

На правах рукописи



ИДЕЛЬБАЕВ ИСЕНБАЙ

**РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОГО СПОСОБА ЛЕЧЕНИЯ КОРОВ ПРИ
РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ МАСТИТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ**

16 00 07 – ветеринарное акушерство и биотехника
репродукции животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

2 4 МАЙ 2007

Саратов - 2007

Работа выполнена на кафедре акушерства и хирургии ФГОУ ВПО
«Саратовский государственный аграрный университет
имени Н И Вавилова»

Научный руководитель	доктор ветеринарных наук, профессор Семиволос Александр Мефодьевич
Научный консультант	кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник Агольцов Валерий Александрович
Официальные оппоненты	доктор ветеринарных наук, профессор Попов Леонид Кириллович кандидат ветеринарных наук, доцент Кононенко Ираида Дмитриевна
Ведущая организация	Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К И Скрябина

Защита диссертации состоится «30» мая 2007 года в «11» часов
на заседании диссертационного совета – Д 220 061 01 в Федеральном
государственном образовательном учреждении высшего профессионального
образования «Саратовский государственный аграрный университет
имени Н И Вавилова» по адресу 410005, г Саратов, ул Соколова, 335

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО
«Саратовский государственный аграрный университет имени Н И Вавилова»
по адресу 410005, г Саратов, ул Соколова, 335

Автореферат разослан «25» апреля 2007 года и размещен на сайте
университета www/sgau.ru

Ученый секретарь
диссертационного совета



А В Егунова.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы Важной составляющей повышения качества животноводческой продукции является улучшение ветеринарного обслуживания, обеспечивающее снижение заболеваемости и выбраковки скота из-за потери ими продуктивных и племенных качеств (В Л Белкин, 1997, В А Париков, В Д Мисайлов, А Г Нежданов, 2005, J M Sargeant, H M Scott, 1998)

Ведущую роль в снабжении населения России необходимыми продуктами питания играет одна из ведущих отраслей АПК – молочное скотоводство Среди болезней, продолжающих наносить значительный экономический ущерб животноводству, значительное место занимают маститы коров (Т Е Григорьева, 1988, В Н Юрков, Л Ф Демидова, 1997, В И Слободяник, А Г Нежданов, 1999, Н А Родин, 1999, В Маугега, 1987)

Чаще всего воспалением молочной железы болеют высокопродуктивные коровы За период болезни потери молока на одну корову составляют в среднем 10-15% годового удоя У многих животных даже после выздоровления полного восстановления молочной продуктивности не наступает из-за необратимых изменений в тканях молочной железы Ежегодно до 30% переболевших маститами коров выбраковываются

Известно, что ведущая роль в воспалении молочной железы принадлежит микробному фактору Однако из-за полиэтиологичности данной патологии, попытки создания эффективного препарата, который бы обеспечивал специфическую профилактику мастита пока не принесли ожидаемого результата (И Д Кононенко, 1986 В К Копытин, 1999)

Значительная часть существующих препаратов в качестве действующего компонента содержит различные антибиотики Широкое использование таких препаратов не решило проблемы маститов, а способствовало появлению устойчивых к антибиотикам штаммов микроорганизмов (А И Ивашура, 1991, М А Багманов, 2001)

Негативное воздействие на организм больной коровы антибиотиков и связанное с ними снижение качества молока заставляет многих исследователей вести поиск эффективных противомаститных препаратов, не содержащих в своем составе антибиотиков

Разработка новых, эффективных, экологически безопасных способов лечения и профилактики мастита у коров, основанных на использовании биопрепаратов, крайне актуальна и необходима для успешного развития животноводства

Цель и задачи исследования Целью настоящей работы явилось изучение причин возникновения мастита у коров, разработка высокоэффективных способов лечения и профилактики данной патологии

Для реализации поставленной цели и в соответствии с выполнением задания РАСХН «Изучить молекулярно-генетические и клеточные механизмы создания экологически безопасных методов и средств профилактики и борьбы с болезнями животных, обеспечивающие устойчивое ветеринарное благополучие, высокое санитарное качество продуктов и сырья животного происхождения» (№ Госрегистрации 01 200 01) были поставлены следующие задачи

- изучить степень распространения маститов у коров в хозяйствах Саратовской области,

- установить основные причины и предрасполагающие факторы, способствующие возникновению мастита у коров,

- провести сравнительную терапевтическую оценку лечения коров с различными формами мастита, широко применяемых в ветеринарной практике лекарственных препаратов,

- разработать способ лечения и профилактики маститов у коров биологически активными препаратами, приготовленными из грибов рода *Candida*, *Aspergillus* и *Mucor*,

- изучить морфологические, иммунологические и биохимические показатели крови до применения и после лечения препаратами, приготовленными из микроскопических грибов,

- выявить возможные пирогенные, реактогенные и аллергенные свойства препаратов из грибов на организм лабораторных и сельскохозяйственных животных,

- разработать комплексный способ лечения коров, больных маститом с использованием грибковых анатоксинов и тиосульфата натрия,

- определить экономическую эффективность различных способов лечения и профилактики маститов у коров

Научная новизна работы. Установлена превалирующая роль микроорганизмов в возникновении маститов у коров в хозяйствах Саратовской области

Изучены аллергенные, пирогенные, реактогенные и иммуногенные свойства грибковых анатоксинов и их влияние на морфологические, иммунологические и биохимические показатели крови коров

Разработан способ лечения и профилактики различных форм мастита у коров с использованием биологически активных препаратов, приготовленных из грибов рода *Candida*, *Aspergillus* и *Mucor*

Практическая значимость работы. Предложен производству способ лечения и профилактики различных форм мастита у коров с использованием иммуноактивных препаратов, изготовленных из грибов рода *Candida*, *Aspergillus* и *Mucor*

Материалы диссертации вошли в «Рекомендации по диагностике, мерам борьбы и профилактике маститов коров» – Саратов - 2005, одобренные Советом Ассоциации «Аграрное образование и наука»

Апробация и внедрение результатов исследования. Основные положения диссертации были доложены и одобрены на ежегодных научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава факультета ветеринарной медицины ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ им Н И Вавилова» (2002, 2006, 2007), конференции, посвященной 119-й годовщине со дня рождения академика Н И Вавилова «Вавиловские чтения – 2006», на научно-практической конференции «Госсанэпидслужбе России – 80 лет», 24-25 октября 2002 года (Саратов, 2002), на международной научно-практической конференции, посвященной 10-летию кафедры экологии СГАУ им Н И Вавилова «Актуальные проблемы экологии на современном этапе развития сельского хозяйства», 21-25 февраля 2005 года (Саратов – Бонн, 2005)

Научно-практические разработки и предложения производству включены в программу мероприятий «Меры борьбы и профилактика маститов у коров» Управления ветеринарии Правительства Саратовской области

Опубликованные «Рекомендации по диагностике, мерам борьбы и профилактике маститов коров» используются зооветспециалистами сельхозпредприятий Саратовской области в практической работе

Результаты исследований используются при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по курсу ветеринарного акушерства, гинекологии и биотехники размножения животных ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ им Н И Вавилова»

Публикации Основные положения диссертации изложены в 8 работах, опубликованных в материалах международных и научно-практических конференциях, рекомендациях

Структура и объем диссертации Диссертация изложена на 137 страницах машинописного текста, содержит 33 таблицы и 3 рисунка, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, выводов и практических предложений. Список использованной литературы включает 279 источников, из них иностранных 66

Основные положения, выносимые на защиту.

- распространение мастита у коров в сельскохозяйственных предприятиях Саратовской области,
- изучение видового состава микроорганизмов, выделенных из секрета вымени больных маститом коров,
- сравнительная оценка эффективности лечения коров с различными формами мастита,
- разработка способа лечения и профилактики различных форм мастита у коров с использованием иммунобиологических препаратов, изготовленных из грибов рода *Candida*, *Aspergillus*, *Mucor* и иммуномодулятора тиосульфата натрия

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы исследований

Научно-исследовательская работа проводилась в период с 2001 по 2006 гг на кафедре акушерства и хирургии ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им Н И Вавилова», в отделе хронических инфекций ГНУ «Саратовская научно-исследовательская ветеринарная станция», в клинике гематологии и пропатографии ФГОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет» и в хозяйствах Саратовской области

Эпизоотологические и эпидемиологические исследования проводились с использованием данных статистической отчетности Управления ветеринарии Правительства Саратовской области, а также Центра госсанэпиднадзора Саратовской области

Изучали распространение различных форм маститов у коров в зоне Поволжья. Диагноз на клинические формы маститов ставили на основании анализа журналов первичного зоотехнического учета, а также клинического исследования животных общепринятыми методами

Субклинические (скрытые) маститы диагностировали с помощью 5%-ного раствора диастина, 2%-ного раствора мастидина, молочно-контрольных пластинок МКП-1, МКП-2 и пробы отстаивания

Клиническим и лабораторным исследованиям на маститы подвергнуто 1809 коров черно-пестрой и симментальской пород

Микробиологический анализ проб секрета молочной железы проводили в соответствии с «Методическими указаниями по бактериологическому исследованию молока и секрета вымени коров» (1983) Пробы секрета молочной железы высевали на простые и элективные питательные среды МПБ, МПА с 1%-ным раствором глюкозы, МПА с 10%-ным раствором NaCl, МПА с 5%-ми крови, Кит-Тароцци, Левина, бульон и агар Сабуро

Видовую принадлежность бактерий устанавливали с помощью определителя бактерий Берджи (1997), а грибов по А. И. Крылову (1999)

Исследования крови лабораторных и сельскохозяйственных животных на морфологические, иммунологические и биохимические показатели проведены с использованием 60 морских свинок, 65 кроликов и 231 коровы

Аллергенные, пирогенные и реактогенные свойства грибковых анатоксинов изучали с использованием 15 кроликов и 40 коров

Подсчет эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина и выведение лейкоцитарной формулы проводили в автоматическом гематологическом анализаторе «DATACELL – 16 plus», фирмы «HVCCELL»

Для определения ЦИКов использовали 3,75%-ный раствор полиэтиленгликоля – 6 000, с последующим определением плотности преципитата в у.е. Определение Т – лимфоцитов (Е-РОК) проводили по М. Gondal Т – хелперов и Т- супрессоров по способности теофиллина изменять активность розеткообразования Т – лимфоцитами. Определение В-лимфоцитов осуществляли методом комплементарного розеткообразования (ЕАС-РОК)

Общий белок сыворотки крови определяли биуретовой реакцией («Fluitest») на приборах «Stat – Fax» и ФЭК

Фракции белка определяли с помощью диагностического набора для электрофоретического разделения белков сыворотки крови. Приборное обеспечение «DVSE», фирмы «Sebia»

Для лечения коров с различными формами мастита использовали экспериментальные препараты, приготовленные из депонированных в ВГНКИ (г Москва) штаммов грибов *Candida albicans* № 253, *Aspergillus fumigatus* № 6 и *Mucor racemosus* № 195

Препараты из грибов готовили по технологии, предложенной Агольцовым В. А. (патент РФ № 2217163, 2003, патент РФ № 2230567, 2004 и патент РФ № 2270694, 2006)

Сравнительную терапевтическую и лечебно-профилактическую эффективность использования биопрепаратов из грибов рода *Candida*, *Aspergillus*, *Mucor* и общепринятых средств (мастицид, диофур, мастисан А, лактопен) при маститах коров изучали на животных, подобранных по принципу аналогов (порода, возраст, количество лактаций, форма мастита, масса тела)

Материалы экспериментальных и клинических исследований анализировали биометрически, с использованием критериев Стьюдента, а также константного метода

Экономическую эффективность различных методов лечения коров, больных маститом устанавливали по методике, предложенной И. Н. Никитиным (2000)

Полученные в процессе исследований цифровые показатели обрабатывали методами вариационной статистики по Е. К. Меркурьевой (1970, 1983), а также на

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Этиопатогенез мастита коров

Маститы у коров возникали как в период лактации, так и во время запуска, сухостоя, но чаще всего маститы регистрировали после отела

Клиническими исследованиями установлено, что наиболее часто регистрируется катаральная форма мастита (8,92%) Несколько реже отмечали серозный мастит (4,93%) Фибринозный и гнойный мастит – 3,12 и 3,26% соответственно Из 1378 коров клинические маститы установлены у 20,25% , субклинические – 15,24% коров, что говорит о достаточно широком распространении данной патологии вымени (табл 1)

Микробиологическими исследованиями патологического секрета вымени установлено, что течение воспалительного процесса в большинстве случаев сопровождалось присутствием различной микрофлоры Микроорганизмы в основном были представлены кокковыми формами, реже выделяли бактерии кишечной группы, микроскопические грибы и их ассоциации

Таблица 1 Распространение маститов у коров в хозяйствах Саратовской области

Хозяйство (кол-во коров)	Маститы										Всего гол / %
	серозный		катараль- ный		фибрино- зный		гнойный		субклини- ческий		
	гол	%	гол	%	гол	%	гол	%	гол	%	
СХПК «Рассвет» (320)	12	3,8	36	11,3	4	1,3	7	2,2	44	13,7	103/ 32,2
СХПК «Романовское» (460)	19	4,1	27	5,9	12	2,6	9	1,9	95	20,6	162/ 35,1
СХПК «Труд» (318)	7	2,2	18	5,7	16	5,1	11	3,4	31	9,74	83/ 26,1
СХА «Алексеевская» (280)	21	7,5	32	11,4	8	2,8	8	2,8	27	9,6	96/ 34,2
СХПК «Чкаловское» (180)	9	5,0	10	5,5	3	1,6	10	5,5	13	7,2	45/ 24,8
ИТОГО 1378	68	4,9	123	8,9	43	3,1	45	3,3	210	15,2	489/ 35,5

При проведении исследований, чаще других в патологическом секрете обнаруживали *S. aureus* Тогда как *S. agalactiae* по частоте выделения занимала лишь второе место в широком спектре возбудителей мастита

При анализе факторов, способствующих возникновению маститов было установлено, что патология молочной железы регистрируется в хозяйствах, где используют неисправное доильное оборудование, имеются нарушения в поддержании необходимого вакуума и нередки случаи изменения частоты пульсации, пережатие тканей молочной железы

Из predisposing факторов, способствующих возникновению маститов, основную роль играют отсутствие активного моциона, погрешности в кормлении (несбалансированность рациона, поражение кормов токсическими грибами). Установлено, что у коров, переболевших гинекологическими заболеваниями (задержание последа, эндометриты), в 32,4% случаев возникают различные формы мастита. Наличие предродовых отеков у коров, вследствие нарушения кровотока в молочной железе, способствуют снижению устойчивости паренхимы вымени к воздействию условно-патогенной микрофлоры. Нередко маститы возникали после пропуска очередного доения или неполного сдаивания молока. У отдельных коров, а чаще у первотелок, мастит регистрировали в связи с несоответствием размеров сосков и молочных стаканов аппаратов машинного доения.

Эпизоотологическое и эпидемиологическое значение мастита коров

Учитывая микробиологический фактор в этиологии мастита, было установлено, что последствиями употребления молока от больных маститами коров могут быть заболевания, вызывающие тяжелые случаи токсикоинфекций у людей, и особенно у детей.

При изучении роли и взаимосвязи молока, полученного от коров больных маститами и заболеваемостью телят и поросят, которым его скармливали, нами установлены следующие факты:

Так, в СХПК «Кряжское» Вольского района Саратовской области в 1997 году в результате выпаживания молока коров произошла острая вспышка пастереллеза, что привело к падежу почти 60% молодняка.

В СХПК «Родина» Краснокутского района в 1995 году установлена взаимосвязь мастита коров с возникновением сальмонеллеза телят.

Вспышка колиэнтерита поросят в индивидуальном фермерском хозяйстве Косян А.Н. (Краснокутский район) в 1999 году также была связана с выпаживанием им молока маститных коров, вызванного эшерихиями.

С этим же возбудителем (*E. coli*) связан падеж телят в СХА «Алексеевская» Базарнокарабулакского района в 2001 году.

В СХПК «Груд» Тагилевского района в 2001 году имела место вспышка сальмонеллеза у телят в возрасте от 2 до 30 дней с доказанным фактом возникновения заболевания после выпаживания молока, контаминированного сальмонеллами в паренхиме вымени коров.

В частном хозяйстве И.Ф. Кувакина (Краснокутский район) в 2002 году в результате скармливания путриям мяса коров, которые болели маститом (фибринозная гнойная форма), возникла вспышка сальмонеллеза.

На молочно-товарной ферме СХК «Большой Север» Лысогорского района в 2002 году зафиксирован случай массового падежа телят в возрасте до 1 месяца после употребления молока от маститных коров, вызванного ассоциацией бактерий *E. coli* и гриба *Candida albicans*.

По сведениям, предоставленным Центром санэпиднадзора г. Саратова, возбудители маститов коров нередко являются причиной не только пищевых токсикоинфекций и токсикозов человека, но и вызывают эритродермию, пустулезный и вульгарный псориазы, эндокардиты, менингиты, инфекционные заболевания мочевыводящих путей, ангины.

Таким образом, можно констатировать взаимосвязь мастита коров с заболеваемостью не только молодняка сельскохозяйственных животных, но и человека. Особенно важно отметить, что стафилококковые и эшерихиозные токсины термостабильны и, следовательно, тепловая обработка молока не приводит к их инактивации и они остаются потенциально опасными.

Сравнительная терапевтическая эффективность различных противомаститных препаратов

Препарат лактопен вводили 2 раза в сутки подкожно в область шеи в течение 4-5 дней. Мастисан А применяли интрацистернально один раз в сутки в дозе 10 мл в течение 4 дней. Мاستицид использовали интрацистернально один раз в сутки в дозе 10 мл в течение 4 дней. Диофур применяли интрацистернально один раз в сутки в дозе 10 мл в течение 4 дней.

Доза и способ введения препаратов для лечения коров опытных групп с клинической и субклинической формами маститов были аналогичными. Выздоровление животных контролировали клиническими и лабораторными методами исследования.

Экспериментальные исследования показали, что использование общеизвестных лекарственных препаратов для лечения коров с катаральной формой мастита способствовало выздоровлению 25,0-50,0% коров. Причем, после применения лактопена выздоровление при субклинической форме мастита отмечали у 30,0%, катаральной – 25,0% и гнойной – 10,0% коров.

От использования мастисана А выздоровление наступило при субклиническом мастите у 40,0 %, катаральном – 25,0 %, гнойном – 15,0 % коров. Почти аналогичными были результаты лечения коров мастицидом (табл. 2).

Следовательно, самая низкая терапевтическая эффективность установлена при использовании лактопена, а наиболее эффективным оказалось лечение коров диофуром. Об этом говорят результаты выздоровления и сроки лечения животных с различными формами мастита.

Кроме того, после клинического выздоровления коров опытных групп, которых лечили лактопеном, мастисаном А, мастицидом и диофуром при катаральной и гнойной формах мастита регистрировали в 18,4-34,72% случаев скрытую форму мастита.

Таблица 2. Сравнительная лечебная эффективность различных противомаститных препаратов (n=60)

Форма мастита	Препараты							
	Лактопен		Мастисан А		Мастицид		Диофур	
	выздор, %	срок лечен, сутки	выздор, %	срок лечен, сутки	выздор, %	срок лечен, сутки	вызд, %	срок лечен, сутки
Скрытый	30	9±0,6	40	8±0,4	45	7±0,8	65	4±0,8
Катаральный	25	12±0,6	25	10±0,6	25	10±0,4	50	8±0,3
Гнойный	10	14±0,8	15	12±0,4	20	12±0,3	40	10±0,7

Разработка способов лечения и профилактики маститов у коров биологически активными препаратами, приготовленными из грибов рода *Candida*, *Aspergillus* и *Mucor*

Ведущей тенденцией в системе мер, направленных на ликвидацию маститов коров в мировой ветеринарно-медицинской науке, является использование биологически активных препаратов, имеющих в своем составе полисахариды и пептидогликаны, характеризующиеся мощным воздействием на Т- и В – клеточные системы иммунитета и обладающие лечебно-профилактическим действием. Этим требованиям в полной мере отвечают препараты, приготовленные из клеточных стенок и цитоплазмы микробных клеток (бактерий, грибов и т.д.) по технологии вакцин – анатоксинов.

Изучение аллергенных, пирогенных и реактогенных свойств грибковых анатоксинов

Для изучения аллергенных свойств препаратов использовали кроликов, которым внутрикожно вводили анатоксины в дозах от 0,1 до 0,5 мл. За кроликами наблюдали в течение 7 суток.

Клинические наблюдения показали, что у отдельных животных появлялось незначительное покраснение кожи в области введения, проходящее в течение 2-4 часов. Рассасывание введенных внутрикожно препаратов происходило в течение 1-3 часов в зависимости от дозы.

При изучении пирогенных и реактогенных свойств грибковых анатоксинов, тест-дозу в объеме 1 см³ вводили внутривенно. Испытания проводили на 15 клинически здоровых кроликах обоего пола серого и черного окраса массой 2,5–2,6 кг, содержащихся на полноценном рационе.

Исходная температура подопытных кроликов была в пределах 38,9-39,4°C. Вначале кроликов проверяли на реактивность путем внутривенного введения 10 см³ 0,9%-ного стерильного непиrogenного раствора натрия хлорида, а затем испытуемых препаратов.

Препараты – анатоксины из грибов вводили в краевую ушную вену. Перед введением препаратов у кроликов дважды с интервалом 30 минут измеряли температуру. Различия в показателях не превышали ±0,1°C.

После введения препаратов температуру у кроликов измеряли через каждые 3 часа в течение 3 суток. Разница в температурах до введения препаратов и после не превышала ±0,2°C на всем протяжении испытаний.

Реактогенность препаратов определяли методом клинических наблюдений и исследований. Отклонений от физиологических показателей отмечено не было.

Материалы проведенных исследований позволили прийти к заключению о том, что изучаемые препараты не обладают аллергенными, пирогенными и реактогенными свойствами.

Гематологические показатели крови лабораторных животных, иммунизированных грибковыми анатоксинами

Исследования крови проводили до иммунизации морских свинок и кроликов и после реиммунизации. Общий анализ крови, лейкоцитарную формулу, изменения

Испытание препаратов проводились на коровах в условиях молочно-товарных ферм, где регистрировались клинически выраженные, а также субклинические формы маститов различной этиологии

Препараты испытывались с использованием различных доз, способов введения (подкожный, внутримышечный), кратности (одно-, двух- и трехкратно), интервалов между инъекциями. Препараты испытывались как на больных маститами коров, так и на клинически здоровых животных

На первом этапе исследований определяли дозу (объем) введения анатоксинов при подкожных и внутримышечных инъекциях. Испытывались дозы 3,0, 5,0, 7,0 мл на здоровых коровах. Для этого было сформировано 8 групп животных по 5 голов в каждой. Перед введением препаратов (утром), коровам измеряли температуру тела. После инъектирования анатоксинов термометрично проводили дважды в сутки (утром и вечером) в течение 5 дней.

В ходе проведения первого этапа исследования было установлено, что температура тела животных ни в одном случае не превысила физиологической нормы. У отдельных коров наблюдалась припухлость при подкожном введении в дозе 5,0-7,0 мл, проходящая в течение 12-24 часов. При внутримышечных инъекциях подобных явлений не отмечали даже при введении 7,0 мл как кандидозного, так и аспергиллезного и мукорозного препаратов.

Аппетит животных не менялся при обоих способах введения анатоксина, независимо от дозы препаратов.

Молочная продуктивность коров оставалась неизменной в течение всего срока наблюдений (7 дней).

Вторым этапом исследований было определение эффективности профилактики и лечения субклинических маститов у коров в зависимости от кратности внутримышечного введения препаратов в дозе 5 мл.

Препараты были испытаны при одно-, двух- и трехкратных введениях с интервалом в 5-7 и 10 дней.

Для определения профилактической эффективности коровам за 2 месяца до отела вводили препараты в указанной выше кратности. Для этого было сформировано 6 групп животных по 5 голов в каждой. В течение 6 месяцев за ними вели клиническое наблюдение. Дополнительно всех коров с интервалом в один в месяц исследовали на скрытые формы мастита с помощью 5%-ного раствора димастина и пробы отставания.

Было установлено, что для профилактики маститов, однократное введение всех изучаемых препаратов не достаточно. Двукратное и трехкратное инъектирование указанных выше препаратов дало одинаковые результаты, а наиболее экономически эффективно – введение анатоксинов дважды с интервалом 5-7 дней.

Полученные результаты по профилактической эффективности грибковых анатоксинов способствовали нахождению отправной точки оптимальной кратности введения препаратов с лечебной целью. Исходная кратность для терапии коров, больных маститами стала двукратная внутримышечная инъекция анатоксинов с интервалом 5-7 дней.

При проведении анализа кратности введения грибковых препаратов на эффективность лечения маститов установлено, что терапия скрытых и серозных маститов целесообразна при помощи двух- и трехкратного применения анатоксинов. Четвертое введение на выздоровление влияния не оказывает.

Использование для лечения коров, больных катаральным и, особенно, гнойным маститом только анатоксинов недостаточно эффективно и нуждается в дополнительном применении других средств и методов терапии

Влияние грибковых анатоксинов на морфологические и иммунологические показатели крови клинически здоровых и больных маститом коров

Перед введением анатоксинов у клинически здоровых и больных маститами коров кровь исследовали на количество эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобин, а также определяли абсолютное количество лимфоцитов и содержание *T*- и *B*-лимфоцитов

Аналогичные исследования проводили и через 14 дней после реинъекции одного из препаратов

Результаты гематологических исследований свидетельствуют, что препараты, приготовленные из грибов *Candida*, *Aspergillus* и *Mucor* в первую очередь, что очень важно, стимулируют иммунную систему клинически здоровых коров

Отмечается как абсолютное увеличение лимфоцитов (от 32,7 до 37%) так и *T*-лимфоцитов (от 2,7 до 3,4%) и *B*-лимфоцитов (от 50,4 до 58%) Количественное увеличение лейкоцитов (от 112 до 113%) также свидетельствует о повышении общей резистентности животных Отмечается и незначительное увеличение количества эритроцитов (от 17,4 до 20,5%), однако содержание гемоглобина в крови при этом не меняется

Изучение влияния анатоксинов на морфологический состав и иммунологические показатели крови коров больных маститом проводили через 14 суток после двукратного введения препаратов В опытах использовали 196 коров, больных серозным и катаральным маститами

Материалы проведенных исследований свидетельствуют, что количество красных и белых клеток крови, а также содержание гемоглобина через две недели после реинъекций препаратов становятся близкими по значению к физиологической норме (клинически здоровых коров) Абсолютное количество лимфоцитов к концу лечения достигает уровня реиммунизированных коров Относительное содержание *T*-лимфоцитов также приближается к показателям группы клинически здоровых коров Уровень *B*-лимфоцитов также снижается по сравнению с показателями, полученными до начала исследований

Исследования иммунобиологической реактивности здоровых и больных маститом коров, подвергнутых двукратным инъекциям препаратов, приготовленных из грибов *Candida*, *Aspergillus* и *Mucor* показали, что в организме животных происходят изменения, связанные с повышением резистентности и, в первую очередь, за счет увеличения абсолютного количества лимфоцитов, а также дифференцировки и нарастания *T*- и *B*-клеток, ответственных за формирование клеточного и гуморального иммунитета

Разработка способа лечения коров при различных формах мастита с использованием тиосульфата натрия

Для решения поставленной задачи на первом этапе исследований было изучено влияние данного препарата на морфологические и иммунологические показатели крови клинически здоровых коров

В СХПК «Рассвет» Краснокутского района было отобрано 15 клинически здоровых коров. Все животные были подвергнуты обследованию на отсутствие клинических форм маститов, а для диагностики субклинического мастита использовали 5%-ный раствор димастита и пробу отстаивания, после чего у отобранных коров исследовали кровь на некоторые гематологические и иммунологические показатели.

После проведения исследований крови клинически здоровых коров, животным внутримышечно один раз в сутки три дня подряд вводили по 20 мл 10% раствора тиосульфата натрия. По истечении 5 суток после последней инъекции кровь коров повторно исследовали на содержание эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина и популяции лимфоцитов.

Установлено, что после трехкратных внутримышечных инъекций 10%-ного раствора тиосульфата натрия у клинически здоровых коров достоверно увеличивается общее количество лейкоцитов, абсолютное число лимфоцитов и особенно их В-популяции. Содержание Т-лимфоцитов тоже возросло до $11,9 \pm 1,4\%$, но имеющаяся разница была недостоверной.

Изучение терапевтической эффективности тиосульфата натрия проводили, используя следующие схемы:

1 Один раз в сутки три дня подряд внутримышечно вводили по 20 мл 10%-ного раствора тиосульфата натрия.

2 Один раз в сутки шесть дней подряд внутримышечно вводили по 20 мл 10%-ного раствора тиосульфата натрия.

3 Один раз в сутки 3 дня подряд внутривенно вводили 60-70 мл 30%-ного раствора тиосульфата натрия в 200-300 мл 40%-ного раствора глюкозы.

Клинико-экспериментальные исследования показали, что после внутримышечного применения 10%-ного тиосульфата натрия в течение 3-х дней выздоровление коров при серозной форме мастита наступало на 4-6 сутки у 66,7% животных, а при катаральной форме мастита – 46,7%.

Шестикратное внутримышечное использование 10%-ного раствора тиосульфата натрия позволило добиться выздоровления у 73,3% коров при серозной форме мастита. Терапевтическая эффективность применения данного метода лечения коров с катаральной формой мастита оказалась ниже (46,7%).

Самая высокая терапевтическая эффективность получена от сочетанного использования 10%-ного раствора тиосульфата натрия и 40%-ного раствора глюкозы. Лечение коров с серозным маститом привело к выздоровлению 80%, а с катаральным – 60% животных. Срок лечения при этом сокращается до 3 суток.

Таким образом, использование 10%-ного тиосульфата натрия, обладающего иммуномодулирующими свойствами, наиболее эффективно при асептическом воспалении молочной железы.

Разработка комплексного способа лечения коров при различных формах мастита

Проведенный сравнительный анализ терапевтической эффективности различных способов лечения коров, больных маститом показал, что использование только одного из испытанных препаратов не обеспечивает желаемого результата

Учитывая, что препараты из грибов, а также тиосульфат натрия действуют в первую очередь как иммуномодуляторы и не могут непосредственно воздействовать на этиологию болезни, основное направление в исследованиях и в разработке комплексного подхода лечения коров при мастите, было уделено сочетанному использованию указанных выше препаратов и лекарственных средств, обладающих антимикробным действием

В качестве антимикробных противомаститных препаратов использовали мастицид и диофур в дозах и кратности введения, согласно существующим наставлениям по их применению

Анатоксины (кандидозный и аспергиллезный) применяли в дозе 5,0 мл внутримышечно двукратно, с интервалом между введениями 7 дней

Тиосульфат натрия использовали по двум схемам

- шестикратное ежедневное внутримышечное введение 10%-ного раствора в дозе 20,0 мл,

- трехкратное ежедневное внутривенное введение 30%-ного раствора с одновременным инъектированием 300 мл 40%-ного раствора глюкозы

В экспериментах по разработке комплексного лечения коров испытано восемь схем. Для этого было подобрано 150 коров с субклиническим маститом, 150 – с серозным и 150 – с катаральным. Работа проводилась в Татищевском и Краснокутском районах Саратовской области

Испытаны следующие схемы лечения коров, больных маститами

1-анатоксин *кандидозный* и мастицид, 2- анатоксин *кандидозный* и диофур, 3-анатоксин *аспергиллезный* и мастицид, 4-анатоксин *аспергиллезный* и диофур, 5- *тиосульфат натрия* (внутримышечно) и мастицид, 6- *тиосульфат натрия* (внутримышечно) и диофур, 7 - *тиосульфат натрия* (внутривенно) и мастицид 8 - *тиосульфат натрия* (внутривенно) и диофур (табл 3-5)

Экспериментальные исследования показали, что сочетанное применение препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием и антимикробным эффектом, позволяет добиться в отдельных случаях полного выздоровления коров, больных субклиническим и серозным маститами

Проведенный сравнительный анализ лечебной эффективности широко используемых в ветеринарной практике препаратов для лечения коров при маститах показал, что антибиотики и нитрофураны, входящие в их состав не обеспечивают желаемого результата санации вымени, даже при серозных маститах

Достаточно высокой эффективностью обладают растворы тиосульфата натрия. Проведенные анализы состава крови подтверждают, описанные в научной литературе, иммуномодулирующие свойства данного препарата, однако 100 % -го терапевтического эффекта от применения только растворов тиосульфата натрия, даже при сочетании его с 40 % -ным раствором глюкозы, добиться не удалось

**Таблица 3 Результаты комплексного лечения коров,
больных субклиническим маститом**

№ пп	Способ течения	Кол-во коров	Выздоровело		Срок выздоровле ния, сугки
			голов	%	
Опытные группы					
1	Анатоксин кандидозный и мастицид	15	14	93,3	7,8 ± 0,3
2	Анатоксин кандидозный и диофур	15	15	100	7,2 ± 0,4
3	Анатоксин аспергиллезный и мастицид	15	13	86,6	7,4 ± 0,5
4	Анатоксин аспергиллезный и диофур	15	15	100	7,2 ± 0,4
5	Тиосульфат натрия* и мастицид	15	11	73,3	7,6 ± 0,6
6	Тиосульфат натрия* и диофур	15	14	93,3	7,0 ± 0,2
7	Тиосульфат натрия** и мастицид	15	12	80	7,2 ± 0,4
8	Тиосульфат натрия** и диофур	15	15	100	7,2 ± 0,4
Контрольные группы					
9	Мастицид	15	5	33,3	8,8±0,6
10	Диофур	15	9	60	7,0±0,2

Примечание * - тиосульфат натрия внутримышечно,

** - тиосульфат натрия внутривенно

Наиболее эффективным средством борьбы с маститами различного происхождения, исходя из полученных результатов, оказался анатоксин, приготовленный из компонентов клеточной стенки гриба *Candida albicans*

Проведенные гематологические исследования показали, что данный препарат активизирует как клеточный, так и гуморальный иммунитет у коров. Однако использование только анатоксинов, по-видимому, не может обеспечить полноценное лечение коров, больных маститами

**Таблица 4 Результаты комплексного лечения коров,
больных серозным маститом**

№ пп	Способ лечения	Кол-во коров	Выздоровело		Сроки лечения (выздоровл ения) сутки
			голов	%	
Опытные группы					
1	Анатоксин кандидозный и мастицид	15	11	73,3	9,3 ± 0,3
2	Анатоксин кандидозный и диофур	15	12	80	9,0 ± 0,5
3	Анатоксин аспергиллезный и мастицид	15	10	66,6	9,3±0,3
4	Анатоксин аспергиллезный и диофур	15	15	100	10 ± 0,3
5	Тиосульфат натрия* и мастицид	15	9	60	7,8 ± 0,6
6	Тиосульфат натрия* и диофур	15	12	80	7,8 ± 0,6
7	Тиосульфат натрия** и мастицид	15	13	86,6	7,9 ± 0,3
8	Тиосульфат патрия**и диофур	15	15	100	7,8 ± 0,5
Контрольные группы					
9	Мастицид	15	4	26,6	10 ± 0,4
10	Диофур	15	7	46,6	8 ± 0,5

Примечание

* - тиосульфат натрия внутримышечно

** - тиосульфат натрия внутривенно

Вторым важным критерием оценки результатов лечения является длительность курса санации и сроки выздоровления

Использование противомаститных антимикробных препаратов необходимо проводить не менее 4 суток, с ежедневными инъекциями. Срок выздоровления - 9-10 дней

Применение растворов тиосульфата натрия, как внутримышечно, так и внутривенно, занимает 3-6 суток. Выздоровление наступает на 7-10 сутки

Таблица 5 Результаты комплексного лечения коров, больных катаральным маститом

№ пп	Способ лечения	Кол-во коров	Выздоровело		Срок выздоровле ния сутки
			голов	%	
Опытные группы					
1	Анатоксин кандидозный и мастицид	15	9	60	12,5 ± 0,5
2	Анатоксин кандидозный и диофур	15	12	80	11,5 ± 0,5
3	Анатоксин аспергиллезный и мастицид	15	9	60	12,5 ± 0,5
4	Анатоксин аспергиллезный и диофур	15	12	80	12,0 ± 0,5
5	Тиосульфат натрия* и мастицид	15	6	40	9,5 ± 0,5
6	Тиосульфат натрия* и диофур	15	9	60	9,0 ± 0,5
7	Тиосульфат натрия ** и мастицид	15	6	40	10 ± 0,5
8	Тиосульфат натрия** и диофур	15	9	60	9,5 ± 0,5
Контрольные группы					
9	Мастицид	15	3	20	14 ± 0,5
10	Диофур	15	6	40	12,5 ± 0,5

Примечание

* - тиосульфат натрия внутримышечно,

** - тиосульфат натрия внутривенно

Использование анатоксинов из грибов достаточно эффективно при двукратных внутримышечных инъекциях. Выздоровление наступает через 4-5 дней после повторного введения препарата.

Применение препаратов, действие которых направлено на подавление только микрофлоры, ставшей причиной возникновения мастита, не исключает возможности повторного воспаления паренхимы вымени. В перечень таких препаратов входят и испытанные нами мастисан А, мастицид и диофур.

Препараты, повышающие общую резистентность, за счет стимуляции иммунокомпетентных клеток (тиосульфат натрия, анатоксины), более предпочтительны при борьбе с маститами коров, однако они не обладают этиотропным действием.

Таким образом, можно сделать вывод, что применение только антимикробных противомаститных препаратов, а также только тиосульфата натрия и анатоксинов не может решить проблемы лечения коров с различными формами маститов.

Использование грибковых анатоксинов в профилактических целях, а также их применение в сочетании с антимикробными препаратами и, в частности, с диофуrom, повышают терапевтическую эффективность лечения коров при маститах.

Экономическая эффективность комплексного способа лечения коров, больных маститом

Экономический эффект на 1 рубль затрат комплексного способа лечения субклинического мастита с использованием кандидозного анатоксина и диофура составил 38 рублей, серозного мастита - 30 рублей, катарального - 17 рублей, что в 1,3 раза выше по сравнению с животными контрольных групп (мастицид, диофур)

При применении комплексного способа лечения коров с субклинической формой мастита с использованием тиосульфата натрия и диофура экономический эффект на 1 рубль затрат составил 38 рублей, серозного мастита - 23,5 рублей, катарального - 30 рублей, что в 1,3 раза выше по сравнению с коровами контрольных групп

Таким образом, результаты экономических расчетов свидетельствуют о том, что предлагаемые комплексные способы лечения различных форм мастита один из грибковых анатоксинов в сочетании с наиболее эффективным противомаститным препаратом этиотропного действия - диофуром и иммунокорректором (тиосульфат натрия), обеспечивают наибольшую экономическую эффективность при проведении терапевтических мероприятий по сравнению с их использованием по отдельности

ВЫВОДЫ

1 В хозяйствах Саратовской области субклинический мастит регистрируется у 7,2-20,6%, а клинически выраженные формы у 14,48-24,6% лактирующих коров

2 В патологическом секрете вымени у 69,75% больных маститом коров выделяется микрофлора, представленная в 26,02% случаев стрептококками (*S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *S. uberis*), в 32,28% стафилококками (*S. aureus*, *S. epidermidis*), в 11,45% палочковидной микрофлорой (*E. coli*), в 4,16% грибами (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *A. fumigatus*) и в 11,4% ассоциацией микроорганизмов

3 Внутривенное введение 60-70 мл 30%-ного раствора тиосульфата натрия в сочетании с 200-300 мл 40%-ного раствора глюкозы сопровождается выздоровлением коров с серозным маститом в 80%, катаральным - 60% случаев

4 Терапевтическая эффективность лечения коров с субклиническим маститом кандидозным анатоксином в сочетании с мастицидом составила 93,3%, с диофуром - 100,0%, с аспергиллезным анатоксином и диофуром - 100,0%, мастицидом в сочетании с тиосульфатом натрия при внутримышечном и внутривенном введениях - 73,3 - 80,0 %, соответственно, с диофуром в сочетании с тиосульфатом натрия при внутримышечном и внутривенном введениях - 93,3- 100,0% животных, соответственно

5 При лечении коров, больных серозным маститом кандидозным анатоксином в сочетании с мастицидом выздоровление наступает у 73,0%, в комбинации с диофуром - у 80,0%, аспергиллезного анатоксина в сочетании с мастицидом - у 66,6% с диофуром - у 100,0%, мастицидом в сочетании с тиосульфатом натрия при внутримышечном и внутривенном введениях - у 60,0-86,6%, диофуром в сочетании с тиосульфатом натрия при внутримышечном и внутривенном введениях - у 80,0-100,0% животных соответственно

6 При лечении коров с катаральной формой мастита выздоровление наступает после двукратного внутримышечного введения кандидозного анатоксина в дозе 5,0 мл в сочетании с интрацервикальным применением мастицида у 73,3%,

диофуrom – 80,0%, аспергиллезного анатоксина в комбинации с мастицидом у 60,0%, диофуrom – 80,0%, тиосульфатом натрия в сочетании с мастицидом у 40,0%, диофуrom – 60,0% животных

7 Терапевтическая эффективность применения одного мастицида при субклиническом мастите составляет 33,3% серозном – 26,6%, катаральном – 20,0%

8 Герапевтическая эффективность применения одного диофура при субклинической форме мастита составляет 60,0%, серозной – 46,6%, катаральной – 40,0%

9 Экономическая эффективность комплексного способа лечения коров с разными формами мастита с использованием анатоксинов, приготовленных из грибов рода *Candida* и *Aspergillus* в сочетании с диофуrom в 1,27-3,4 раза выше, чем только от применения диофура

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1 При лечении больных маститом коров использовать комплексную терапию с использованием этиотропных средств и иммуномодуляторов анатоксинов, приготовленных из грибов *Candida*, *Aspergillus* и *Mucor*, а также 10-30%-ные растворы тиосульфата натрия и диофура

2 Для профилактики мастита у коров в сухостойный период использовать двукратную, внутримышечную иммунизацию коров анатоксинами, приготовленных из грибов *Candida*, *Aspergillus* и *Mucor* в дозе 5,0 мл с интервалом 7-10 дней

3 Результаты исследований, изложенные в диссертации, рекомендуется использовать в учебном процессе для слушателей факультета повышения квалификации и при проведении семинаров для зооветспециалистов при изучении вопросов, связанных с патологией молочной железы у коров

СПИСОК ОСНОВНЫХ НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

1 Агольцов, В А Рекомендации по диагностике, мерам борьбы и профилактике маститов коров/ В А Агольцов, А Н Чичкин, И Идельбаев//Аквариус – Саратов, 2005 -27с

2 Агольцов, В А Изменения показателей крови кроликов, иммунизированных экспериментальными противогрибковыми вакцинами/В А Агольцов, И Идельбаев //Актуальные проблемы экологии на современном этапе развития сельского хозяйства – Саратов-Бонн, 2005 –С 138-140

3 Семиволос, А М Сравнительная эффективность лечения различных форм маститов у коров/А М Семиволос, И Идельбаев, В А Агольцов//Вавиловские чтения -2006 Материалы конференции, посвященной 119 –й годовщине со дня рождения академика Н И Вавилова, 4-8 декабря 2006 Секция ветеринарии и биотехнологии – Саратов, 2006 –С 89-92

4 Семиволос, А.М Эффективность применения препаратов из микроскопических грибов для лечения коров при маститах/ А М Семиволос, И. Идельбаев, В А., Агольцов //Вестник Саратовского госагроуниверситета им Н.И Вавилова. - Саратов, 2006 - №5 –С. 26-29.

5 Агольцов, В А Этиология мастита коров в хозяйствах Саратовской области/ В А Агольцов, И Идельбаев //Сборник материалов международной научно-практической конференции К 80-летию со дня рождения Н А Моисеенко 7-10 февраля 2006 –Саратов-Ухань-Гальвестон, 2006 - С 163-167

6 Агольцов, В А Этиозоотологическое и эпидемиологическое значение мастита коров/ В А Агольцов, И Идельбаев //Сборник материалов международной научно-практической конференции К 80-летию со дня рождения Н А Мосеенко 7-10 февраля 2006 –Саратов-Ухань-Гальвестон, 2006 - С 167-169

7 Агольцов, В А Оценка грибковых анатоксинов в зависимости от доз, способов и кратности введения для профилактики маститов у коров / В А Агольцов, А М Семиволос, И Идельбаев// Актуальные проблемы ветеринарной патологии, физиологии, биотехнологии, селекции животных Современные технологии переработки сельскохозяйственной продукции Сб мат всеросс конф 29 января-2 февраля 2007г - Саратов, 2007 - С 8-10

8 Идельбаев, И Рациональные методы лечения коров с различными формами мастита/И Идельбаев, А М Семиволос, В А Агольцов //Актуальные проблемы ветеринарной патологии, физиологии, биотехнологии, селекции животных Современные технологии переработки сельскохозяйственной продукции Сб мат всеросс конф 29 января-2 февраля 2007г - Саратов, 2007 - С 40-43

Подписано в печать 11 04 2007 Формат 60х84 1/16 Бумага офсетная
Печать трафаретная Объем 1,0 усл печ л Тираж 100 экз Заказ 51

Типография АВП «Саратовский источник»
Лиц ПД № 7-0014 от 29 мая 2000 г
г Саратов, ул Университетская, 42, оф 106
т 52-05-93