

НОРКИН АНДРЕЙ ГЕННАДЬЕВИЧ

**КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ РАСТВОРА НАНОСЕРЕБРА С НАТРИЕМ ХЛОРИДА И
ТРИПСИНОМ ПРИ КАТАРАЛЬНОМ МАСТИТЕ У КОРОВ**

06.02.06 Ветеринарное акушерство
и биотехника репродукции животных

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург, 2022

Работа выполнена на кафедре терапии, хирургии, акушерства и заразных болезней федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Вятский государственный агротехнологический университет».

Научный руководитель: **Конопельцев Игорь Геннадьевич**, доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры терапии, хирургии, акушерства и заразных болезней ФГБОУ ВО «Вятский государственный агротехнологический университет».

Официальные оппоненты: **Коба Игорь Сергеевич**, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой эпизоотологии и организации ветеринарного дела ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К. И. Скрябина»;

Алиев Аюб Юсупович, доктор ветеринарных наук, директор филиала ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» - «Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт», главный научный сотрудник лаборатории по изучению незаразной этиологии сельскохозяйственных животных.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук».

Защита диссертации состоится «12» мая 2022 г. в 13:00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.04 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5, тел/факс (812) 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» и на официальном сайте: [https:// www.spbguvvm.ru](https://www.spbguvvm.ru).

Автореферат размещен на сайтах: ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ: <https://vak.minobrnauki.gov.ru> «03» марта 2022 г. и ФГБОУ ВО СПбГУВМ: <http://www.spbguvvm.ru> «03» марта 2022 г.

Автореферат разослан: «__» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Орлова Диана Александровна

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Обеспечить население страны молоком и кисломолочными продуктами питания на ближайшую перспективу возможно путем наращивания численности коров, а также удлинения срока их хозяйственного использования. Исследование Национального рейтингового агентства показало, что Россия в 2020 году не смогла достичь целей импортозамещения по молоку и кисломолочным продуктам. Основной причиной этому является дефицит численности коров, короткий период их хозяйственного использования, отсутствие доильного оборудования отвечающего физиологическим потребностям животных (Конопельцев И.Г., Шулятьев В.Н., 2007; Климов Н.Т. и др., 2008). Следствием этого является широкое распространение патологии сосков (Баркова А.С., 2009...2018; Липчинская А.К., 2010; Елесин А.В., 2013), раздражения и воспаления вымени (Париков В.А., 1990; Слободяник В.И., 1994; Слободяник В. и др., 2020), которые негативно влияют на продуктивность животных и их воспроизводительную функцию (Попов Л.К., 1998; Осколкова М.В., Кузьмина Э.В., 2014), отрицательно сказываются на выращивании ремонтного молодняка (Родин И.А., 2002; Климов Н.Т., 2020). По данным известных в этой области ученых и Всемирной молочной ассоциации, ежегодно переболевает маститом от 20 до 50% высокопродуктивных коров в молочных стадах (Миролюбов М.Г., 1988; Париков В.А., 1990; Слободяник В.И., 1994...2020; Батраков А.Я. с соавт., 2018; Климов Н.Т., 2020)

В большинстве случаев на фоне раздражения тканей вымени происходит проникновение и размножение различных микроорганизмов, преимущественно золотистого стафилококка, агалактийного и дисгалактийного стрептококков, грибов, микоплазм, вирусов и др., которые выделяются из его секрета в виде смешанных культур или ассоциаций (Слободяник В.И., 1994; Климов Н.Т., 1994; Кузьмин Г.Н., 1995; Родин И.А., 2002; Батраков А.Я., Виденин В.Н., Идиатулин И.Г., 2017; Манжурина О.А., Климов Н.Т., Пархоменко Ю.С., 2020; Weller R.F., Brade W., 2001; Larsen H.D. et al., 2002; Brouillette E. et al., 2004; Goji N. et al., 2004). В результате воспалительного процесса в молочной железе идёт увеличение количества соматических клеток при этом происходит изменение состава и биохимических свойств секрета (Париков В.А., 1990; Слободяник В.И., 1994...2020; Колчина А.Ф., 2008; Коренник И.В., 2010; Рубцов В.И., 2006; Brade W., 2001; и др.).

В условиях снижения адаптивных возможностей макроорганизма, повышения вирулентных свойств микроорганизмов, актуальным является разработка и апробация новых препаратов, обладающих комплексом положительных свойств, позволяющих повысить уровень ветеринарного обслуживания животных при воспалении вымени и тем самым пролонгировать период сохранения в стаде маточного поголовья. Особое место в этом направлении должно принадлежать альтернативным средствам, в том числе и препаратам на основе наносеребра (Коваленко А.М. с соавт., 2019), способным противостоять патологическим процессам в молочной железе у коров.

Степень разработанности темы. В настоящее время выполнен существенный пласт фундаментальных и прикладных научных исследований которые реализованы в условиях современного молочного скотоводства и касаются проблемы раздражения и воспаления вымени. Несомненно маяками в вопросах диагностики, этиопатогенеза данного заболевания и разработки эффективных противомаститных средств являются известные отечественные ученые В.И. Мутовин (1970), А.Я. Батраков (1972), М.Г. Миролюбов (1988), В.М. Карташова и А.И. Ивашура (1988), В.А. Париков (1990), В.И. Слободяник

(1994), Н.Т. Климов (1994), Г.Н. Кузьмин (1995), Л.К. Попов (1998), И.А. Родин (2002), О.Б. Павленко (2016).

Вместе с тем поиск альтернативных способов лечения коров, больных маститом, продолжает оставаться актуальным направлением ветеринарной науки. Это обусловлено ростом резистентности микроорганизмов к этиотропным препаратам и минимизацией или отсутствием остаточных количеств химиотерапевтических средств в молоке. С этой позиции особое место занимают препараты содержащие наночастицы серебра, которые обладают бактерицидным, фунгицидным действием и служат высокоэффективным обеззараживающим средством в отношении патогенных микроорганизмов, вызывающих воспаление, однако их ассортимент не высок. Механизм действия серебра на микробную клетку заключается в том, что ионы серебра поглощаются клеточной оболочкой и при этом нарушаются ее функции, в том числе и размножения (Коваленко А.М. с соавт. 2019; Козлова И.В., Виденин В.Н., Батраков А.Я. с соавт., 2020).

Цель и задачи исследований. Целью работы явилось изучение эффективности применения раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина при катаральном мастите у коров в период лактации.

Для достижения намеченной цели были поставлены следующие задачи:

- изучить степень распространения мастита у коров на предприятиях АПК Кировской области;
- определить периоды проявления бактерицидных свойств у различных растворов наносеребра к музейным и полевым штаммам золотистого стафилококка и кишечной палочки;
- провести оценку острой и хронической токсичности раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина на лабораторных мышах;
- определить величину раздражающего воздействия на паренхиму вымени клинически здоровых коров раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина, однократную дозу и интервал его введений при катаральном мастите;
- изучить терапевтическую и экономическую эффективность применения раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина при остром катаральном мастите у коров в лактационный период.

Объектом исследования являлись различные растворы наносеребра (2000 ppm), беспородные белые мыши, выведенные в виварии ФГБОУ ВО Вятский ГАТУ, музейные и полевые штаммы *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, лактирующие клинически здоровые и больные катаральным маститом коровы.

Предмет исследования – антимикробная активность, токсические параметры, показатели крови и секрета вымени у здоровых и больных коров катаральным маститом, оценка терапевтической и экономической эффективности раствора наносеребра с натрием хлорида и трипсином в случаях острого катарального воспаления вымени у лактирующих коров.

Научная новизна. Впервые с использованием диско-диффузионного и суспензионного методов к музейным и полевым штаммам *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* изучены бактериостатическая и бактерицидная активности растворов с содержанием 2000 ppm наносеребра, приготовленных на дистиллированной воде, а также с добавлением натрия хлорида и протеолитического фермента. Проведена оценка острой и хронической токсичности раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина. Оценена степень раздражающего действия на паренхиму вымени клинически здоровых лактирующих коров водного раствора наносеребра и с растворенными в нем натрия хлорида и трипсина по динамике соматических клеток и концентрации общих иммуноглобулинов в молоке. Изучены терапевтическая и экономическая эффективности раствора наносеребра с добавлением

натрия хлорида и трипсина при остром катаральном мастите у коров в период лактации, а также качественные характеристики молока от выздоровевших животных.

Теоретическая и практическая значимость. Получены новые сведения о частоте мастита у высокопродуктивных коров в сравнении с проявлениями патологии репродуктивных органов в условиях животноводческих комплексов. Определено, что эффективность при традиционном подходе в терапии коров с патологией вымени ежегодно снижается. Главенствующая роль при воспалении вымени принадлежит стафилококкам, а среди них *Staphylococcus aureus*. Расширены сведения о разной антимикробной активности растворов наносеребра в зависимости от условий их изготовления. Разработан способ приготовления раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина, проявляющий бактерицидные свойства к основным возбудителям мастита у коров в более короткие сроки. Получены новые сведения о влиянии интрацистернального введения раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина на динамику общих иммуноглобулинов в секрете вымени у клинически здоровых коров и при его применении в терапии больных острым катаральным маститом. Производству предложен эффективный способ лечения больных острым катаральным маститом лактирующих коров, на основе сочетанного использования раствора наносеребра с натрием хлорида, трипсином и цефтонита. Представлена информация о влиянии разных способов терапии коров с использованием раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина при остром катаральном мастите на биохимические показатели крови и качественные характеристики секрета вымени.

Методология и методы исследования. Основой методологии явилось изучение различных подходов в решении проблемы мастита у лактирующих коров, опубликованные в работах отечественных и зарубежных ученых. Методологический подход к поставленным задачам исследования заключался в аналитическом, систематическом и комплексном изучении объектов исследования, обобщении результатов научных экспериментов. Материал получен с использованием клинических, бактериологических, токсикологических, гематологических и статистических методов исследования. Экспериментальные и клинические исследования проводились по традиционной методике планирования экспериментов с формированием подопытных и контрольных групп животных, в том числе клинически здоровых и с клиническим проявлением катара цистерны и молочных ходов вымени.

Основные положения, выносимые на защиту:

- высокая степень заболеваемости лактирующих коров маститом на сельскохозяйственных предприятиях Кировской области;
- периоды проявления бактериостатических и бактерицидных свойств у разных растворов с концентрацией наносеребра 2000 ppm;
- внутрижелудочное и внутрибрюшинное введения максимально разрешенного объема для применения раствора наносеребра с натрием хлорида и трипсином не вызывает летального исхода у лабораторных мышей и его переносимая доза составляет более 40 000 мг/кг массы тела;
- применение раствора наносеребра с натрием хлорида и трипсином в сочетании с цефтонитом обладает более высокой терапевтической эффективностью при остром катаральном мастите лактирующих коров.

Степень достоверности и апробация результатов. Основные положения, заключение и практические предложения, сформулированные в диссертации, отвечают целям и задачам работы, а достоверность полученных результатов проанализирована и подтверждается их статистической обработкой. Результаты бактериологических, доклинических и клинических исследований, представляющие собой основу диссертационной работы, доложены, обсуждены и одобрены: на Международной научно-практической конференции «Современные научно-практические достижения в ветеринарии» (Киров, 2020); Междуна-

родной научно-практической конференции посвященной 20-летию факультета ветеринарной медицины Ижевской ГСХА «Современная ветеринарная наука: теория и практика» (Ижевск, 2020); Международной научно-практической конференции «Инновации в отрасли животноводства и ветеринарии» (Брянск, 2021); Международной научно-практической конференции «Современные научно-практические достижения в ветеринарии» (Киров, 2021), Национальной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, биотехнологии и морфологии» (Самара, 2021).

Материалы исследования внедрены в учебный процесс кафедры акушерства и оперативной хирургии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский ГУВМ, кафедры анатомии, акушерства и хирургии ФГБОУ ВО Самарский ГАУ, кафедры терапии, хирургии, акушерства и заразных болезней в ФГБОУ ВО Вятский ГАТУ, а также в практическую деятельность работников ветеринарной службы ООО Агрофирма «Новый путь» Орловского района и АО Агрокомбинат Племязавод «Красногорский» отделение Пасегово Кирово-Чепецкого района Кировской области.

Личное участие автора. Все приведенные в диссертации данные получены при личном участии соискателя, как на этапе постановки задач и разработки методических подходов к их выполнению, так и при наборе первичных фактических данных, статистической обработке и анализе полученных результатов диссертационного исследования, написании и оформлении публикаций. Заключение диссертации сформулировано лично автором. Часть исследований выполнено совместно с доктором медицинских наук, профессором И.П. Погорельским (ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России»), кандидатами ветеринарных наук, доцентами А.Ф. Сапожниковым, С.В. Николаевым и М.В. Глуховой (ФГБОУ ВО Вятский ГАТУ) за что автор выражает им благодарность.

Публикация результатов исследований. По материалам диссертационного исследования в печатных изданиях опубликовано 8 научных работ, в которых отражены основные положения диссертации, в том числе 2 из них в рецензируемых научных журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ. Общий объем публикаций составляет 3,0 п.л., из них 2,3 п.л. принадлежат лично соискателю.

Объем и структура диссертации. Материалы диссертации изложены на 166 страницах компьютерного текста, она состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, рекомендаций производству и приложения. Список использованной литературы включает 150 источников, в том числе 28 иностранных авторов. Диссертация иллюстрирована 24 таблицами и 18 рисунками.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная работа проведена в период с 2017 по 2021 гг. на кафедре терапии, хирургии, акушерства и заразных болезней, в лаборатории по изучению патологии репродуктивных органов и молочной железы у животных и в лаборатории иммунобиохимического анализа биологических объектов Центра коллективного пользования научным оборудованием «Агробiotехнологии» ФГБОУ ВО Вятский ГАТУ, в условиях животноводческих ферм и комплексов ООО Агрофирма «Новый путь» Орловского района и АО Агрокомбинат Племязавод «Красногорский» отделение Пасегово Кирово-Чепецкого района Кировской области. Опыты и эксперименты проводились на разновозрастных животных голштинизированной черно-пестрой породы с удоем за лактацию 6 000 - 9 000 кг. В процессе эксплуатации коровы находились на привязи. Кормление коров осуществлялось автоматизировано согласно рекомендаций (Калашников А.П., Фисинин В.И., Щеглов В.В. и др., 2003). Процесс автоматизированного получения молока осуществлялся посредством УДМ-8. Исполь-

зование в научной работе «Методические рекомендации по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров М., 2001» позволяло объективно оценивать процессы происходящие в вымени у животных на протяжении экспериментов.

Всесторонне проанализировать частоту поражения паренхимы вымени и возникновения акушерско-гинекологических заболеваний на предприятиях агропромышленного комплекса Кировской области, виды и состав микробов выделяемых из секрета молочных желез коров с его патологией, позволили данные из отчетов специалистов госветслужбы Кировской области, цифровой материал, полученный при проведении опытов и исследований сотрудников бактериологического отдела КОГБУ «Кировская областная ветеринарная лаборатория».

В работе использованы разные растворы наносеребра, которые готовил по мере необходимости сотрудник компании ООО «Парацельс» (г. Киров) и автор данной запатентованной технологии И.Н. Токарев согласно материалов, изложенных в патенте на изобретение № 2654860 «Способ получения наноразмерных частиц серебра в водной среде». А именно: 1) водный раствор с содержанием наноразмерных (10-15 нм) частиц серебра в концентрации 2000 ppm/л; 2) раствор с содержанием наноразмерных частиц серебра в концентрации 2000 ppm/л, приготовленный в дистиллированной воде с последующим внесением натрия хлорида из расчета 9,0 г на литр; 3) раствор с содержанием наноразмерных частиц серебра в концентрации 2000 ppm/л и растворением в литре готового раствора 9,0 г натрия хлорида и 500,0 мг трипсина.

Бактериологические исследования по испытанию различных растворов наносеребра в отношении основных микроорганизмов, присутствующих в секрете вымени при его воспалении, выполнены в условиях ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России» под руководством и участия доктора медицинских наук, профессора И.П. Погорельского.

На этапе первого блока бактериологических исследований использовали раствор наносеребра на водной основе (Ag) и Ag+глицерин-(Ag+Gly) (2000 ppm), а также музейные тест-микроорганизмы: *E.coli* и *S.aureus*. Концентрация испытуемых микроорганизмов (КОЕ - колониеобразующих единиц) при проведении опытов составила: 1×10^9 , 1×10^8 и 1×10^7 КОЕ/мл.

В работе использовали культуры бактерий кишечной палочки и золотистого стафилококка.

Оценку антибактериальной активности серебросодержащих растворов и Ag (2000 ppm) + Gly(50:50), проводили с использованием диско-диффузионного и суспензионного методов исследования (Jorgensen J.H., Turnidge J.D., 2007).

При *диско-диффузионном* методе на плотную питательную среду в чашках Петри наносили суспензии тест-микроорганизмов (1×10^7 КОЕ/мл), после чего на подсушенную поверхность питательной среды с посевом испытуемых микробных клеток выкладывали квадратики из бязи, пропитанные серебросодержащими растворами и Ag+Gly – исходными и в разведениях. Чашки Петри с посевами микроорганизмов и квадратиками из бязи, пропитанными серебросодержащими растворами, инкубировали при температуре 37°C , после чего определяли наличие зон ингибирования роста *E.coli* и *S.aureus*.

Определение антибактериальной активности раствора-Ag и Ag+Gly и их разведений *суспензионным методом* проводили согласно рекомендации, изложенной в работе В.М. Бондаренко, В.Г. Лиходед (2007).

Суть опытов состояла в следующем: культуры тест-микроорганизмов смывали с поверхности плотной питательной среде изотоническим раствором натрия хлорида, после чего готовили рабочие суспензии микроорганизмов и вносили их в пробирки с тестируемыми растворами (исходными растворами - Ag и Ag+Gly и их разведениями в растворе натрия хлорида в 10 и 100 раз) до конечной концентрации 10^6 КОЕ/мл. Контролем в опытах слу-

жили культуры бактерий кишечной палочки и золотистого стафилококка в аналогичной концентрации, но на изотоническом растворе натрия хлорида. После внесения микроорганизмов в пробирки с тестируемыми растворами через определённые промежутки времени (10 мин, 20 мин, 30 мин, 3ч и 24 ч) из пробирок отбирали пробы и производили высевы на поверхность плотных питательных сред в чашках Петри (Муха Ю.П., Еременко А.М., Смирнова Н.П. и др., 2013) для получения роста отдельных колоний. Чашки Петри с плотной питательной средой и посевами микроорганизмов инкубировали в течение 24 часов при температуре 37⁰С, после чего подсчитывали среднее количество выросших колоний (Ашмарин И.П., Воробьёв В.А., 1962).

На втором этапе бактериологических исследований использовали раствор наносеребра (2000 ppm) с добавлением из расчета на литр готового раствора 9,0 г натрия хлорида, а также полевые штаммы *E.coli* и *S.aureus*, предварительно выделенные от коров с острым катаральным маститом, не подвергавшихся обработке этиотропными средствами. Схема эксперимента была идентичной, как и в отношении раствора наносеребра, приготовленного на дистиллированной воде.

На третьем этапе бактериологических исследований использовали раствор наносеребра с добавлением из расчета на литр готового раствора 9,0 г NaCl и 500,0 мг трипсина, который был в качестве экспериментального во всех последующих опытах, а в качестве тест-штамма был использован *S.aureus*.

Доклиническое исследование раствора наносеребра с добавлением NaCl и трипсина осуществляли согласно «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» Р.У. Хабриев, 2005.

Оценку на токсичность проводили на здоровых половозрелых белых мышах-самцах, живой массой 20...24 грамма. Животные во время опыта находились в одинаковых условиях, получали идентичный корм и имели свободный доступ к воде. На первом этапе исследований была проведена оценка острой токсичности испытуемого раствора. Влияние разовой дозы раствора наносеребра с натрием хлорида и трипсином определяли при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введениях. Для этого сформировали 4 группы мышей (2 подопытных и 2 контрольных) по 7 в каждой. Комплектацию групп строго проводили по принципу аналогов. Животным подопытных групп, соответствующим способом вводили изучаемое средство в дозе 1,0 мл на животное, контрольным – в идентичной дозировке физиологический раствор NaCl. За мышами наблюдали в течение 14-ти суток, первые 6 часов они находились под постоянным наблюдением. На втором этапе исследований провели токсикологическую оценку раствора наносеребра с растворенными натрием хлорида и трипсином при длительном его применении. Для этого мышам подопытной группы (n=12) в течение 14-ти дней интрабрюшинно инъецировали исследуемый раствор в дозе 1,0 мл, животным, что входили в контрольную группу (n=12), применяли физиологический раствор.

Взвешивание лабораторных животных всех групп проводили до кормления перед началом эксперимента, на 1, 3, 7 и 14-е сутки от начала опыта. Доступ к кормовому столу и поилкам прекращали за два часа до определения живой массы.

Интоксикацию организма экспериментальных животных оценивали по клинической картине и выживаемости. При этом учитывали изменение поведения и двигательной активности, массы тела, аппетита и жажды, характера фекальных масс, состояния волосяного и кожного покрова, окраски слизистых оболочек, частоты дыхательных движений. Через 14 дней по окончании опыта экспериментальных животных наркотизировали эфиром и оценивали макроскопические изменения внутренних органов. При оценке хронической токсичности дополнительно часть мышей (n=6) подвергли эвтаназии через сутки после последней инъекции. Во время декапитации получали кровь, которую собирали в пробирки с

антикоагулянтом и проводили морфологические исследования на гематологическом анализаторе URIT-3020.

Изучение величины раздражения растворов с наносеребром на ткани вымени провели на клинически здоровых лактирующих коровах 3-х групп (n=10) после окончания послеродового периода при отрицательной реакции секрета в стойловой пробе с кенотестом. Коровам 1-ой подопытной группы после окончания доения в правые передние четверти вымени вводили 10,0 мл раствора наносеребра приготовленного на дистиллированной воде. Животным 2-ой подопытной группы интрацистернально назначали 20,0 мл изучаемого раствора, а коровам контрольной группы в сосок вводили 10,0 мл изотоничного раствора натрия хлорида. Подобный эксперимент был выполнен с раствором наносеребра с добавлением к нему из расчета на литр 9,0 г натрия хлорида и 500,0 мг трипсина. Растворы и другие фармакологические средства, которые использовали в данном эксперименте и в последующих, предварительно нагревались до температуры 38...39°C. Верхушку соска соответствующей четверти вымени до введения лекарственного средства предварительно обрабатывали тампоном, смоченным 70° спиртом. В установленные сроки в опытах на раздражение вымени отбирали из экспериментальных четвертей вымени пробы секрета для проведения его оценки, обязательной контрольной отметкой являлись 72 часа от введения испытуемого средства.

Оценку величины негативной реакции паренхимы вымени на инокуляцию испытуемых фармакологических веществ проводили посредством проб с кенотестом, а при положительном результате, секрет вымени сдаивали в пробирки высотой 10,0 см³ и измеряли высоту осадка и сливок. Параллельно этому проводили исчисление СК, используя возможности «Экомилк АМВ-1-03» и «Соматос – Мини 2.05) в двух повторностях. Идентичный подход применяли при работе с секретом вымени на фоне использования раствора наносеребра с натрием хлорида и трипсином на больных коровах с клиническими признаками воспалительной реакции в выводной системе вымени, а также при их клиническом выздоровлении и 15 дней спустя.

Численный состав специфических антител в содержимом вымени у экспериментальных животных определяли с применением Na₂SO₄ (х.ч. б/в,) на фотометре КФК-3-01.

Для лечения экспериментальных животных с острой и хронической фазой катарального воспаления проводили путем инокуляции в больные четверти 10 см³ раствора наносеребра с трипсином, с предварительным их нагревом до отметки 38,0-39,0°C. Коровам подопытной группы (острый катар n=13 и хронический катар n=10) назначали испытуемый раствор трехкратно с интервалом 12 часов. Животным контрольной группы (острый катар n=13 и хронический катар n=10) интрацистернально Ag-Маст вводили в сосок в соответствии с наставлением. Срок ожидания клинического выздоровления был определен в течение 7 дней, как в этом опыте, так и в последующем. Эффективность проведенной терапии оценивали по количеству выздоровевших животных и долей вымени, числу интрацистернальных введений препаратов, периоду выздоровления. Обязательную перепроверку, полученных данных, проводили через 15 дней после окончания опыта.

Расчет экономической эффективности применения раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина осуществляли с учетом материалов изложенных в «Методика определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий» М., 1997.

Во втором клиническом эксперименте у лактирующих коров при остром катаральном воспалении выводящей системы вымени оценивали терапевтическую эффективность интрацистернального применения испытуемого раствора в дозе 10,0 мл трехкратно с интервалом 12 часов в 1-ом опыте в сочетании с короткой новокаиновой блокадой нервов вымени по Д.Д. Логвинову (двукратно с интервалом 48 часов 1%-ный раствор новокаина

150,0 мл) (n=17), во 2-ом – с мастисептом (согласно наставления по применения утро-вечер в течение 4-х дней) (n=17) и в 3-ем – с цефтонитом (10,0 мл раз в сутки 3-кратно) (n=17).

Кровь от коров в запланированные сроки получали из подхвостовой вены до утреннего кормления. В ее сыворотке концентрацию общего белка, альбумина, мочевины, креатинина, общего билирубина, активность трансаминаз, щелочной фосфатазы устанавливали на биохимическом анализаторе iMagic-V7 с применением коммерческих наборов фирмы «Диакон-Вет».

Количество молочного жира и белка содержащего, сухого обезжиренного молочного остатка, процент сухого вещества, количество мочевины, лактозы, лактоферина, БГБА, точку замерзания в молоке от подопытных коров определяли через 30 дней после выздоровления с помощью комбинированной аналитической системы для оценки качества сырого молока торговой марки “BentleyInstruments”, модель Bentley FTS 400, в условиях аккредитованной молочной лаборатории АО «Кировское» по племенной работе. Контролем служило молоко сборное, в день доения в данном хозяйстве, и от клинически здоровых животных в среднем при привязном содержании в сельхозорганизациях Кировской области. Молоко для исследования получали после окончания машинного доения.

Статобработку цифровых значений диссертационного исследования осуществляли на персональном компьютере и при этом пользовались программным пакетом «MicrosoftExcel». Достоверность полученных результатов доказывали путем вычисления средней арифметической (M), ее ошибки (m) и величины достоверности (P) по критерию Стьюдента.

3 Результаты собственных исследований

3.1 Воспаление вымени среди акушерско-гинекологической патологии у коров на предприятиях АПК Кировской области

Динамика количества маточного поголовья на фермах и животноводческих комплексах сельхозорганизаций в Кировской области в последние годы, а также число случаев выявления у коров воспаления в четвертях вымени с различной формой проявления приведено таблице 1.

Таблица 1 – Динамика маточного поголовья в общественном стаде Кировской области и заболеваемость коров клиническим и субклиническим маститом

Показатель	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.	2020 г.
Количество коров	85160	86960	88664	90610	91938
Число коров с субклиническим маститом	24017	26503	30498	32512	33784
Кол-во коров больных клиническим маститом	18599	18380	17268	18624	20808

Из данных таблицы 1 видно, что период выполнения научной работы число коров увеличилось с 85160 до 91938 или на 7,4%. За подконтрольный период времени, численность коров со скрытым маститом возросла на 29%, а клиническим маститом - на 10,7%. При этом терапевтическая эффективность противомаститных мероприятий имела тенденцию к снижению, так в 2017 году она составляла 83,4 %, а в 2020 году уже всего 78,3%. Из пораженных долей вымени в 43% случаях выделяются *Staphylococcus* (*S. aureus*– 73,4%), в 34% - *Streptococcus* (*Str. agalactiae* 80,1%), в 18% - *Escherichi acoli* и в 5% - *Pseudomonas aeruginosa*.

С 2017 по 2019 гг. в ООО АФ «Новый путь» Орловского района Кировской области проводили ежемесячные диагностические исследования на выявление животных с воспалением вымени. В результате установили, что в случае возникновения острого воспаления с образованием катарального секрета в 60,0 % поражалась одна, в 34,5 % - две и в 5,5 % три доли вымени. Кроме того в 60% случаях патология затрагивала задние доли, а в 40% - передние.

Чаще воспалительный процесс возникает в задней правой доле (36,2 %) вымени. С каждым годом у высокопродуктивных коров выше порог заболеваемости маститом, чем эндометритом.

3.2 Определение чувствительности микроорганизмов к различным Растворам наносеребра

С помощью диско-диффузионного метода установили, что исходные растворы Ag(приготовленного на дистиллированной воде) и Ag+Gly, вызывают задержку роста мутейных бактерий тест-штаммов. Используя возможности суспензионного метода доказали, что бактерицидные свойства нативного раствора Ag начинают проявляться через 24 часа, а в разведениях его 1:10 и 1:100 - через 48 часов после совместной инкубации с *E.coli*. Исходный раствор Ag+Gly бактерицидный эффект проявлял через 24 часов, а в разведении 1:10 спустя 48 часов после совместного культивирования с тест-микроорганизмом. К золотистому стафилококку исходные Ag-раствор и Ag+Gly бактерицидный эффект проявляли уже через 24 часа, а раствор Ag в разведении 1:10 – через 48 часов.

На следующем этапе бактериологических исследований было доказано, что рабочие растворы наносеребра + NaCl, исходный и разведенный в 2 раза, обладают антибактериальной активностью в отношении полевых штаммов *E.coli* и *S.aureus*. Уже через 30 мин происходит начальный этап ингибирования роста тестируемых бактерий изучаемыми растворами. Гибель кишечной палочки и золотистого стафилококка под влиянием рабочих растворов наносеребра + NaCl и его разведении в 2 раза происходила к 3-му часу экспозиции.

Бактерицидные свойства раствора наносеребра, приготовленного с добавлением натрия хлорида, в нативном виде и растворенном в двое проявились одинаково через 24 часа, как в отношении *S. aureus*, так и *E. coli*.

Для ответа на вопрос, обладает ли раствор наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина антимикробными свойствами к полевому штамму *S. aureus*, провели следующий эксперимент. Результаты исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Выживаемость *Staphylococcus aureus*, экспонированного в растворе наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина

Тестируемые растворы + стафилококк	Количество жизнеспособных микробных клеток на ...мин (ч), КОЕ/мл					
	0	10 мин	20 мин	30 мин	3 ч	24 ч
<i>S.aureus</i> в растворе NaCl	10^6	10^6	10^6	10^6	10^6	10^6
<i>S.aureus</i> в растворе Ag +NaCl	10^6	$(6,6\pm 0,5) 10^4$	1560 ± 120	0	0	0
<i>S.aureus</i> в растворе Ag + NaCl+ трипсин	1120 ± 45	0	0	0	0	0

Анализируя полученные результаты представленные в таблице 2 по антибактериальной активности в отношении *S. aureus* следует отметить, что исходный раствор наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина уже с первых минут снижает численность микроорганизма до 1120 ± 45 , а полностью его инактивирует через 10 минут. Раствор наносеребра с добавлением натрия хлорида снижает численность микроорганизмов до 1560 ± 120 только на 20-ой минуте, а полностью блокирует жизнедеятельность золотистого

стафилококка через 30 минут. Отсюда следует, что бактерицидные свойства раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина в отношении золотистого стафилококка проявляются уже через 20 минут совместного инкубирования.

3.3 Токсикологическая оценка раствора наносеребра в комбинации с натрием хлорида и трипсином

Результаты оценки острой токсичности изучаемого раствора при внутрижелудочном введении, показали, что в течение первых 10...15 минут после манипуляции, животные как подопытной, так и контрольной групп были незначительно угнетены, затем проявляли рефлекс умывания, а двигательная активность и аппетит у них полностью возвращались по истечению первого часа. Влияние разовой дозы при внутрибрюшинном введении испытуемого раствора показало следующее. На начало эксперимента средняя масса мышей подопытной группы составляла $21,9 \pm 0,7$ г, а мышей контрольной группы - $21,5 \pm 0,8$ г. При этом масса в течение опыта у животных подопытной группы на 14-й день введения раствора достигла $22,0 \pm 0,6$ г, а масса мышей в контрольной группе равнялась $21,7 \pm 0,6$ г. При однократном внутрибрюшинном введении раствора наносеребра с натрием хлорида и трипсином установили, что у мышей подопытной группы в первый час отсутствовал аппетит, наблюдалось снижение двигательной активности, животные сидели, сторбившись, глаза были полузакрыты. У единичных мышей наблюдалась кратковременная отдышка. У животных контрольной группы отмечалась схожая картина. При наблюдении за мышами в течение 14 дней, после однократного введения исследуемого раствора, летального исхода не наблюдалось. Результаты исследования крови от животных подопытных и контрольных групп показали, что изучаемые величины не имели достоверных отличий. Вместе с тем, наиболее значимую разницу у подопытных в сравнении с животными контроля отмечали в сторону увеличения по количеству лейкоцитов (на 24,8%), тромбоцитов (на 25%), и снижения эритроцитов (на 13,8%).

Таким образом, однократное внутрижелудочное и внутрибрюшинное применение максимально разрешенного объема для введения (1,0 мл) раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина, не вызывало летального исхода, что в пересчете составило 40 000 мг/кг массы одной особи.

На втором этапе исследований провели токсикологическую оценку раствора наносеребра с растворенными натрием хлорида и трипсином при длительном его применении. При длительном назначении исследуемого средства, после каждой инъекции у подопытных животных наблюдалось непродолжительное угнетение, и отсутствие аппетита в первые 30...60 минут, затем двигательная активность полностью восстанавливалась и животные начинали поедать корм. Динамика изменений массы тела у мышей в подопытной и контрольной группах не имела достоверного отличия, однако у двух из них, которым инъецировали исследуемый раствор наносеребра и одной, получавшей физиологический раствор через 7 дней после начала эксперимента наблюдалось снижение массы тела более чем на 5% от исходной. На 8-е сутки одна из мышей подопытной группы перестала употреблять корм и погибла, а масса остальных животных вернулась к исходным значениям. При вскрытии погибшей мыши установили покраснение и гиперемию органов брюшной полости, а также обширное кровоизлияние на брыжейке толстой кишки, что, по видимому, явилось следствием механического воздействия инъекционной иглой. У мышей, подвергнутых эвтаназии через первые сутки и 14 дней после последней инъекции, каких-либо макроскопических изменений со стороны внутренних органов установлено не было, они занимали свою топографическую нишу, слизистые были розовыми и блестящими. При оценке хронической токсичности дополнительно часть мышей подвергли эвтаназии через сутки

после последней инъекции. Во время декапитации получали кровь, которую собирали в пробирки с антикоагулянтом и проводили морфологические исследования. Сравнивая гематологические показатели, выяснили, что у мышей в подопытной группе через сутки после последней инъекции испытуемого раствора наблюдался более выраженный анизоцитоз эритроцитов – на 2,7% ($P < 0,001$), а также выше на 2,3 пг/мл ($P < 0,05$) была концентрация гемоглобина в эритроците. Морфология крови через две недели после последней инъекции не имела достоверного отличия.

Следовательно переносимая доза раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина составляет более 40 000 мг/кг массы тела, что в соответствии с ГОСТом 12.1.007-76 позволяет отнести его к 4 классу опасности. Применение раствора в течение двух недель вызывает незначительные обратимые морфологические изменения в крови (гиперхромия и анизоцитоз эритроцитов), без каких-либо макроскопических изменений внутренних органов.

3.4 Влияние интрацистернального введения разных растворов наносеребра на молочную железу и организм клинически здоровых лактирующих коров

Эксперимент с испытуемым средством в количествах 10,0 мл и 20,0 мл через 24 часа после интрамаммарного назначения показал, что это обусловило существенное увеличение СК в 1,9 и 2,6 раза соответственно. Незначительное снижение числа клеток в подопытных долях вымени произошло по истечении 96 часов после введения раствора с наносеребром (до 1120 тыс./см³ и 1260 тыс./см³ соответственно). Полученные результаты по величине раздражения молочной железы не позволили перейти к клиническому испытанию раствора наносеребра, приготовленного на дистиллированной воде.

Поэтому следующим этапом испытаний стало изучение величины раздражающего действия раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида. Было показано, что назначение опытного раствора в объеме 10 см³ во внутрь цистерны соска по прошествии суток способствует повышению концентрации клеток секрета в 1,5 раза, а спустя два дня регистрировали снижение их численности, однако в 1,2 раза они превосходили их изначальный уровень. Затухание раздражения в паренхиме в экспериментальных долях вымени у данных животных отмечали спустя 3 дня от даты назначения экспериментального раствора.

Для определения влияния на клеточные структуры паренхимы вымени сложного раствора с содержанием частиц наносеребра, NaCl и фермента коровам в подопытные доли вымени после окончания очередной дойки в сосковую цистерну этот раствор назначали предварительно прогрет до 38-39°C одной группе животных в дозах 10 см³, а другой - 20 см³ (таблица 3).

Таблица 3 - Влияние интрацистернального введения различных доз раствора наносеребра с натрием хлорида и трипсином на число соматических клеток (тыс./см³) в молоке клинически здоровых коров (n=10)

Показатель	Изотоничный раствор натрия хлорида 10,0 см ³	Раствор наносеребра +NaCl +трипсин	
		10,0 см ³	20,0 см ³
Исходные значения	300± 23,9	207±16,1	372± 31,8
Через 12 часов	330±24,7	306±15,3*	650±43,9**
Через 36 часов	342±36,2	393±29,6**	500±27,1*
Через 72 часа	340±25,1	228±18,0	460±24,2
Через 96 часов	300±43,0	160±11,8*	395±22,6

* $P < 0,05$; ** $P < 0,001$ - по отношению к исходному значению

В результате выполненного научно опыта установили (таблица 3), что раствор наносеребра совместно с натрием хлорида и трипсина в дозе 10 см³ спустя 12 часов от момента введения способствовал повышению числа соматических клеток в секрете подопытных долей в 1,5 раза, а спустя 36 часов их численность возросла в 1,9 раза к моменту до начала эксперимента. Спустя 3 дня в секрете подопытных долей вымени отмечали существенно снижение количества клеток до близкого к изначальному уровню (228 тыс./мл). Кроме того, в сыворотке молока, спустя 96 часов от момента назначения раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина уровень общих иммуноглобулинов достиг величины 49,5±6,2 мг%, что выше первоначального показателя на 25,0 мг% (50,5%).

Экспериментальный раствор обусловил повышение в сыворотке крови клинически здоровых коров общего белка (на 1,6%), мочевины (на 43,2%), креатинина (достоверно на 55,5%), активности АЛТ и АСТ соответственно на 1,3 и 12,4%. Снижение коснулось альбумина (на 5,3%), общего билирубина (достоверно на 27,9%) и активности щелочной фосфатазы (на 9,6%).

3.5 Изучение терапевтической и экономической эффективности применения раствора наносеребра с натрием хлорида и трипсином при терапии лактирующих коров с катаром цистерны и молочных ходов

В предварительно выполненном эксперименте было доказано, что более эффективной в терапии коров, больных катаром цистерны и молочных ходов в острой фазе течения болезни оказалось процедура интрамамарного назначения сочетанного раствора наносеребра, соли и фермента в дозе 10 см³ с интервалом 12 часов.

Оценили сравнительную эффективность двух серебросодержащих препаратов в условиях производства (таблица 4).

Таблица 4 - Сравнительная эффективность двух серебросодержащих препаратов при катаральном остром и хроническом катаре цистерны и молочных ходов у коров в период лактации

Показатель	Ag + NaCl+трипсин	Ag-Маст
Острый катар цистерны и молочных ходов		
Количество коров	13	13
Количество долей	17	16
Количество введений	3	4
Выздоровело коров/%	8/61,5	5/38,4
Выздоровело долей,%	11/64,7	8/50
Осталось больных, коров (%) / долей (%)	5 (38,5%) / 6 (35,3%)	8 (61,6%) / 8 (50%)
Хронический катар цистерны и молочных ходов		
Количество коров	10	10
Количество долей	11	12
Количество введений	3	4
Выздоровело коров/%	6/60	4/40
Выздоровело долей,%	6/54,5	5/41,6
Осталось больных, коров (%) / долей (%)	4 (40%) / 5 (45,5%)	6 (60%) / 7 (58,3%)

Было доказано (таблица 4), что в случаях лечения коров с клиническими признаками острого катарального воспаления вымени при условии использования раствора наносеребра с натрия хлоридом и трипсином при меньшем количестве интрацистернальных введений выздоравливало больше коров (на 23,1%) и долей вымени (на 14,7%). При 3-кратном назначении раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина при хроническом катаральном мастите достигается выздоровление большего числа коров (на 20%) и долей вымени (на 12,9%) в сравнении с применением аналога.

Установили, что возникновение острого катара цистерны и молочных ходов сопровождалось у животных со стороны пораженных долей выраженной миграцией клеток крови (5000 тыс./мл).

На фоне применяемой терапии спустя двое суток регистрировали снижения количества клеточного состава до 3000 тыс./см³). Определение количества соматических клеток в секрете подопытных четвертей молочной железы после исчезновения признаков воспалительной реакции показало, что их присутствовало в объекте исследования на уровне 450 тыс./см³. Кроме того, было определено, что через 15 суток от даты выздоровления их насчитывалось в среднем 400 тыс./см³.

При этом концентрация количества антител в содержимом долей вымени у коров в начальной стадии воспалительной реакции равнялась 34,9±9,1 мг%. В день выздоровления отмечается повышение исследуемого показателя до 139,2±0,3 мг% (в 3,9 раза). Количество общих иммуноглобулинов в секрете подопытных долей вымени выходило на уровень интактных коров на 15-й день после исчезновения клинических признаков заболевания, однако на 18,1% его превышал. Расчет показал, что экономическая эффективность использования экспериментального раствора в лечебной практике на рубль затрат составила 19,8 рублей.

На следующем этапе научной работы изучили терапевтическую эффективность сочетанного применения раствора при сочетанном назначении новокаиновой блокады по Д.Д. Логвинову, с мастисептом и с цефтонитом (таблица 5).

Таблица 5 - Эффективность различных схем терапии коров при остром катаре цистерны и молочных ходов

Показатель	Экспериментальный раствор+новокаиновая блокада по Д.Д. Логвинову	Экспериментальный раствор + мастисепт	Экспериментальный раствор+ цефтонит
Подвергнуто лечению коров / долей вымени	17/20	17/19	17/20
Кол-во интрацистернальных введений	3	3	3
Выздоровело: коров/ %	13/76,5	11/64,7	14/82,3
долей вымени/ %	15/75	13/68,4	16/80
Срок выздоровления, суток	5,2±0,2	6,3±0,07	4,6±0,09

При сравнительном анализе результатов монотерапии (выздоровело 61,5% коров и 64,7% долей вымени) с комбинацией применения испытуемого раствора и короткой новокаиновой блокады нервов вымени по Д.Д. Логвинову установили (таблица 5), что этот лечебный прием повышает эффективность процедуры на 15 и 10,3%, а сочетанное использование экспериментального раствора и мастисепта соответственно лишь на 3,2 и 3,7%. Более предпочтительно выглядят результаты в группе животных, где применяли экспериментальный раствор с цефтонитом (на 20,8 и 15,3%). Процесс клинического выздоровления коров, больных катаральным маститом в этой форме при сочетанном применении испытуемого раствора и короткой новокаиновой блокады нервов вымени по Д.Д. Логвинову сопровождается достоверным повышением в их крови сывороточного альбумина (с 30,8 до 33,2 г/л), оптимизирующего коллоидно-осмотическое давление плазмы и транспортную функцию различных веществ почками деструктивных патологических конкрементов из очага воспаления под воздействием новых синтезируемых клеток в молочной железе. У коров этой подопытной группы в секрете пораженных долей в начале заболевания концен-

трация общих иммуноглобулинов равнялась $62,6 \pm 11,7$ мг%, что, видимо, связано с активизацией локального иммунитета, базирующегося на подъеме синтеза опсоинов, необходимых для элиминации микробных антигенов в указанный период. После клинического выздоровления изучаемый показатель снижается до $54,8 \pm 8,1$ мг%. Молоко у выздоровевших животных в диапазоне одного процента имели различия по сравнению со средними идентичными показателями сборного молока, по массовой доле белка, лактозы, сухого вещества, сухого обезжиренного молочного остатка и мочевины, а к показателям в среднем при привязном содержании к первым четырем. Затухание воспалительной реакции в вымени при сочетанном применении раствора наносеребра + натрия хлорида + трипсин с мастисептом сопровождалось активным расходом белков для синтеза структур общего и локального гуморального иммунитета, восстановлением функции гепатоцитов и напряженной фильтрационной работой почек. Концентрация Ig в содержимом долей вымени в начале заболевания достигало величины $30,1 \pm 2,3$ мг%. На фоне нейтрализации антигенов, оптимизации процесса лактогенеза их уровень повышался до $60,9 \pm 2,4$ мг%, что видимо, связано с активизацией локального иммунитета в указанный период. Изучаемые показатели молока по отношению к таковым клинически здоровых животных максимальную степень сближения из 9-ти показателей имели лишь по двум - по массовой доле белка (0,1%) и СОМО (1,1%).

Процесс саногенеза на фоне интрацистернального введения раствора наносеребра с натрием хлорида и трипсином в сочетании с цефтонитом протекал при активизации транспортной функции альбуминов, расхода аминокислот на синтез опсоинов и веществ, обладающих способностью к элиминации антигенов из очага воспаления в молочной железе, что обуславливало повышенную нагрузку на гепатоциты и не затрагивало фильтрационную способность почек.

Концентрация общих иммуноглобулинов в сыворотке секрета долей вымени у коров этой группы в начале заболевания достигала величины $60,9 \pm 8,4$ мг%, что видимо, связано с началом активизации локального гуморального звена иммунитета. В день клинического выздоровления их уровень достигает $104,1 \pm 3,4$ мг%, а через 15 дней понижается до $37,6 \pm 3,9$ мг%, что указывает на значительную нейтрализацию антигенов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При увеличении численности коров на сельскохозяйственных предприятиях Кировской области на 7,4% возросло число случаев их заболевания субклиническим (на 29%) и клиническим маститом (на 10,7%). Из пораженных долей вымени в 43% случаях выделяются *Staphylococcus* (*S. aureus* – 73,4%), в 34% - *Streptococcus* (*Str. agalactiae* 80,1%), в 18% - *Escherichia coli* и в 5% - *Pseudomonas aeruginosa*. Чаще воспалительный процесс возникает в задней правой доле (36,2 %) вымени. С каждым годом у высокопродуктивных коров выше порог заболеваемости маститом (50...59,4%), чем эндометритом (18...22%).

2. Эксперимент на музейных штаммах микроорганизмов показал, что бактерицидные свойства раствора наносеребра (2000 ppm) на водной основе проявляются через 24 часа, а в разведениях 1:10 и 1:100 - через 48 часов после совместной инкубации с *E.coli*. Растворы наносеребра, а также в комбинации с глицерином, бактерицидный эффект к золотистому стафилококку проявляли через 24 часа, а к раствору наносеребра в разведении 1:10 – через 48 часов. Бактерицидные свойства раствор наносеребра, приготовленный с добавлением натрия хлорида и трипсина, в нативном виде и растворенном в 2 раза, в отношении полевых штаммов *S. aureus* и *E. coli* проявляет через 24 часа. Добавление трипсина к раствору наносеребра с растворенным натрием хлорида обуславливает его бактерицидный эффект к *S. aureus* через 20 минут.

3. Переносимая доза раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина составляет более 40 000 мг/кг массы тела, что в соответствии с ГОСТом 12.1.007-76 позволяет отнести его к 4 классу опасности - малоопасные вещества. Применение испытуемого раствора в течение двух недель вызывает у лабораторных мышей обратимые гиперхромиию и анизоцитоз эритроцитов без каких-либо макроскопических изменений внутренних органов.

4. Раствор наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина обладает умеренным раздражающим действием на ткани молочной железы, которое длится до 72 ч. Степень раздражения зависит от объема вводимого раствора. Его интрацистернальное введение в дозе 10,0 мл приводит к увеличению в секрете вымени количества соматических клеток (в 1,5...1,9 раза) и общих иммуноглобулинов (на 50,5%). В крови у коров достоверно повышается креатинин (на 55,5%) и снижается общий билирубин (на 27,9%). При остром катаральном мастите раствор наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина интрацистернально следует назначать в дозе 10,0 мл с интервалом 12 часов и не более 3-х введений.

5. При остром катаральном мастите 3-кратное интрацистернальное введение раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина обуславливает исчезновение клинических признаков болезни у 61,5% коров и в 64,7% четвертей молочной железы, снижение в секрете вымени числа соматических клеток в 11,1 раз и повышение в 3,9 раза концентрации общих иммуноглобулинов. При этом экономическая эффективность применения раствора на рубль затрат составила 19,8 рублей.

6. Использование раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина в сочетании с короткой новокаиновой блокадой нервов вымени по Д.Д. Логвинову при остром катаре цистерны и молочных ходов в течение 5,2 суток обеспечивает клиническое выздоровление 76,5% коров на фоне достоверного повышения в крови альбумина (на 7,8%) и креатинина (в 2,4 раза). В молоке у животных регистрировали низкое количество общих иммуноглобулинов на 13,7%, БГБА (в 2,2 раза) и уровень мочевины (в 2,3 раза), а высокое - массовой доли белка (на 0,4%),

7. Раствор наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина в комбинации с мастисептом в течение 6,3 дней обуславливает выздоровление 64,8% животных на фоне снижения в крови общего белка (на 9,6%), альбумина (на 16,3%), активности АСТ (15,9%) и активизации АЛТ (на 5,7%). В молоке выздоровевших животных отмечаются более значимые величины общих иммуноглобулинов (на 50,6%), массовой доли жира (на 2,1%), лактоферина (на 50,5%) на фоне снижения мочевины (на 37,3%) и СОМО (на 1,1%).

8. Применение раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина в сочетании с цефтонитом через 4,6 суток обеспечивает исчезновение клинических признаков заболевания у 82,3% коров на фоне понижения в их крови концентрации общего белка (на 5,3%), креатинита (на 28,5%), повышения активности АЛТ (на 35,6%) и АСТ (на 16,2%). В молоке отмечается повышение общих иммуноглобулинов (на 41,4%), концентрация которых через 15 дней снижается на 63,8%.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

Для повышения бактерицидных свойств у раствора наносеребра (2000 ppm) необходимо на литр исходного раствора добавлять 9,0 г натрия хлорида и 500,0 мг трипсина.

Терапию лактирующих коров при остром катаре цистерны и молочных ходов целесообразно осуществлять путем интрацистернального введения раствора наносеребра (2000 ppm) с добавлением натрия хлорида и трипсина в дозе 10,0 см³ с интервалом 12 часов трехкратно в сочетании с внутримышечной инъекцией цефтонита по 10,0 см³ с интервалом 24 часа в течение 3-х дней.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наличие у раствора наносеребра с добавлением натрия хлорида и трипсина бактерицидных свойств к основным микроорганизмам, которые присутствуют в секрете молочной железы, но не столь высокая терапевтическая эффективность при его применении на коровах с воспалением вымени, создают предпосылки для изменения формы приготовления этого фармакологического средства. Несомненно, является открытым вопрос продолжения изучения его фармакологических и токсических свойств (аллергенных, эмбриотоксических, онкогенных и других). Перспективным направлением может стать разработка комплексного препарата для профилактики и терапии мастита у животных с наночастицами серебра, обладающего пенетрирующими свойствами. Широкие возможности для апробации раствора наносеребра открываются в области профилактики и терапии воспалительных заболеваний репродуктивных органов у животных.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах списка ВАК:

1 Оценка токсичности препарата на основе наночастиц серебра и протеолитического фермента / С.В. Николаев, И.Г. Конопельцев, М.В. Глухова, А.Ф. Сапожников, А.Г. Норкин //Международный вестник ветеринарии. -2020.-№ 3.- С. 52-57.

2 Заболеваемость коров маститом и свойства нового средства для его терапии /А.Г. Норкин,И.Г.Конопельцев,С.В.Николаев,М.В.Глухова//УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, 2021. - Том 245.- С. 131-137.

В других изданиях:

3 Заболеваемость коров маститом и антимикробные свойства растворов наносеребра с глицерином /А.Г.Норкин, И.Н.Токарев, И.П.Погорельский, И.Г.Конопельцев, М.В.Глухова, С.В.Николаев//Современные научно-практические достижения в ветеринарии: Сб. статей Междунар. научно-практ. конф, 27-29 октября 2020 года. - Выпуск 11. - Киров, 2020.-С.56-59.

4 Норкин А.Г. Антимикробные свойства растворов с наночастицами серебра /А.Г.Норкин, И.Г. Конопельцев, С.В. Николаев // Современная ветеринарная наука: теория и практика: матер. Междунар. научно-практ. конф., посвящ. 20-летию факультета ветеринарной медицины Ижевской ГСХА. – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2020. - С.112-119.

5 Доклиническая оценка раствора наносеребра с ферментом на токсичность /А.Г.Норкин, М.В.Глухова, С.В.Николаев, А.Ф.Сапожников, И.Г.Конопельцев //Современные научно-практические достижения в ветеринарии: Сб. статей Междунар. научно-практ. конф, 13-14 апреля 2021 года. - Выпуск 12. - Киров, 2021.- С.102-106.

6 Норкин А.Г. Сравнительная терапевтическая эффективность растворов серебра при катаральном мастите у лактирующих коров /А.Г. Норкин., С.А. Суслов, И.Г. Конопельцев//Современные научно-практические достижения в ветеринарии: Сб. статей Междунар. научно-практ. конф, 13-14 апреля 2021 года. - Выпуск 12. - Киров, 2021. - С.106-111.

7 Норкин А.Г. Распространение мастита у лактирующих коров и доклиническое испытание нового противомаститного средства /А.Г.Норкин, И.Г. Конопельцев, С.В. Николаев // Инновации в отрасли животноводства и ветеринарии: Сб. статей Междунар. научно-практ. конф., посвящ. 80-летию со дня рождения и 55-летию трудовой деятельности Заслуженного деятеля науки РФ, заслуженного ученого Брянской области, почетного профессора Брянского ГАУ, д-ра с.-х. наук Л.Н. Гамко, Брянск, 2021.- С.46-53.

8 Новый способ терапии коров при катаральном мастите в лактацию /И.Г. Конопельцев, А.Г. Норкин, А.Ф. Сапожников, С.А. Суслов //Национальной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, биотехнологии и морфологии». - Самара, 2021. - С. 85-87.