

На правах рукописи



**АЛИЕВ Аюб Юсупович**

**ЛЕЧЕБНАЯ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И  
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДОКСИМАСТА ПРИ  
СУБКЛИНИЧЕСКОМ МАСТИТЕ У КОРОВ**

16 00 07 - ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных  
16 00 04 – ветеринарная фармакология с токсикологией

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

25 01 -



Воронеж 2007

Работа выполнена на кафедре паразитологии, ветсанэкспертизы, акушерства и хирургии Дагестанской ГСХА, в отделах патологии молочной железы у коров, фармакологии и токсикологии Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии

Научные руководители

заслуженный деятель науки РФ,  
доктор ветеринарных наук,  
профессор **Париков**  
**Виталий Александрович**

заслуженный деятель науки РД,  
заслуженный ветврач РД,  
доктор ветеринарных наук,  
профессор **Устарханов**  
**Пайзудин Джамалудинович**

Официальные оппоненты

заслуженный деятель науки РФ,  
доктор ветеринарных наук,  
профессор **Мисайлов**  
**Владимир Дмитриевич**

кандидат ветеринарных наук,  
доцент **Кочетов**  
**Иван Алексеевич**

Ведущая организация

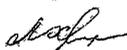
ФГОУ ВПО Ставропольский  
государственный аграрный  
университет

Защита состоится «15» ноября 2007 года в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 220 010 05 при ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет им К Д Глинки» (394087, г Воронеж, ул Мичурина, 1, тел (4732) 53-86-51)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет им К Д Глинки»

Автореферат разослан « 12 » октября 2007 года

Ученый секретарь диссертационного  
совета



Хромова Л Г

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**1.1. Актуальность темы.** Среди многих болезней коров, обуславливающих снижение молочной продуктивности, качества молока и его технологических свойств, а также вызывающих расстройство воспроизводительной функции и преждевременную выбраковку особое место занимает воспаление молочной железы - мастит. В течении года им переболевают от 20-25% до 60-70% животных. От переболевших маститом коров недополучают до 15-20% годового удоя ( Н В Притыкин, В И Михалев, В М Бирюков, Ю В Сергеев, 2005)

Наибольшую хозяйственно-экономическую проблему представляет субклинический (скрытый) мастит, который встречается в 4-7 раз чаще, чем клинически выраженный (А П Береснева, 1976, В И Слободяник, 1982, 1994, Н К Оксамитный, 1983) При однократном исследовании выявляется от 20 до 80% больных скрытым маститом лактирующих коров (Е В Копылова с соавт , 2002, В А Париков и др , 2005 и др )

О распространении мастита в разные физиологические периоды у коров приводят данные как отечественные так и зарубежные авторы. Во время запуска и сухостоя о заболеваемости маститом его терапии и профилактике сообщают (И И Архангельский с соавт, 1973, О А Симецкий, 1976, 1982, В И Рубцов, 1979, М Edmonds, 1979, Ю Н Полянцев, 1985, А Н Савостин, 1988, Р К Renau, 1983, Г В Зверева, В Н Олескив, 1984, В А Париков с соавт , 2001, В К Понамарев, 2002)

В тоже время о распространении различных форм мастита у коров в различные физиологические периоды молочной железы и его этиологии в условиях хозяйств Республики Дагестан публикаций за последние 15 лет не имеется. В годовых отчетах нет сведений о скрыто протекающем мастите.

В настоящее время нет также единого мнения о дозах, кратности и сроках интрацистернального введения антимикробных средств с целью профилактики и лечения мастита у коров в периоде запуска и сухостоя ( И И Архангельский, 1973, Е Висьневский, 1979, Н Г Гасанов, И Н Есин, 1980, Г Ф Коган, А Н Семенова, 1982, Э П Орлова, 1984, В М Морев, А П Береснева, А Р Корягина, 1984, Ю Н Полянцев, 1984, А Н Савостин, 1988, Н И Полянцев, 1997) Выпускаемые препараты для лечения и профилактики мастита все еще недостаточно эффективны.

В связи с этим изыскание новых высокоэффективных научно обоснованных способов и лекарственных средств для профилактики и лечения мастита у коров является актуальной задачей ветеринарной науки.

Учитывая изложенное, можно заключить, что профилактика и лечение мастита у коров в сухостойный период не достаточно разработаны и требуют совершенствования.

**1.2 Цель и задачи исследований** Целью работы явилось изучение распространения мастита у коров в хозяйствах Республики Дагестан и разработка эффективного нового препарата для лечения и профилактики субклинического воспаления вымени в периоде сухостоя.

Для проведения исследований были поставлены следующие задачи:

1. Выяснить формы проявления и степень распространения мастита у коров в хозяйствах Республики Дагестан
2. Изучить заболеваемость коров маститом в периоде лактации, запуска, сухостоя и после родов
3. Разработать новый препарат доксимаст для лечения и профилактики мастита у коров в периоде сухостоя и изучить его влияние на организм и молочную железу лактирующих коров
4. Определить сроки нахождения активнейшего вещества в молочной

железе коров находящихся в периоде сухостоя

5 Установить эффективность доксимаста для терапии и профилактики мастита у коров в сухостойном периоде

**1.3 Научная новизна.** В хозяйствах Республики Дагестан проведены диагностические исследования коров на субклинический мастит и установлена высокая заболеваемость их во все физиологические периоды молочной железы Разработана лекарственная форма нового более эффективного препарата доксимаст для лечения и профилактики субклинического мастита у коров в сухостойный период, показана его высокая антимикробная активность, а также терапевтическая и профилактическая эффективность

**1.4. Практическая значимость.** Проведенными исследованиями выявлена высокая заболеваемость коров субклиническим маститом в хозяйствах республики Дагестан которые, послужили основанием для разработки и утверждения рекомендаций по диагностике, терапии и профилактике субклинического мастита у коров в периоде запуска и сухостоя в хозяйствах республики Дагестан Разработан новый препарат доксимаст для лечения и профилактики мастита у коров в сухостойном периоде

**1.5. Внедрение результатов исследований** Материалы исследований вошли в «Рекомендации по диагностике, терапии и профилактики субклинического мастита у коров в периоде запуска и сухостоя в хозяйствах республики Дагестан», утверждены и одобрены научно-техническим советом Департамента по ветеринарии при Минсельхозе Республики Дагестан (протокол №2 от 14 02 2007г )

**1.6. Апробация работы** Основные материалы диссертационной работы доложены и обсуждены в годовых отчетах Дагестанской ГСХА и научно-практических конференциях академии 2005-2007гг , материалах республиканской научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Ивана Филипповича Заянчковского «Актуальные проблемы физиологии и патологии размножения животных» Уфа, 2007, на Международной научно-практической конференции, посвященной 40-летию кафедры акушерства Ставропольского ГАУ «Актуальные проблемы ветеринарного акушерства, гинекологии и биотехники размножения животных», Ставрополь 2007, на первом съезде ветеринарных фармакологов России « Достижения ветеринарной науки - на вооружение практическому животноводству», Воронеж 2007

**1.7. Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 2 работы в центральной печати и рекомендации по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров в периоде запуска и сухостоя в хозяйствах Республики Дагестан

**1.8. Объем и структура диссертации.** Материал диссертации, изложен на 123 страницах компьютерного текста, включает введение, обзор литературы, материал и методы исследований, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, выводы, практические предложения, список использованной литературы и приложения Список литературы включает 263 источника, в том числе 70 зарубежных авторов Диссертация иллюстрирована 31 таблицами и 3 рисунками

**1.9 На защиту выносятся следующие положения.**

1 Заболеваемость коров субклиническим маститом в периоде лактации, запуска, сухостоя и после родов

2 Разработка и изучение нового препарата для лечения и профилактики субклинического мастита у коров в периоде запуска и сухостоя

3 Терапевтическая и профилактическая эффективность нового препарата для лечения и профилактики мастита у коров в сухостойном периоде

## 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 2004-2007 годах на кафедре паразитологии, ветсанэкспертизы, акушерства и хирургии Дагестанской ГСХА, в отделах патологии молочной железы коров, фармакологии и токсикологии Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии

Распространенность и формы проявления мастита у коров в периоде запуска, после родов и во время лактации изучали путем сдаивания секрета молочной железы в молочно-контрольную пластинку МКП-2 с добавлением равного количества 2%-ного раствора мастидина. Всех положительно реагирующих животных исследовали повторно с интервалом 48 часов для дифференциации раздражения вымени. Сухостойных коров исследовали аналогично, но с добавлением 5%-ного раствора мастидина. Всего было проверено 4079 коров. Клиническое исследование животных проводили путем визуального осмотра, пальпации, обращали внимание на дыхание, руминацию, пульс, частоту сердечных сокращений и температуру тела.

Более тщательно обследованию подвергали молочную железу проводили наружный осмотр, пальпацию и пробное сдаивание.

От коров больных субклиническим маститом взято 65 проб секрета молочной железы для проведения бактериологических исследований с целью выявления видового состава микроорганизмов и определения их чувствительности к антибиотикам доксициклин и другим антимикробным веществам, а также бактериостатической и бактерицидной активности доксимаста. Бактериологические исследования нами проведены в Республиканской ветеринарной лаборатории в отделе бактериологических исследований методом высева секрета вымени по 0,1 мл на 5%-ный кровяной агар. После 24-часов инкубации в термостате при 37° С учитывали характер роста микроорганизмов. Для дифференциации стафилококков, микрококков и стрептококков применяли методику, предложенную сотрудниками института ВНИВИПФиТ (В. А. Париков, В. И. Слободяник, Г. Н. Кузьмин и др., 1981).

Антимикробную активность препарата изучали методом серийных разведений (В. И. Антонов, 1986) в отношении референтных и полевых штаммов микроорганизмов – основных возбудителей мастита, типированных по морфологическим, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам. Минимальную бактериостатическую концентрацию (МБСК) выявляли в мясопептонном бульоне, минимальную бактерицидную концентрацию (МБЦК) путем высева из пробирок с МПБ на плотные питательные среды. Содержание микробных клеток в 1 мл среды составляло 200 тыс. рН мясопептонного агара и мясопептонного бульона составляла 7,2-7,6.

Чувствительность стафилококков, стрептококков к доксициклину определяли с помощью приготовленных бумажных дисков.

Изучение острой токсичности препарата проводили общепринятыми методами (М. П. Бельский, 1963, О. Н. Елизарова, 1971, И. В. Санюцкий, 1970). Эксперименты проведены на половозрелых конвенциональных нелинейных разнополых белых мышах с массой тела 20-22 г (191 гол.) и белых крысах с массой тела 200-225 г (132 гол.), разведения вивария Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии.

Определение параметров токсичности препарата в остром опыте проведены при однократном внутривенном и подкожном введении.

Среднетельную дозу - LD<sub>50</sub> - определяли аналитическим способом Спирмена-Кербера (Лакин Г. Ф., 1990) и с помощью пробит-анализа с использованием прикладной программы «Статистика +2003». Величины LD<sub>16</sub> и LD<sub>84</sub> для белых мышей и белых крыс определяли графически на основании

соответствующих пробитов и доз в мг/кг массы тела, показатель ошибки средней дозы эффекта -  $SLD_{50}$  - аналитически и графически

Подострую токсичность препарата изучали на беспородных белых крысах обоего пола массой 100-110 г. Препарат вводили ежедневно один раз в день в течение 14 суток

Раздражающее действие препарата на кожу изучали в опытах на кроликах, которым наносили препарат в чистом виде. Площадь нанесения составляла 80-82 см<sup>2</sup> (5% от общей поверхности тела животных)

Для изучения влияния препарата на конъюнктиву глаз кролика были проведены опыты на животных породы белый великан

Аллергенность препарата определяли с помощью кожнопровокационной пробы (О.Л. Алексеева, Л.А. Дуева, 1978) при кожной аппликации, реакцию кожи учитывали по шкале оценки проб (С.В. Суворов, 1974)

Общее действие на организм животных изучали в опытах на кроликах при одно- и многократном подкожном введении препарата с учетом клинического состояния животных, гематологических, биохимических и иммунологических показателей

Кровь для проведения биохимических исследований у крыс получали из сердца у наркотизированных животных, а у коров из яремной вены, утром перед кормлением. В качестве антикоагулянта использовали ЭДТА-Na<sub>2</sub> или гепарин

Опыт по установлению времени нахождения доксимаста в секрете молочной железы и в крови проведен на 17 коровах симментальской породы в сухостойный период. Опытным коровам (15 гол.) вводили доксимаст внутривенно однократно по 10 мл. Две коровы служили контролем, им препарат не вводили

У коров опытной (по 3 гол.) и контрольной групп брали секрет молочной железы и кровь для определения доксициклина гидрохлорида через 2, 4, 6, 8 недель после введения препарата. Определение содержания доксициклина проводили методом диффузии в агар. При проведении исследований руководствовались "Методическими указаниями по определению остаточных количеств антибиотиков в продуктах животноводства" № 3049-84 от 29.06.84

Подсчет соматических клеток в молоке проводили методом Прескотта и Брида. Пробу отстаивания учитывали через 16-18 часов после выдержки пробирок с секретом в холодильнике при 4-8°C по В.И. Мутовину (1974),

Изучение влияния нового препарата на молочную железу лактирующих коров изучали на 3 клинически здоровых коровах на 3-5 месяце лактации

Через 3, 6, 12, 24, 48, 72 и 96 часов после интравенного введения препарата в дозе 10 мл определяли состояние опытных и контрольных четвертей вымени визуально и с помощью пальпации, а также исследовали внешний вид молока и секрета молочной железы, его цвет, запах, количество соматических клеток, пробу отстаивания, реакцию с 2%-ным раствором мастидина

Изучение терапевтической эффективности различных доз доксимаста при субклиническом мастите у коров проводили на 40 больных коровах

Диагноз на мастит в период запуска ставили на основании клинического обследования животных и молочной железы, а также ее секрета с 2%-ным раствором мастидина и пробой отстаивания

Всех больных животных по принципу парных аналогов разделили на 2 группы. Коровам первой группы (n=20) вводили препарат в дозе 5 мл внутривенно в подогретом до 37°C, а второй группе (n=20) - 10 мл. Перед введением соски вымени обрабатывали 70°C спиртом

Выздоровевшими считали тех коров, у которых при клиническом обследовании организма и молочной железы не обнаруживали признаки воспаления. Была отрицательной реакция молозива с 2%-ным раствором мастидина. Количество соматических клеток менее 500 тыс. через 24 часа после

отела, при отрицательной пробе отстаивания

Установление оптимальных доз нового препарата для профилактики субклинического мастита проведено на 57 клинически здоровых животных, разделенных по принципу аналогов на 3 группы, которые в период лактации переболели маститом, но при исследовании молока в конце запуска реакция с 2%-ным раствором мастидина была отрицательной

Коровам первой группы (n=20) вводили препарат в дозе 10 мл интрацистернально в подогретом до 37°C виде, коровам второй группы (n=20) - 5 мл, а коровам третьей группы (n=17) - 2,5 мл

Учет профилактической эффективности препарата проводили также в первые сутки после отела путем постановки реакции молозива с 2%-ным раствором мастидина и пробы отстаивания

Для широких производственных испытаний по изучению терапевтической эффективности нового препарата было подобрано 73 коровы, у которых в период запуска был диагностирован субклинический мастит. Животных по принципу аналогов распределили на 3 группы

Коровам первой группы (n=28) вводили препарат интрацистернально в дозе 10 мл подогретый до 37°C, второй (n=30) вводили тетрамаст в дозе 10 мл подогретый до 37°C, а третьей группе (n=15) орбенин DC 3 мл

С целью изучения эффективности нового препарата для профилактики мастита у сухостойных коров переболевших в период лактации было подобрано 100 животных, разделенных по принципу аналогов на четыре группы. Коровам первой группы (n=27) - вводили новый препарат в дозе 10 мл - второй (n=29) - тетрамаст в дозе 10 мл, третьей группе (n=15) - орбенин DC в дозе 3 мл, а четвертая группа (n=29) - препарат не вводили (отрицательной контроль)

Учет терапевтической и профилактической эффективности нового препарата доксимаста, в сравнении с тетрамастом и орбенином DC проводили в первые сутки после отела

Расчет экономической эффективности препаратов при лечении и профилактике мастита у коров в сухостойный период проводили в соответствии с «Методикой определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий» (Ф.Ф. Белоусов, В.А. Чулков, 1984)

Статистическая обработка полученных данных проведена методами математической статистики, принятыми в биологии и медицине (Г.Ф. Лакин, 1973, Е.В. Гублер, 1978), а также с использованием прикладных программ «Statistica 5.0» и «Microsoft Excel» на PC «Pentium III»

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Распространение и экономический ущерб от мастита у коров в хозяйствах Республики Дагестан

В Дагестане ведущей отраслью сельского хозяйства было и остается животноводство. Оно составляет в среднем 65-80% прибыли от всех доходов хозяйств

В новых рыночных условиях увеличение объема валовой продукции животноводства будет осуществляться не за счет роста численности поголовья, а главным образом за счет повышения его продуктивности

Опыт развития сельского хозяйства свидетельствует о том, что исторически сложившееся направление молочного скотоводства является наиболее выгодным и целесообразным в хозяйствах Республики Дагестан. Здесь создан уникальный генофонд таких молочно-мясных пород, как красная степная - 66%, симментальская - 15%, кавказская бурая - 13%, швицкая - 5,0%, черно-пестрая - 1,0%. Животные этих пород отличаются высокой мясной и молочной

продуктивностью, лучше приспособлены к местным природно-климатическим условиям

Для выяснения распространения и форм проявления мастита у коров в хозяйствах республики нами были получены данные из комитета по ветеринарии, которые и приведены в таблице 1

Приведенные выше данные свидетельствуют только о клиническом мастите у лактирующих коров, поэтому мы изучили заболеваемость коров субклиническим маститом в периоде запуска, сухостоя, после родов и во время лактации в 6-ти хозяйствах

Не зависимо от физиологического состояния молочной железы скрытое воспаление ее встречается во все периоды

- лактация - 23,6%,
- запуск - 27,1%
- сухостой - 22,6%,
- после родов - 20,6%,

Общее состояние коров при субклиническом мастите находилось в пределах физиологической нормы, не отмечалось изменений внешнего вида молочной железы. При пальпации ткань долей вымени, была упруго-эластичной и безболезненной

По общероссийской статистике (Бойко А В, Волкова М Н, 2004) недополучение молока по причине заболевания коров маститом составляет в среднем 10-15% от годового удоя. В основном потери происходят во время болезни и в последующий период выздоровления, кроме того, у части коров из-за длительного лечения возникают необратимые изменения тканей молочной железы, вследствие чего резко снижается продуктивность.

Хозяйства республики недополучали тысячи тонн молока, ухудшались его качество и технологические свойства

### **3.2. Разработка нового препарата доксимаст для терапии и профилактики субклинического мастита у коров в период сухостоя**

Терапия и профилактика мастита в периоде сухостоя коров является наиболее рациональной по сравнению с периодом лактации. В это время может достигаться не только санация молочной железы, но и лечение хронически протекающего мастита, который трудно излечим в период лактации.

Профилактика и терапия мастита в периоде сухостоя является также и наиболее экономичной, так как не производится браковка молока, по причине наличия в нем ингибирующих веществ, что необходимо делать в период лактации после лечения мастита. Поэтому в период сухостоя можно применить препараты, содержащие антибиотики и другие ингибирующие вещества на пролонгированной основе.

Учитывая выше изложенное, нами совместно с сотрудниками отдела фармакологии и токсикологии, и отдела патологии молочной железы у коров Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии разработан новый препарат, содержащий активно действующее вещество доксициклин и основу, в которую в качестве пролонгатора включен алюминия стеарат.

Таблица 1

Заболееаемость коров маститом в хозяйствах Республики Дагестан

№ п/п	Года	Количество коров	Больных маститом	Формы проявления клинического мастита							
				серозный		катаральный		гнойно- катаральный		фибринозный	
				коров	%	коров	%	коров	%	коров	%
1	1999	379643	24050	7611	31,6	6357	26,5	6887	28,6	3195	13,3
2	2000	362545	21184	7401	34,9	5540	26,2	5330	25,2	2909	13,8
3	2001	365753	19191	5350	27,8	4943	25,7	4895	25,5	4003	20,8
4	2002	371105	17553	5375	30,6	4547	25,9	5007	28,5	2624	15,0
5	2003	379990	18795	7214	38,4	4243	22,5	5341	28,5	1997	10,6
6	2004	379071	19500	6993	35,8	5405	27,7	6113	31,4	989	5,1
7	2005	385424	18881	6657	35,2	4997	26,4	5382	28,6	1845	9,8
8	2006	390050	19373	6651	34,3	5120	26,5	5782	29,8	1820	9,4

### 3.2.1 Антимикробное действие препарата доксимаст

При бактериологическом исследовании секрета молочной железы больных субклиническим маститом коров в периоде запуска в Республиканской ветеринарной лаборатории нами в 86,2% выделена различная микрофлора. Наибольшее число проб секрета содержит золотистый стафилококк – 32,1%, эпидермальный стафилококк – 23,2%, сапрофитный стафилококк – 19,6%, агалактийный стрептококк – 17,9% и стрептококк вымени – 7,2%

Результаты определения чувствительности выделенных микроорганизмов к антибиотикам и другим антибактериальным средствам приведены в таблице 2

Таблица 2

Чувствительность микрофлоры, выделенной из секрета вымени больных субклиническим маститом коров, к антибактериальным средствам

№ п/п	Антибактериальные средства	Зона задержки роста				
		staph aureus	staph epider midis	staph saprophitucus	str agalactie	str uberis
1	неомицин	10,0±0,71	19,4±1,66	12,5±0,67	13,7±1,33	17,2±1,46
2	левометицин	21,3±1,95	8,6±1,45	21,3±1,89	20,1±1,19	8,0±0,56
3	стрептомицин	7,6±0,21	15,7±1,07	12,6±0,73	7,1±0,67	19,4±0,73
4	гентамицин	21,6±1,80	19,9±1,43	25,2±2,09	7,9±0,71	12,0±1,46
5	ампицилин	18,6±1,35	24,6±2,43	8,9±0,71	11,7±0,54	13,8±0,78
6	канамицин	8,4±0,53	7,2±0,46	11,3±0,13	5,3±0,17	10,2±0,46
7	эритромицин	18,6±1,17	17,8±0,82	9,1±0,77	19,6±1,72	20,7±1,73
8	фуразолидон	21,8±1,47	20,2±1,87	20,8±1,74	10,1±1,53	19,7±1,47
9	тетрациклин	28,7±2,48	26,7±1,96	25,3±2,06	23,6±1,76	20,5±0,78
10	доксидиклин	30,2±2,91	27,3±2,30	24,9±2,17	28,7±2,29	29,3±2,77
11	энрофлоксацин	18,6±1,73	16,7±0,62	20,6±1,73	13,4±0,96	20,1±1,19
12	фуракридин	22,6±0,96	21,6±1,82	17,6±1,17	20,5±1,83	20,8±1,97
13	бензилпенициллин	8,1±0,26	10,3±0,73	8,6±0,43	12,3±0,11	7,9±0,42

Приведенные в таблице данные свидетельствуют, что золотистый стафилококк и агалактийный стрептококк, являющиеся основными возбудителями мастита, более чувствительны к доксициклину, левометицину и тетрациклину и малочувствительны к канамицину, бензилпенициллину и неомицину

Полученные нами данные о чувствительности микрофлоры к антибиотикам и другим антибактериальным препаратам свидетельствуют о том, что изолируемые из секрета молочной железы коров больных субклиническим маститом, микроорганизмы обладают наибольшей чувствительностью к доксициклину и тетрациклину

Изучение антимикробной активности нового препарата проведено на патогенных культурах микробов выделенных из секрета вымени больных маститом коров, а также на музейных штаммах

Данные по определению антимикробной активности приведены в таблице 3

Таблица 3

Антимикробная активность нового препарата доксимаст (мкг/мл)

№ п/п	Культура микроба	МБСК	МБЦК
1	стафилококк золотистый-209 Р	7,8	7,8
2	стафилококк золотистый – 589	3,9	7,8
3	стрептококк агалактийный- 586	3,9	7,8
4	стрептококк агалактийный – 587	3,9	3,9
5	стрептококк гр D-588	7,8	250,0
6	стрептококк гр D-640	31,25	31,25
7	кишечная палочка -643	7,8	250,0

Как следует из таблицы 3 новый препарат доксимаст, содержащий в своем составе доксициклин, обладает широким спектром и высоким бактерицидным действием в отношении возбудителей мастита. Так, доксимаст подавляет рост кокковой микрофлоры в концентрации 3,9-7,8 мкг/мл, более устойчивым оказался стрептококк группы D - 31,25 мкг/мл. Бактерицидное действие в отношении стафилококка золотистого и стрептококка агалактичного препарат проявил в дозе лишь в два раза превышающей бактериостатическую. Тогда как в отношении кишечной палочки и стрептококка группы D бактерицидная концентрация составила 250 мкг/мл.

### 3.2.2. Острая и подострая токсичность препарата доксимаст

Определение параметров токсичности нового препарата в остром опыте при однократном внутрижелудочном и подкожном введении выполнили на двух видах лабораторных животных - белых крысах и белых мышах. Одновременно у этих животных изучили симптомы острого экспериментального отравления препаратом, содержащим доксициклин. Павших животных и особей, перенесших отравление препаратом, подвергали патологоанатомическому вскрытию.

В первой серии опытов препарат испытан при однократном внутрижелудочном введении, который вводили в дозах от 5000,0 до 30000,0 мг/кг массы тела в объеме 0,6 мл на мышь и 6,0 мл на крысу (дозы являются предельно допустимыми по объему для перорального введения). Высшие дозы для белых мышей и белых крыс свыше 15000 мг/кг вводили в два приема, по половине дозы с интервалом 2 часа.

Гибели животных при введении препарата в изученных дозах за весь период наблюдения за животными (14 дней) не отмечено.

Среднелетальную дозу - LD<sub>50</sub> препарата, доксимаст при пероральном введении определить не удалось, так как при введении препарата в максимально возможных дозах 30000,0 мг/кг - белым мышам и белым крысам, не отмечалось гибели животных. Препарат по степени токсичности относится к IV классу опасности - малоопасные вещества (ГОСТ 12 1 007-76).

Во второй серии опытов по изучению острой токсичности препарат вводили подкожно в объеме для белых мышей - 1,0 мл, для белых крыс - 5,0 мл.

На основании результатов первичных токсикометрических исследований были получены данные позволившие определить параметры острой токсичности препарата при подкожном введении, которые представлены в таблице 4.

Таблица 4

Параметры острой токсичности препарата для лабораторных животных при однократном подкожном введении (мг/кг)

Вид животных	Параметры токсичности					SLD <sub>50</sub>
	МПД	LD <sub>16</sub>	LD <sub>50</sub>	LD <sub>84</sub>	LD <sub>100</sub>	
белые мыши	4000,0	6177,3	12706,1 (10600-14800)	19278,8	21500,0	±1038,0
белые крысы	4500,0	8118,7	13841,9 (11900-15800)	19701,5	22000,0	±968,0

Изучение подострой токсичности нового препарата проводили на 40 белых крысах самцах с массой тела 100-110 г при подкожном введении препарата в течение 14 дней.

Проведенными исследованиями установлено, что многократное парентеральное применение нового препарата в дозе 276,8 мг/кг массы тела (1/50 LD<sub>50</sub>, полученной при изучении острой токсичности), а также в дозе 692,1 мг/кг

массы тела и 1384,2 мг/кг массы тела (1/20 и 1/10 LD50 в остром опыте) не вызывает существенных изменений в клиническом состоянии животных поведение, аппетит, частота дыхания у всех животных опытных групп, как в период применения препарата, так и в течение недели после окончания его применения оставались в пределах нормы

Препарат не оказывает влияние на гематологические показатели животных. Об этом свидетельствует отсутствие различий в содержании гемоглобина, количества эритроцитов, лейкоцитов, а также в лейкоцитарной формуле у крыс контрольной и опытной группы

При исследовании крови животных, получавших препарат в дозах 276,8 и 692,1 мг/кг массы тела, не отмечено достоверных изменений в биохимических показателях и показателях иммунного статуса по сравнению с показателями в крови животных контрольной группы

При увеличении дозы препарата отмечалась устойчивая тенденция к более напряженному функционированию выделительной системы и печени

При 14-ти дневном применении препарата в дозе 1384,0 мг/кг массы тела (1/10 LD50 полученной при определении острой токсичности) у крыс достоверно возрастало содержание в сыворотке крови мочевины на 30,0%, креатинина – на 15,5%, активность АлАТ- на 27,1%. Однако среднее значение этих показателей у крыс опытной группы находилось в пределах нормы для данного вида животных. С увеличением дозы препарата наблюдалось также достоверное возрастание бактерицидной активности на 20,1%

### 3.2.3. Раздражающее и аллергенное действие препарата доксимаст

Опыты по изучению раздражающего действия на кожу тела проведены на кроликах с массой тела 2,2-2,4 кг. Количество животных в опытных и контрольных группах составляло по 6 особей. Исследуемый препарат наносили в «чистом» виде. Площадь нанесения составляла для кроликов 80-82 см<sup>2</sup> (5% от общей поверхности тела животных), однократного нанесения

Согласно полученным данным при однократной аппликации на кожные покровы кроликам при плотности нанесения от 0,020 до 0,10 г/см<sup>2</sup> препарат на основе доксициклина не вызывает повреждение кожи в виде эритемы или ее отеков

Изучение действие доксимаста при многократном применении проводили путем нанесения его на правый, выстриженный и выбритый, участок опытных животных в течение 15 дней по 1 разу. Контрольным животным на правую сторону наносили основу

Опыт показал, что длительное накожное применение основы и препарата не приводит к изменению контролируемых показателей. Выстриженные и выбритые участки в период наблюдений у животных опытной группы заросли молодой шерстью, которая не отличалась по густоте от шерсти животных контрольной группы

Не установлено изменений поведения и аппетита животных. Не отмечено различий температуры тела и живой массы в обеих группах кроликов. Толщина складки выстриженной и выбритой кожи животных контрольной и опытной групп на протяжении 20-ти дневного срока наблюдения не отличалась

Опыты по изучению аллергенных свойств препарата проведены на белых беспородных крысах массой 200-220 г при накожном применении в чистом виде. Препарат наносили на протяжении трех недель по 6 раз в неделю. Первое тестирование путем нанесения препарата содержащего в своем составе доксициклин в дозе в 5 раз превышающую сенсибилизирующую

В эксперименте установлено, что 20-тикратная аппликация препарата не вызывает явлений сенсибилизации

### 3.2.4. Фармакокинетические параметры препарата доксимаст

Опыт проведен на 17 коровах симментальской породы в сухостойный период. Опытным коровам (15 гол.) внутривенно вводили однократно препарат, содержащий в своем составе доксициклин, по 10 мл. Две коровы служили контролем, им препарат не вводился.

У коров опытной (n=3.) и контрольной групп (n=3) брали секрет молочной железы и кровь для определения доксициклина гидрохлорида через 1; 2; 4; 6; 8 недель после введения препарата. Определение содержания доксициклина проводили микробиологическим методом диффузии в агар. При проведении исследований руководствовались "Методическими указаниями по определению остаточных количеств антибиотиков в продуктах животноводства" № 3049-84 от 29.06.84.

Однократное внутривенное введение препарата на основе доксициклина в дозе 10 мл обеспечивает сохранение препарата в секрете молочной железы и соответственно в доле вымени в течение 6 недель (рис. 1). Содержание доксициклина в крови у коров через 1, 2, 4 и 6 недель составляло соответственно 4,12; 7,64; 3,75 и 0,72 мкг/мл (рис.2).

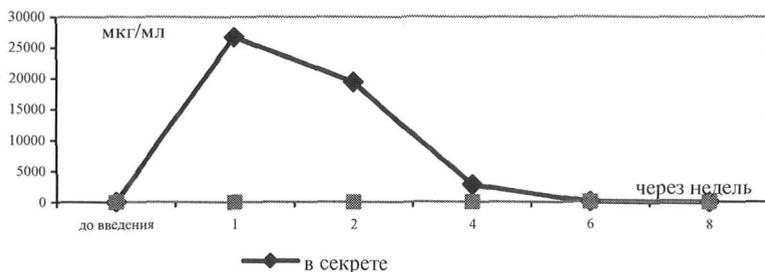


Рис. 1. Содержание доксициклина в секрете молочной железы

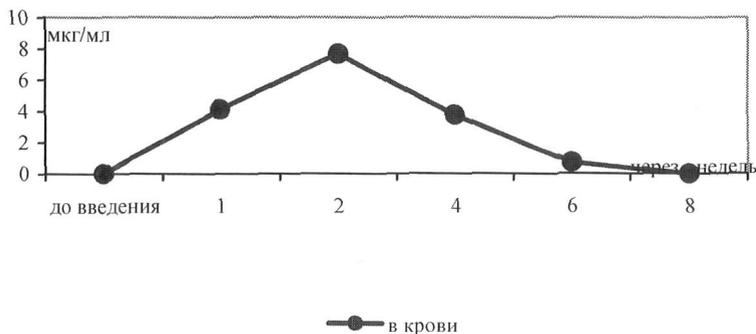


Рис. 2. Содержание доксициклина в крови

Через 8 недель после введения препарата доксимаст в дозе 10 мл доксициклин не детектируются как в секрете молочной железы, так и в крови. Таким образом, остаточные количества препарата не обнаруживаются через 8 недель после применения доксимаста.

### 3.3.6. Изучение влияния нового препарата доксимаст на молочную железу и организм лактирующих коров

Проведенными исследованиями в период 3-96 часов после интрацистернального введения нового препарата в дозе 10 мл 3 клинически здоровым коровам на 3-4 месяце лактации, не установлено заметных изменений со стороны общего состояния организма животных (таблица 5).

Таблица 5

Влияние доксимаста на показатели общего состояния организма коров

Сроки исследования, час	Показатели			
	Т°С	пульс	дыхание	руминация
до введения	37,9±0,06	76,0±0,78	15,7±0,20	4,7±0,20
3	38,7±0,06	74,3±0,98	17,0±0,40	4,7±0,20
6	37,9±0,08	74,7±1,37	16,0±0,78	4,3±0,20
12	38,0±0,04	75,0±1,37	16,7±0,20	4,0±0,00
24	38,0±0,19	75,0±0,98	15,7±0,78	4,3±0,20
48	37,9±0,06	75,6±1,17	16,3±0,40	4,7±0,20
72	37,8±0,04	71,3±2,40	18,0±0,40	4,3±0,20
96	37,7±0,06	76,3±0,98	17,0±0,78	4,3±0,20

Из приведенных в таблице данных следует, что температура тела, частота пульса, количество дыхательных движений, сокращение рубца оставались в пределах физиологической нормы. Местная температура опытных симметричных четвертей молочной железы не повышалась. Надвымянные лимфатические узлы по консистенции, подвижности и величине соответствовали исходным данным. Кожа осталась эластичной, безболезненной.

В период 3-48 часов после введения препарата в пробирке, при проведении пробы отстаивания, плазма молока и сливки из левых передних – опытных долей имели бледно желтоватые капельки на поверхности (примесь препарата). В дальнейшем выдаваемое молоко из всех четвертей вымени было внешне нормальным по цвету, консистенции, запаху и однородности.

Реакция секрета молочной железы из опытных долей с 2%-ным раствором мастидина в течение 48 часов была положительной. Проба отстаивания во все периоды исследования была отрицательной.

Количество соматических клеток (таблица 6) в секрете опытных долей вымени коров после введения доксимаста содержащим доксициклин, увеличивалось через 3 часа в 1,93 раза (с 206,3+19,4 тыс /мл до 399,7+33,9), через 6 ч - в 3,59, через 12 ч - в 7,9, через 24 ч - 9,11, через 48 ч - 3,41 раза и к 72 ч - приближается к исходному уровню (228,7+23,8 тыс /мл).

Установленное нами повышение количества соматических клеток после интрацистернального введения нового препарата свидетельствует о незначительном его раздражающем действии на молочную железу животных. По данным R. Miller (1977) вводимые внутривыменно лекарственные средства, вызывающие незначительное раздражение тканей молочной железы, со сроком не более 96 часов, пригодны для интрацистернального введения при лечении коров, больных маститом.

Таблица 6

Количество соматических клеток тыс/мл после интрацистернального введения нового препарата

Сроки исследования, час	№ 1		№ 2		№ 3		В среднем	
	опыт (л/п)	контроль (п/п)	опыт (л/п)	контроль (п/п)	опыт (л/п)	контроль (п/п)	опыт (л/п)	контроль (п/п)
до введения	184	219	156	187	279	309	206,3± 19,34	238 3± 27,4
3	293	351	472	212	434	373	399 7± 33 9	312 3± 36 8
6	760	564	813	471	654	522	742 3± 53 6	519 0± 26 2
12	1491	721	2129	564	1298	553	1639,3± 256 2	612,7± 74,3
24	1627	771	2245	809	1767	460	1879,6± 185 3	680,0± 29 3
48	906	485	583	601	626	530	704,6± 98,5	538,7± 20,7
72	310	329	249	261	127	343	228 7± 23,8	311 0± 14 3

Учитывая отсутствие отрицательного влияния на молочную железу, при интрацистернальном введении нового препарата, мы решили применить его для лечения и профилактики мастита у коров в сухостойный период

#### 3.4. Изучение эффективности нового препарата доксимаст для лечения и профилактики субклинического мастита у коров в сухостойный период

Терапевтическую эффективность нового препарата при субклиническом мастите у коров изучили на 40 больных коровах. Животных по принципу парных аналогов разделили на 2 группы. Коровам первой группы (n=20) вводили препарат в дозе 5 мл интрацистернально в подогретом до 37°C виде, а второй - (n=20) в дозе 10 мл перед введением соски вымени обрабатывали 70°этиловым спиртом. Препарат вводили после последней дойки коровам, уходящим в сухостой.

Результаты терапевтической эффективности различных доз нового препарата при субклиническом мастите у коров приведены в таблице 7

Таблица 7

Терапевтическая эффективность различных доз нового препарата при субклиническом мастите у коров в сухостойный период

Дозы препарата	Подвергнуто лечению		Выздоровело				Осталось больных			
	коров	долей	коров	%	долей	%	коров	%	долей	%
5мл	20	76	14	70,0	60	79,0	6	30,0	16	21,0
10мл	20	78	17	85,0	69	88,4	3	15,0	9	11,6

Препарат доксимаст в дозе 10 мл при однократном интрацистернальном введении в конце запуска по сравнению дозой 5 мл оказывает наибольший терапевтический эффект. Лечебная эффективность препарата в дозе 10 мл составила при субклиническом мастите 85,0%, что выше на 15,0% по сравнению с коровами первой группы. При этом пораженность долей молочной железы субклиническим маститом снизилась на 9,4%.

Отработка оптимальных доз препарата для профилактики субклинического мастита проведена на 57 клинически здоровых животных, разделенных по принципу аналогов на 3 группы, которые в период лактации переболели маститом, но при исследовании молока в конце запуска реакция с 2%-ным раствором мастидина была отрицательной.

Коровам первой группы (n=20) вводили новый препарат в дозе 10 мл интрацистернально в подогретом до 37°C виде, а коровам второй группы - (n=20) 5 мл, а коровам третьей группы (n=17) в дозе 2,5 мл.

Как следует из таблицы профилактическая эффективность доксимаста, введенного в дозе 10 мл, составляет 95,0%. Эффективность препарата в дозе 5 мл на 15% ниже, а в дозе 2,5 мл на 24,5% ниже в сравнении с дозой 10 мл

Таблица 8

Эффективность различных доз доксимаста для профилактики субклинического мастита у коров в сухостойный период

Дозы препа- рата	Подвергнуто обработке		Выздоровело				Осталось больных			
	коров	долей	коров	%	долей	%	коров	%	долей	%
2,5мл	17	65	12	70,5	53	81,5	5	29,5	12	18,5
5мл	20	74	16	80,0	63	85,1	4	20,0	9	14,1
10мл	20	76	19	95,0	73	96,0	1	5,0	3	4,0

Таким образом доза 10 мл доксимаста является более оптимальной

#### 3.4. Результаты производственных испытаний препарата доксимаст

Результаты изучения терапевтической эффективности препарата доксимаст в производственных условиях при субклиническом мастите у коров представлены в таблице 9

Из таблицы следует, что однократное внутрикостеральное введение нового препарата в конце запуска коровам, больным субклиническим маститом, способствует выздоровлению 85,7% животных и 83,6% долей молочной железы, в то время как после применения тетрамаста выздоровление наступает только у 73,3% животных и 76,0% долей молочной железы. В результате применения орбенина ДС, выздоровление наступило у 93,3% коров и 95,2% долей молочной железы

Таблица 9

Терапевтическая эффективность нового препарата при субклиническом мастите у коров

Препараты	Количество		Не заболело				Заболело				Атрофия	
	коров	долей	коров	%	долей	%	коров	%	долей	%	долей	%
доксимаст	28	55	24	85,7	46	83,6	4	14,3	9	16,4	0	0
тетрамасг	30	71	22	73,3	54	76,0	8	26,7	17	24,0	0	0
орбенин ДС	15	42	14	93,3	40	95,2	1	6,7	2	4,8	0	0

Таким образом, проведенные нами исследования в производственных условиях по лечению субклинического мастита в начале сухостойного периода показали, что новый противомаститный препарат на пролонгированной основе при однократном интракостеральном введении превосходит терапевтическую эффективность тетрамаста на 12,7%, но уступает орбенину ДС в среднем на 7,6%. Однако стоимость дозы, предлагаемого препарата в среднем в 4-5 раз дешевле орбенина ДС

Результаты производственных испытаний нового препарата для профилактики субклинического мастита у коров в сухостойный период представлены в таблице 10

Таблица 10

Профилактическая эффективность нового препарата при субклиническом мастите у коров в сухостойный период

Препараты	Количество		Не заболело маститом				Заболело				Атрофия	
	коров	долей	коров	%	долей	%	коров	%	долей	%	долей	%
Доксимаст	27	97	25	92,5	92	94,8	2	7,5	5	5,2	0	0
Тетрамаст	29	109	24	82,7	98	89,9	5	17,3	11	10,1	0	0
Орбенин ДС	15	57	14	93,3	55	96,4	1	6,7	2	3,6	0	0
Контроль	29	108	21	75,0	87	80,5	8	25,0	17	19,5	4	3,7

Как следует из таблицы 10 профилактическая эффективность нового препарата введенного во все доли вымени коров, переболевших в период лактации субклиническим маститом, составила 92,5%, что выше на 9,8% по сравнению с применением тетрамаста и на 17,5%, по сравнению к контрольной группой животных (без введения препаратов) и только на 0,8% уступает орбенину ДС

Таким образом, нами установлено, что введение препарата доксимаст в дозе 10 мл интрацистернально в начале сухостойного периода переболевшим маститом коровам в периоде лактации, во все доли экономически оправдано, так как обеспечивает достаточно высокую профилактику мастита в послеродовом периоде

Экономическая эффективность от применения доксимаста для терапии субклинического мастита на одну корову составляет 44,4 руб на 1 рубль затрат, а профилактическая – 54,6 руб на 1 рубль затрат

#### 4. Выводы

1 Субклинический мастит у коров в хозяйствах республики Дагестан имеет широкое распространение во все периоды физиологического состояния молочной железы Он выявлен у 23,6% коров - во время лактации, 27,1%- во время запуска, 22,6% - сухостоя и 20,6% - послеродовом периоде

2 У коров больных субклиническим маститом в 86,2% выделена различная микрофлора в том числе *Staph aureus* – 32,1%, *Staph epidermidis* – 23,2%, *Staph saprophyticus* – 19,6%, *Stragalactiae* – 17,9%, *Struberis* - 7,2%

3 Разработанный препарат доксимаст для лечения и профилактики субклинического мастита у коров в сухостойный период содержит активное действующее вещество доксициклин и основу включающую в качестве пролонгатора алюминия стеарат

4 Бактерицидное действие доксимаста в отношении основных возбудителей мастита золотистого стафилококка и агалактийного стрептококка составляет (3,9-7,8 мкг/мл)

5 Препарат оказывает умеренное раздражающее действие на молочную железу лактирующих коров, проходящее через 72 часа и относится к противомаститным препаратам с малой токсичностью LD50 при внутримолочном введении превышает 30000мг/кг, а при подкожном введении составляет 12706,1 мг/кг (4 класс токсичности)

6 Доксимаст после однократного интрацистернального введения в дозе 10 мл удерживается в молочной железе сухостойных коров в течении 42-50 дней, в бактерицидной концентрации

7 Терапевтическая эффективность препарата введенного в пораженные

субклиническим маститом доли молочной железы в дозе 10 мл в конце запуска (после последнего доения) составила - 85,7%, а профилактическая 92,5%

8 Экономическая эффективность применения нового препарата для терапии субклинического мастита на одну корову составляет 44,4 руб на 1 рубль затрат, а профилактическая – 54,6 руб на 1 рубль затрат

### 5. Практические предложения

1 В период запуска проводить исследования всех коров на заболеваемость субклиническим маститом

2 Для профилактики и терапии субклинического мастита у коров в периоде сухостоя вводить (после последнего доения) во все четыре доли вымени препарат доксимаст в дозе 10 мл

### 6. Список работ, опубликованных по теме диссертации

1 **Алиев А.Ю.** К ситуации по маститам в агрофирме «Дарада-Мурада» Гергебильского района/ А Ю Алиев // Сборник материалов региональной научно-практической конференции студентов, аспирантов, молодых ученых «Молодые ученые – АПК Республики Дагестан» посвящается 60- летию победы в Великой Отечественной войне Махачкала 2005 С 176-177

2. **Алиев А.Ю.** К вопросу лечения и профилактики маститов коров в Дагестане/ А Ю Алиев, П Д Устарханов, В А Париков// Международная научно-практическая конференция, основные проблемы, тенденции и перспективы устойчивого развития сельскохозяйственного производства Юбилейная, посвященная 80-летию члена корреспондента РАСХН, Заслуженного деятеля науки РСФСР и РД, профессора М М Джамбулатова Махачкала 2006 С 53-54

3 Париков В А Антимикробная активность и раздражающее действие препарата для лечения и профилактики мастита у коров в сухой период /В А Париков, Н Т Климов, Г А Востраилова, Л Е Ефанова, **А.Ю.Алиев**// Материалы республиканской научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора ИВАНА ФИЛИППОВИЧА ЗАЯНЧКОВСКОГО 8 февраля 2007 года Актуальные проблемы физиологии и патологии размножения животных Уфа 2007 С 38-42

4 Париков В А О нозологии скрыто протекающих патологий в молочной железе коров/ В А Париков, Н Т Климов, Н В Притыкин, Д М Пониткин, **А.Ю.Алиев**, В И Зимников, А М Модин, А В Чурсин// Российский ветеринарный журнал Сельскохозяйственные животные Специальный выпуск май- 2007 -С 29

5 **Алиев А.Ю** Маститы коров в хозяйствах Республики Дагестан/ А Ю Алиев// Региональная научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых ученых ЮФО, посвященная ФГОУ ВПО «Дагестанская ГСХА» Махачкала 2007 С 206-208

6 Шабунин С В Антимикробная активность и раздражающее действие нового препарата для терапии мастита у коров в период лактации/ С В Шабунин, Н Т Климов, Н В Притыкин, А В Чурсин, Г А Востроилова, Л И Ефанова, А М Модин, В И Зимников, **А.Ю.Алиев**// Материалы первого съезда ветеринарных фармакологов России 21-23 июня 2007 года Воронеж 2007 С 65-654

7 Пониткин Д М Предупреждение мастита у коров – основа повышения продуктивности и качества молока/ Д М Пониткин, Н Т Климов, Н В Притыкин, А Ю Алиев, В И Зимников, А М Модин, А В Чурсин// Зоотехния №7 2007 С 21-23

8. **Алиев А.Ю** Рекомендации по диагностике, терапии и профилактике субклинического мастита у коров в периоде запуска и сухостоя в хозяйствах Республики Дагестан / А Ю Алиев, З М Джамбулатов, П Д Устарханов Махачкала 2007

Иллюстрация

Формат  $60 \times 84 \frac{1}{16}$   
Гарнитура Таймс. Печать офсетная. П. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 2103

отпечатано в типографии  
ООО «Формат», г. Воронеж, Московский пр-т, 36-а