.

3. По внешнему виду вакцина представляет собой суспензию светло-желтого цвета с рыхлым осадком, образующимся при хранении и легко разбивающимся при встряхивании. Срок годности вакцины 12 мес от даты выпуска при соблюдении условий хранения и транспортирования. По истечении срока годности вакцина к применению не пригодна. Вакцину необходимо использовать в течение 6 часов после вскрытия флакона.

4. Вакцина расфасована по 100 мл (20 доз) в стеклянные флаконы соответствующей вместимости, укупоренные резиновыми пробками, укрепленными алюминиевыми колпачками. Флаконы с вакциной упакованы в картонные коробки. В каждую коробку вложена инструкция по ее применению.

5. Вакцину хранят и транспортируют при температуре от 2°С до 8°С.

6. Вакцину следует хранить в местах, недоступных для детей.

7. Вакцину во флаконах без этикеток, с нарушенной укупоркой и целостностью, измененным цветом, содержащих посторонние примеси, подвергшуюся замораживанию, а также не использованную в течение 8 часов после вскрытия флакона, выбраковывают и обезвреживают путем кипячения в течение 30 мин с последующей утилизацией. Утилизация обезвреженного препарата не требует соблюдения специальных мер предосторожности.

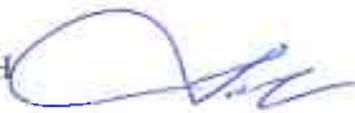
8. Вакцина отпускается без рецепта ветеринарного врача.

ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН**УТВЕРЖДАЮ:****Директор****ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН**
А.М. Гулюкин
«05» 2023 г
**СТАНДАРТ ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН****ВАКЦИНА ПРОТИВ МАСТИТОВ КОРОВ
АССОЦИИРОВАННАЯ ИНАКТИВИРОВАННАЯ****СТО – 00496165-0001-2023****Технические условия****Москва, 2023**

Ключевые слова: *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. aureus*, безвредность, иммуногенная активность, стерильность, вакцина против маститов коров ассоциированная инактивированная.

Руководитель разработки:

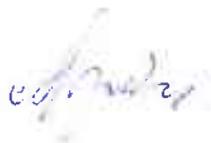
Зам. директора ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН
по научной работе



А.В. Капустин

Ответственный исполнитель:

Ведущий научный сотрудник лаборатории
микробиологии с музеем типовых культур
ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН



А.В. Горбатов

Исполнители:

Ведущий научный сотрудник лаборатории
микробиологии с музеем типовых культур
ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН



М.Н. Лощинин

Ведущий научный сотрудник лаборатории
микробиологии с музеем типовых культур
ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН



Н.А. Соколова

Ведущий научный сотрудник Вологодского
филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН



Л.К. Семина

Научный сотрудник Вологодского
филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН



Н.Н. Авдеевская

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

**«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР - ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ ИМЕНИ К.И. СКРЯБИНА И****Я.Р. КОВАЛЕНКО РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»****(ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)**

Рязанский проспект, д. 24, корпус 1, Москва, 109428

Тел./факс (495) 970-03-69. E-mail: admin@viev.ru

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНИРОВАНИИ

№ 1

«30» марта 2023 года

Всероссийская государственная коллекция патогенных и вакцинных штаммов микроорганизмов-возбудителей инфекционных болезней животных депонировала для целей национальной патентной процедуры

30 марта 2023 года

авторский штамм микроорганизма *Staphylococcus aureus* В-1386

Область применения штамма: Производственный штамм для ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров

Депозитор: Российская Федерация, 160010, г. Вологда, ул. Чехова, д.10, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (Вологодский филиал). Тел. (88172) 72-44-18, E. mail: vievvologda@mail.ru

Автор (ы): Семина Л.К., Авдеевская Н.Н., Ремизова Е.В., Скулябина З.А.

Штамму присвоен регистрационный номер: В-1386

Свидетельство выдано для подачи заявки на изобретение.

Заместитель директора ФГБНУ ФНЦ
ВИЭВ РАН по научной работе, д.б.н.



_____ / А.В. Капустин

Заведующий лабораторией диагностики и
контроля антибиотикорезистентности ФГБНУ
ФНЦ ВИЭВ РАН, к.б.н.

_____ / А.И. Лаишевцев

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР - ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ ИМЕНИ К.И. СКРЯБИНА И
Я.Р. КОВАЛЕНКО РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)

Рязанский проспект, д. 24, корпус 1, Москва, 109428

Тел./факс (495) 970-03-69. E-mail: admin@viev.ru

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНИРОВАНИИ

№ 2

«30» марта 2023 года

Всероссийская государственная коллекция патогенных и вакцинных штаммов
микроорганизмов-возбудителей инфекционных болезней животных
депонировала для целей национальной патентной процедуры
30 марта 2023 года

авторский штамм микроорганизма *Streptococcus agalactiae* В-1387

Область применения штамма: Производственный штамм для ассоциированной
инактивированной вакцины против маститов коров

Депозитор: Российская Федерация, 160010, г. Вологда, ул. Чехова, д.10, Федеральное
государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр -
Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии
имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (Вологодский
филиал). Тел. (88172) 72-44-18, E. mail: vievvologda@mail.ru

Автор (ы): Семина Л.К., Авдеевская Н.Н., Ремизова Е.В., Скулябина З.А.

Штамму присвоен регистрационный номер: В-1387

Свидетельство выдано для подачи заявки на изобретение

Заместитель директора ФГБНУ ФНЦ
ВИЭВ РАН по научной работе, д.б.н.



/ А.В. Капустин

Заведующий лабораторией диагностики и
контроля антибиотикорезистентности ФГБНУ
ФНЦ ВИЭВ РАН, к.б.н.

/ А.И. Лаишевцев

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

**«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР - ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ ИМЕНИ К.И. СКРЯБИНА И
Я.Р. КОВАЛЕНКО РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)**Рязанский проспект, д. 24, корпус 1, Москва, 109428
Тел./факс (495) 970-03-69. E-mail: admin@viev.ru**СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНИРОВАНИИ**

№ 3

«30» марта 2023 года

Всероссийская государственная коллекция патогенных и вакцинных штаммов
микроорганизмов-возбудителей инфекционных болезней животных
депонировала для целей национальной патентной процедуры
31 августа 2022 года
авторский штамм микроорганизма *Streptococcus dysgalactiae* В-1388

Область применения штамма: Производственный штамм для ассоциированной
инактивированной вакцины против маститов коров

Депозитор: Российская Федерация, 160010, г. Вологда, ул. Чехова, д.10, Федеральное
государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр -
Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии
имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (Вологодский
филиал). Тел. (88172) 72-44-18, E. mail: vievvologda@mail.ru

Автор (ы): Семина Л.К., Авдеевская Н.Н., Ремизова Е.В., Скулябина З.А.

Штамму присвоен регистрационный номер: В-1388

Свидетельство выдано для подачи заявки на **изобретение**.

Заместитель директора ФГБНУ ФНЦ
ВИЭВ РАН по научной работе, д.б.н.



_____ / А.В. Капустин

Заведующий лабораторией диагностики и
контроля антибиотикорезистентности ФГБНУ
ФНЦ ВИЭВ РАН, к.б.н.

_____ / А.И. Лаишевцев