

На правах рукописи

Авдеевская 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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2023

Работа выполнена в ФГБНУ «Федеральный научный центр Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН).

Научный руководитель: доктор биологических наук, доцент
Капустин Андрей Владимирович

Официальные оппоненты:

Спиридонов Геннадий Николаевич – доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности».

Комаров Владимир Юрьевич – кандидат ветеринарных наук, доцент, Институт дезинфектологии Федерального бюджетного учреждения науки «Федерального Научного Центра Гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии».

Защита диссертации состоится: _____ 2024 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.249.01, созданного на базе ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН по адресу: 109428, г. Москва, Рязанский проспект, дом 24, к. 1, тел.: 8 (499) 970-03-68.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН <http://viev.ru>

Автореферат разослан «____» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор ветеринарных наук, профессор

Найманов А.Х.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. 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 (Б.Л. Белкин с соавт., 2007, 2015; С.Л. Сафронов 2019).

Маститы причиняют существенный экономический ущерб молочным сельскохозяйственным предприятиям (А.Ю. Алиев 2020; А.Я. Батраков с соавт., 2014; В.В. Домотов с соавт., 2020; Н.Т. Климов с соавт., 2019; Г.А. Ларионов с соавт., 2015; Е.Н. Приступа с соавт., 2007; И.А. Родин 1999; В.И. Слободяник с соавт., 2009; Volgova A.E. с соавт, 2002; K.K.Fursova с соавт., 2018).

Причин возникновения мастита у животных множество, но важную роль занимает микрофлора (Ю. П.Балым 2008; В.П. Гончаров с соавт., 1980; В.М. Ивченко 1991; В.И. Мутовин, 1963; Л.А. Черепихина 2009), 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 (Н.Н. Авдеевская 2020; Т. М.Давлатмуродов 2004; В.А. Долганов с соавт., 2013; А. И.Ивашура 1990; Н.Т. Климов с соавт., 2008; Ю.С. Пархоменко с соавт, 2020; А.А. Стекольников с соавт., 2018; А.В. Тимаков с соавт., 2015) – *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* и *Streptococcus dysgalactiae* (А.В. Горбатов с соавт, 2019; Е.В. Ремизова с соавт., 2022; М.В. Ряпосова с соавт., 2020; О.М.Fedota с соавт., 2015).

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.

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 (Т.Н. Каменская с соавт., 2018; К.В. Племяшов с соавт., 2016; В.Н. Подрез с соавт., 2021; Л.А. Черепяхина 2008). Использование эффективного дезинфицирующего средства для обработки сосков вымени после доения уменьшает количество патогенов, а продолжительное бактерицидное действие способствует снижению заболеваемости коров маститами, способствует увеличению производства и повышению качества молока на фермах.

Повышения резистентности животных к возбудителям мастита также можно добиться благодаря применению специфических средств профилактики (М.А. Яникина 2021). 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. 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, приспособляясь 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 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. 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 черно-пестрой 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.

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, 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.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Работа выполнена в 2015-2022 годах в Вологодском филиале ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Испытания эффективности дезинфицирующего средства «Лорена» (лосьон) и его применение совместно с ассоциированной инактивированной вакциной против маститов коров проведено в СХПК Племязавод «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.

При проведении исследований использованы клинические, бактериологические, санитарно-зоогигиенические методы в соответствии с «Наставлением по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров», «Методическими указаниями по бактериологическому исследованию молока и секрета вымени коров», «Методическими рекомендациями по микробиологическому исследованию молока и секрета вымени коров для диагностики мастита».

Идентификацию микроорганизмов проводили согласно ГОСТ 30347-2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus*» 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». В качестве носителя антимикробного средства использовали диски из картона фильтровального технического (ГОСТ 6722-75), 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). 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» и Методическими рекомендациями «4.2.0220-20. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы санитарно-бактериологического исследования микробной обсемененности объектов внешней среды». Подсчет выросших колоний определяли согласно ГОСТ 26670-91. Бактерицидные свойства средства исследовали при пяти режимах экспозиции (30 с., 1, 2, 5 и 10 минут) в концентрации 50,0, 75,0 и 100,0%, то есть без разбавления, при температуре растворов 20 °С.

При испытании в животноводческом хозяйстве (производственное испытание) эффективность санитарной последоильной обработки вымени осуществляли методом погружения сосков в пластиковый стаканчик с дезинфицирующим средством «Лорена» (лосьон). 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.

Эффективность и безвредность ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров 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». Реакцию агглютинации ставили в объёме 100 мкл в 10 разведениях от 1:2 – 1:1024. Исследования проводились по следующей схеме: до вакцинации; через один, два, три, четыре, пять и шесть месяцев после вакцинации.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Мониторинг уровня заболеваемости коров маститом в сельскохозяйственных предприятиях

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. Показатели выявления больных животных колебались по анализируемым годам (с 2015 по 2021г.) от 3,2% до 3,6%

соответственно. Наименьший процент заболеваемости коров маститом отмечен в 2015 г. – 3,2%, наибольший в 2020 г. – 3,6%.

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.

При проведении собственных исследований (БМТ) в СХПК «Передовой» на протяжении восьми месяцев установили, что процент выявления коров с субклиническим маститом ($22,7 \pm 0,81\%$) значительно превышает показатель выявления коров с клиническим маститом ($6,8 \pm 0,44\%$).

В пяти других обследованных нами хозяйствах также отмечено превышение выявленных коров с субклиническим маститом над числом животных с клиническими формами болезни, наиболее высокое в двух хозяйствах – в 5,9 и в 2,5 раз соответственно.

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

Нами установлено, что в пяти из семи хозяйствах Вологодской области причиной мастита оказались технические неполадки молочного оборудования (изношенная сосковая резина, нестабильный уровень вакуума), а в двух – нарушения правил машинного доения (недодаивание, холостое доение, нарушение режима доения, отсутствие средств для обработки вымени до и после доения и др.).

При проведении микробиологических исследований секрета вымени молочной железы от животных с клинически выраженными и субклиническими маститами за период с 2015 по 2021г. из 1260 проб молока из 32-х сельскохозяйственных предприятий 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%.

Идентификация до вида 106 стафилококковых и 30 стрептококковых культур, выделенных в 2020 и 2021 годах, показала преобладание *S.aureus* (54,7%) и *S. agalactiae* – (36,7%) в изолированной микрофлоре соответственно. Также выделены *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 %) из стафилококковых культур, *S.dysgalactiae* – 26,7%, *S.pyogenes* – 3,3% из стрептококковых культур.

Таким образом, основными причинами мастита являются технические неполадки доильного оборудования и нарушения правил машинного доения и микробный фактор.

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

Модифицирован диско-диффузионный метод с целью определения чувствительности микроорганизмов и назначения эффективных комплексных антибактериальных препаратов для лечения и профилактики маститов коров.

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.

Для оценки применения модифицированного нами диско-диффузионного метода, проведена серия следующих опытов.

1. Опыт для определения временных интервалов с целью оценки влияния времени пропитывания картонных дисков на диаметр зон задержки роста микроорганизмов. 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* ATCC 29213 и *E.coli* ATCC 25922. Таким образом, 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.

2. Опыт по сравнению модифицированного диско-диффузионного метода и метода лунок. В опыте использовали культуры *S.aureus* ATCC 29213, *E.coli* ATCC 25922 и 15 комплексных антибактериальных препаратов. В результате опыта определили, что размеры зон задержки роста *S.aureus* и *E.coli* в дисках и лунках к идентичным препаратам различаются незначительно. 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.

3. Опыт по сравнению зон задержки роста микроорганизмов при применении стандартных и картонных дисков. 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. 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 картонном диске, больше, чем в стандартном диске.

4. Проведена оценка чувствительности микроорганизмов, выделенных от коров из сельскохозяйственных предприятий к 15-ти комплексным антибактериальным препаратам при использовании модифицированного диско-диффузионного метода. В результате получили, что наибольшим антибактериальным эффектом в отношении *S.aureus* обладают такие препараты как Синулукс (ЗЗР $36,8 \pm 1,90$), Амоксибаг LC (ЗЗР $34,5 \pm 2,41$), Прималакт (ЗЗР $31,4 \pm 1,52$). Из препаратов, применяемых в запускной период, наибольшую ЗЗР показали Нафпензал DC (ЗЗР $34,7 \pm 1,77$) и Орбенин EDC (ЗЗР $30,1 \pm 2,28$).

Коэффициент вариации чувствительности *S.aureus* по препаратам варьирует в пределах от 8,2 до 26,3%, по хозяйствам также варьирует (от 12,2% до 19,1%), но в небольших пределах.

Наибольшим эффектом в отношении *E.coli* среди препаратов, используемых для лечения коров в период лактации, обладают Прималакт (ЗЗР $29,2 \pm 2,72$) и Синулокс (ЗЗР $29,2 \pm 1,59$). Из препаратов, применяемых в период запуска, с большей ЗЗР оказались Цеправин EDC ($20,2 \pm 2,95$), Цефалон EDC ($20,2 \pm 2,27$). Коэффициент вариации чувствительности *E.coli* к препаратам варьирует в пределах от 11,3 до 54,3%, по хозяйствам также варьирует (от 16,2% до 29,3%), но в небольших пределах.

Наиболее высоким антибактериальным действием в отношении *S. dysgalactiae* из используемых в хозяйстве препаратов обладает Гамарет (ЗЗР $31,6 \pm 3,86$), из запускных препаратов – Мастенит (ЗЗР $33,6 \pm 3,40$), Цефалон EDC (ЗЗР $31,8 \pm 4,54$), Нафпензал DC (ЗЗР $33,8 \pm 3,18$). Коэффициент вариации чувствительности *S. dysgalactiae* по препаратам варьирует в широких пределах (от 20,7 до 89,2%), по хозяйствам также варьирует в широких пределах (от 11,8% до 56,1%).

По результатам проведенных исследований установили, что применение модифицированного нами диско-диффузионного метода возможно для определения чувствительности микроорганизмов.

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

С помощью лабораторных испытаний изучали бактерицидные свойства средства «Лорена» (лосьон). 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.

При производственном испытании в течение десяти дней осуществляли последовательную обработку средством «Лорена» (лосьон) пяти лактирующих

коров (опытная группа). В контрольной группе использовали средство, применяемое в хозяйстве – ProfiClean Iodine.

По результатам 1-го и 2-го исследований выявили 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 $175,3 \pm 14,1$). При сравнении испытуемого и применяемого в хозяйстве средств, средство «Лорена» (лосьон) сохраняло бактерицидное действие более длительно. БГКП после обработки дезинфицирующими средствами не выявлены. Культуры *S. aureus* в смывах не были выделены за весь период исследований. В пробах молока в опытной и контрольной группе коров в первый и второй день исследования патогенной и условно-патогенной микрофлоры не выделено.

Таким образом, дезинфицирующее средство «Лорена» (лосьон) подлежит применению для обработки сосков вымени коров после доения.

Специфическая профилактика мастита с применением ассоциированной инактивированной вакцины против маститов коров

Ассоциированная инактивированная вакцина против маститов коров изготовлена из штаммов *S. aureus*, *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae* с целью специфической профилактики маститов кокковой этиологии. Вакцину 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. Испытания вакцины проводили в двух хозяйствах Вологодской области.

В первом хозяйстве в группе из десяти вакцинированных животных за период наблюдения переболели маститом две коровы (20,0%), а в контрольной группе из пяти животных за этот же период выявлено четыре больные маститом коровы (80,0%), т.е. в 4-е раза больше по сравнению с вакцинированными животными. 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 у вакцинированных коров были к *S. aureus* в 5,0 (1:64,0 в опытной и 1:12,8 в контрольной), к *S. agalactiae* в 5,6 (1:54,4 в опытной и 1:9,6 в контрольной) и к *S. dysgalactiae* в 4,0 (1:38,4 в опытной и 1:9,6 в контрольной) раза выше по сравнению с невакцинированными животными.

Во втором хозяйстве в опыте – две коровы из одиннадцати (18,2%), в контроле – три коровы из пяти (60,0%) переболели маститом, что в 3,3 раза больше, чем в опытной группе. 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. Серологические исследования показали, что средние максимальные значения титра антител у вакцинированных коров были к *S. aureus* 1:53,8 в опытной и 1:12,8 в контрольной; к *S. agalactiae* 1:39,2 в опытной и 1:8,4 в контрольной; к *S. dysgalactiae* в 1:30,5 в опытной и 1:8,8 в контрольной.

У вакцинированных коров в обоих хозяйствах 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).

Таким образом, установлено, что применение ассоциированной инактивированной вакцины снижает заболеваемость коров маститами.

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.

Для проведения опыта были отобраны 4 группы коров по десять голов в каждой. Ежемесячно животных исследовали на субклинический мастит с помощью быстрого маститного теста и отбирали секрет вымени для бактериологического исследования. Результаты БМТ представлены в таблице 1.

Таблица 1 – 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 (ProfiClean Iodine)						
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 («Лорена» (лосьон))						
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 (ProfiClean Iodine+вакцина)						
10	2/20,0	1/10,0	1/10,0	0/0	0/0	0/0
		из них повторно				
			0/0			
Опытная группа № 3 («Лорена» (лосьон)+вакцина)						
10	1/10,0	1/10,0	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.

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%.

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 двух 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%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

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».

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.

Список работ, опубликованных по теме диссертации, в рецензируемых научных изданиях Перечня ВАК:

1. **Авдеевская, Н. Н.** Динамика показателей выделения кокковой микрофлоры из секрета вымени больных маститом коров в ряде хозяйств Вологодской области / Н. Н. Авдеевская // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2016. — № 3 (19). – С. 7.
2. **Авдеевская, Н. Н.** Чувствительность золотистого стафилококка, выделенного из вымени больных маститом коров, к комплексным препаратам антимикробного действия / Н.Н. Авдеевская // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2017. — № 3 (23). – С. 56-59.
3. Семина, Л.К. Эффективность различных схем использования ассоциированной вакцины против мастита коров / Л.К. Семина, Е.В. Ремизова, З.А. Скулябина, Т.Г. Ворошилова, **Н.Н. Авдеевская**, А.В. Горбатов, Х.С. Горбатова // Ветеринария и кормление. – 2017. – № 3. – С. 29-30.
4. Семина, Л.К. Индикация кокковой микрофлоры в секрете вымени больных маститом коров / Л.К. Семина, **Н.Н. Авдеевская**, З.А. Скулябина, Т.Г. Ворошилова, Г.А. Балдичева // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2018. — № 3 (27). – С. 56-60.

5. Семина, Л.К. Заболевания молочной железы и половых органов коров в послеродовой период / Л.К. Семина, **Н.Н. Авдеевская**, З.А. Скулябина // Генетика и разведение животных. – 2019. – № 3. – С. 73-76.
6. Семина, Л.К. Чувствительность микрофлоры вымени больных маститом коров к комплексным антимикробным препаратам с преднизолоном и без него / Л.К. Семина, **Н.Н. Авдеевская**, З.А. Скулябина, С.В. Тимошина // Ветеринария Кубани. – 2019. – № 2. – С. 8-10.
7. **Авдеевская, Н. Н.** Анализ лечения больных маститом коров в одном из хозяйств Вологодской области / Н. Н. Авдеевская, Л. К. Семина, З. А. Скулябина // Ветеринария и кормление. — 2020. — № 1. — С. 18-20.
8. **Авдеевская, Н. Н.** Золотистый стафилококк – один из главных возбудителей мастита лактирующих коров / Н. Н. Авдеевская // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2020. — № 2 (34). – С. 245-249.
9. **Авдеевская, Н. Н.** Антибиотикотерапия мастита коров / Н.Н. Авдеевская // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2021. — № 2 (38). – С. 162-168.
10. Семина, Л.К. Ориентировочный метод определения чувствительности микроорганизмов к комплексным антибактериальным препаратам / Л.К. Семина, **Н.Н. Авдеевская**, З.А. Скулябина // Ветеринария Кубани. – 2021. – № 2. – С. 34-36.
11. 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. Горбатов // Ветеринарная патология. – 2022. – № 1 (79). – С. 56-61.
12. Абашин, И.Ю. Методы молекулярной генодиагностики стрептококков групп С/G / И.Ю. Абашин, Н.Г. Козырева, А.В. Горбатов, **Н.Н. Авдеевская** // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2022. – № 10-2. – С. 6-10.
13. **Авдеевская, Н. Н.** Сравнительный анализ видового состава и количественное соотношение микрофлоры при субклиническом и клиническом мастите коров /

Н.Н. Авдучевская, А.В. Капустин, А.В. Горбатов, Е.В. Иванов // Ветеринария сегодня. – 2022. – Т. 11 – № 4. – С. 296-302.

Список работ, опубликованных по теме диссертации в других изданиях:

14. Семина Л.К. Иммуногенность ассоциированной вакцины против мастита коров / Л. К. Семина, Е. В. Ремизова, А. В. Горбатов, З.А. Скулябина, Т.Г. Ворошилова, **Н.Н. Авдучевская**// Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко. — Москва: Сборник, 2016. — С. 260-266.
15. Семина, Л.К. Активация иммунитета / Л.К. Семина, Е.В. Ремизова, З.А. Скулябина, Т.Г. Ворошилова, **Н.Н. Авдучевская**, А.В. Горбатов // Агробизнес. – 2017. – № 5. – С. 50-51.
16. Semina, L.K. Improved measures for the prevention of mass mastitis in cows in the Vologda region farms / L.K. Semina, **N.N. Avduevskya**, Z.A. Skulyabina, G.A. Baldiceva, A.V. Gorbatov // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. III International Scientific Conference: AGRITECH-III-2020: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations. – Krasnoyarsk, Russian Federation.– 2020. – С. 42006.
17. Semina, L.K. Problems and trends in the development of dairy livestock in Russia /L.K. Semina, **N.N. Avduevskya**, Z.A. Skulyabina, E.V. Remizova, A.V. Gorbatov // 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.
18. **Авдучевская, Н. Н.** Усовершенствование мероприятий по борьбе с маститами коров в сельскохозяйственных предприятиях / Н. Н. Авдучевская, Л. К. Семина // Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного комплекса регионов. Сборник докладов IV Международной научно-практической конференции. — Курск: Сборник, 2022. — С. 457-461.

Автор выражает искреннюю благодарность академику РАН, доктору ветеринарных наук Гулюкину М.И., доктору биологических наук Ездаковой И.Ю., доктору биологических наук Капустину А.В., кандидату ветеринарных наук Семиной Л.К. (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН) за действенную помощь и поддержку при проведении исследований.