

ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

УДК 619:636

А.М. Коваленко, А.В. Ткачёв, О.Л. Ткачёва,
Т.В. Зубова, В.А. Плешков, О.В. Смолловская
A.M. Kovalenko, A.V. Tkachev, O.L. Tkacheva,
T.V. Zubova, V.A. Pleshkov, O.V. Smolovskaya

АНТИМИКРОБНАЯ И ОБЕЗБОЛИВАЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ НАНОСЕРЕБРА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МАСТИТОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

ANTIMICROBIAL AND ANALGETIC ACTION OF A NEW EXPERIMENTAL MEDICINAL PRODUCT BASED ON NANO-SILVER FOR COW MASTITIS TREATMENT

Ключевые слова: мастит, лечение коров, анти-микробные свойства, препарат «Маститнано-БелГАУ».

Результатами исследований антимикробной активности препарата «Маститнано-БелГАУ» для лечения маститов коров в отношении клинических штаммов *Staphylococcus aureus* 421, *Staphylococcus epidermidis* 439, *Escherichia coli* 197, *Pseudomonas aeruginosa* 185 при различной микробной нагрузке установлено, что диаметры зон задержки роста культур вокруг дисков, пропитанных образцами экспериментального препарата, зависят от концентрации микробной взвеси, нанесенной на поверхность среды Мюллер-Хинтон. Выявлено, что наименьшие значения диаметров зон задержки роста культуры *S. aureus* 421 наблюдались при нанесении культуры в концентрации 10^6 кл/мл вокруг дисков, пропитанных образцом № 6. Исследование Маститнано-БелГАУ для лечения маститов коров в отношении клинических штаммов *Staphylococcus aureus* 421, *Staphylococcus epidermidis* 439, *Escherichia coli* 197, *Pseudomonas aeruginosa* 185 при различной микробной нагрузке показало, что диаметры зон задержки роста культур вокруг дисков, пропитанных образцами экспериментального препарата, зависят от концентрации микробной взвеси, нанесенной на поверхность среды Мюллер-Хинтон. Установлено, что из исследуемых образцов препарата «Маститнано-БелГАУ» высшую противомикробную активность в отношении клинических полирезистентных штаммов рода *Staphylococcus* в концентрации 10^4 кл/мл проявил образец № 1 и 2. Данные по противомикробной активности препарата в отношении клинических штам-

мов грамотрицательных микроорганизмов *E. coli* 197 и *P. aeruginosa* 185 следующие: образец № 1 (микробная нагрузка 10^4 кл/мл) подавляет рост колоний *E. coli* 197 (зона задержки роста 17 мм), в то время как образцы № 2, 3, 4 имели одинаковую активность, которая составляла 15 мм. Результаты проведенных исследований показали, что препарат «Маститнано-БелГАУ» проявлял длительную обезболивающую активность на модели карагенинового воспаления, характеризовался существенным ростом БЧ в течение 4 ч наблюдения. Наиболее отчетливые изменения БЧ регистрировались через 60-120 мин. после применения Маститнано-БелГАУ, как и при применении декспантенола.

Keywords: mastitis, treatment of cows, antimicrobial properties, medicinal drug Mastitnano-BelGAU.

The studies of the antimicrobial action of the drug Mastitnano-BelGAU for the treatment of mastitis in cows against the clinical strains of *Staphylococcus aureus* 421, *Staphylococcus epidermidis* 439, *Escherichia coli* 197, *Pseudomonas aeruginosa* 185 with different microbial load revealed that the diameters of the growth retardation zones around the disks soaked with the experimental drug depended on the concentration of the microbial suspension deposited on the surface of the Mueller-Hinton medium. It was found that the smallest diameters of the zones of growth inhibition of *S. aureus* 421 culture were observed when applying the culture at a concentration of 10^6 cells mL around the disks soaked with the sample no. 6. Of all studied samples of the Mastitnano-BelGAU drug, the highest antimicrobial activity against clinical multi-resistant strains of the genus *Staphylococcus* at a

concentration of 10^4 cells mL was shown by samples no. 1 and no. 2. The data on the antimicrobial action of the drug against the clinical strains of gram-negative microorganisms *E. coli* 197 and *P. aeruginosa* 185 are as follows: sample no. 1 (microbial load of 10^4 cells mL) inhibits the growth of *E. coli* 197 colonies (growth retardation zone of 17 mm), while the samples nos. 2, 3, 4 had the same action which made

15 mm. The research findings showed that the drug Mastitnano-BelGAU revealed prolonged analgetic action on the model of carrageenan inflammation, and it was characterized by a significant increase in algesia within 4 hours of observation. The most pronounced changes in algesia were recorded in 60-120 minutes after the administration of Mastitnano-BelGAU same as with the use of Dexpanthenol.

Коваленко Анатолий Михайлович, д.в.н., проф. каф. инфекционной и инвазионной патологии, Белгородский государственный аграрный университет. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Ткачёв Александр Владимирович, д.с.-х.н., проф. кафедры общей и частной зоотехнии, Белгородский государственный аграрный университет. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Ткачёва Ольга Леонидовна, к.с.-х.н., доцент каф. общей и частной зоотехнии, Белгородский государственный аграрный университет. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Зубова Татьяна Владимировна, д.б.н., проф. каф. зоотехнии, Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Плешков Владимир Александрович, к.с.-х.н., доцент каф. селекции и генетики в животноводстве, Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Смоловская Оксана Владимировна, к.б.н., доцент каф. зоотехнии, Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Kovalenko Anatoliy Mikhaylovich, Dr. Vet. Sci., Prof., Chair of Infectious and Invasive Pathology, Belgorod State Agricultural University. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Tkachev Aleksandr Vladimirovich, Dr. Agr. Sci., Prof., Chair of General and Specific Animal Breeding, Belgorod State Agricultural University. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Tkacheva Olga Leonidovna, Cand. Agr. Sci., Assoc. Prof., Chair of General and Specific Animal Breeding, Belgorod State Agricultural University. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Zubova Tatyana Vladimirovna, Dr. Bio. Sci., Prof., Chair of Animal Science, Kuzbass State Agricultural Academy. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Pleshkov Vladimir Aleksandrovich, Cand. Agr. Sci., Assoc. Prof., Chair of Selective Breeding and Genetics in Animal Production, Kuzbass State Agricultural Academy. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Smolovskaya Oksana Vladimirovna, Cand. Bio. Sci., Assoc. Prof., Chair of Animal Science, Kuzbass State Agricultural Academy. E-mail: sasha_sashaola@mail.ru.

Введение

Выбор метода лечения коров, больных маститом, зависит от вида мастита, его течения и общего состояния организма животного. С этой целью используют средства физической, патогенетической, этиотропной и при тяжелом течении болезни симптоматической терапии. Мастит – это заболевание не только молочной железы, а всего организма животного, поэтому лечение должно быть комплексным, направленным на ликвидацию воспалительного процесса в молочной железе и восстановление нормального физиологического состояния всего организма.

К физиотерапевтическим методам лечения коров при мастите относятся: использование холода (обливание холодной водой, аппликации холодной глины, холодные компрессы), тепла (втирание камфарного спирта или масла, мазей и линиментов с раздражающим действием, парафинотерапия, озокеритотерапия), квантовая терапия (ультрафиолетовое, тепловое, лазерное облучение, ионофорез, лечение ультразвуком, электро-

магнитным полем /УВЧ/) и массаж вымени [1]. Применение холода в сочетании с новокаиновой блокадой по Логвинову и внутривенном введении 10%-ного раствора хлорида натрия и 40%-ного раствора глюкозы способствует быстрому выздоровлению коров при остром серозном мастите и положительно влияет на их гематологические показатели [2].

Авторами [3] было применено лазерное излучение при лечении коров, больных серозным и катаральным маститом. Облучению подлежала вся поверхность пораженной четверти или биологически активные точки вымени, расположенные в центре четверти и в основе дойки. Терапевтическая эффективность при лечении коров лазерным прибором СТП-5 составила 80,0%. Аналогичный показатель при лечении новокаиновой блокадой был равен 65,0, а при применении препарата «Мастилекс» – 60,0%. После лазеротерапии морфобioхимические и иммунологические показатели крови после выздоровления приближались к уровню клинически здоровых животных [4]. Уче-

ными [5] исследовано влияние лазерного излучения, антибиотиков и новокаиновой блокады на неспецифическую реактивность организма и гистоструктуру молочной железы коров, больных серозным маститом. Наблюдалось действие лазерного излучения, Мастисануа-Б и новокаиновой блокады по Д.Д. Логвинову на гистоструктуру молочной железы. Подтверждено, что лазерное излучение положительно действует на железистую ткань вымени по сравнению с менее эффективным действием антибиотиков. Лазеротерапия способствовала быстрому восстановлению гистологической структуры паренхимы вымени больных коров: прекращались процессы пролиферации и альтерации, восстанавливалась секреторная функция железистой ткани, нормализовались секреторные процессы в альвеолярном эпителии. Тогда как при лечении Мастисаном-Б процессы атрофии в отдельных местах частиц сохранялись. При новокаинтерапии усиливались компенсаторные реакции в железистой ткани, уменьшались процессы пролиферации и альтерации [5].

К электрофизическим методам относится электроанальгезия. Использование электроанальгезии в животноводстве наряду с обезболивающим эффектом сопровождается стимулированием работы нервной системы, особенно подконтрольных ему процессов регуляции вегетативных функций в организме. Следствием такого влияния является усиление трофики тканей и повышение естественной резистентности [8].

Учитывая многочисленные исследования физических свойств, химического состава и биологического воздействия продуктов пчеловодства на организм животных, апитерапия нашла свое применение в ветеринарной практике [9]. Для лечения коров с субклинической и клинической формами маститов автором [10] применена 3%-ная водная эмульсия прополиса интрацистернально в пораженную долю вымени. Трехпроцентная водная эмульсия прополиса по результатам исследований обладает противовоспалительным и иммуномодулирующим, бактерицидным действием. Другими учеными [11] приводятся экспериментальные данные по влиянию препара-

та для интрацистернального введения Антимаст, который содержит прополис пчелиный, вытяжку из подмора пчел, воск пчелиный, масло касторовое, на уровень продуктов перексидного окисления липидов и состояние системы антиоксидантной защиты у коров, больных субклинической формой мастита. Мазь «Антимаст» рекомендована для профилактики и лечения разных форм маститов, трещин сосков, воспалительных процессов и болезней кожи КРС. Препарат «Биогель-10» для лечения коров, больных маститами, содержит 20%-ный спиртовой экстракт прополиса, натрий карбоксиметилцеллюлозу, предназначен для интрацистернального применения при различных формах мастита [12].

Препарат «Мастилин» оказывает противомикробное, противовоспалительное, анальгетическое действия. Коллоид серебра легко проникает в клетки микроорганизмов-возбудителей и проявляет бактерицидное и бактериостатическое действие. Прополис, который входит в состав препарата и состоит преимущественно из флавоноидов, вместе с противомикробным действием с преимущественным влиянием на грамположительные микроорганизмы оказывает противовоспалительный эффект [13].

Авторами [14] разработан способ терапии больных маститом коров с использованием озонированного рыбьего жира, полученного барботированием озono-кислородной смесью интрацистернально. Доказано, что введение озонированного рыбьего жира интрацистернально обуславливает активацию факторов локальной защиты.

Специалистами ЗАО «Санкт-Петербургский Институт фармации» был разработан оригинальный стандартизированный препарат «Афлогилекс», который представляет собой экстракт из печени рыб тресковых пород. Препарат разрабатывался для лечения воспалительных и аллергических процессов в двух лекарственных формах: «Афлогилекс-0,02% гель» и «Афлогилекс-0,1% раствор». Содержит как активный фармацевтический ингредиент пептидно-фосфолипидный комплекс, свободные аминокислоты и микроэлементы (Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn), которые играют су-

ществленную роль в обменных процессах организма животных [15].

Для лечения и профилактики этих заболеваний молочной железы сельскохозяйственных животных используют биологически активные вещества (БАВ). Среди природных биостимуляторов используют витаминные препараты, в частности, кормовой препарат микробного каротина, производные гумусовых кислот торфа – гумат натрия (гуминат), гидрогумат [16]. Применение стимулирующего тканевого препарат с иммуностимулирующими свойствами (СТП) в период запуска и сухостоя профилактирует серозные маститы коров. Препарат содержит гидролизаты из тканей рыбьего, растительного и животного происхождения [17].

Учеными [18, 19] предложено использование гирудотерапии для лечения маститов. Метод состоит из подсадки пиявок на кожу больной четверти вымени, при экспозиции 25-30 мин., в течение 3 дней с интервалом в 24 ч.

Для этиотропной терапии маститов предложено много препаратов, среди которых наиболее широкое применение получили: антибиотики; комбинированные антибиотики (широкого спектра действия, сочетание двух и более); комбинированные препараты (антибиотики + сульфаниламиды, антибиотики + нитрофураны); сульфаниламиды; нитрофураны; антисептики; йодосодержащие лекарства (как антисептики) [26]. Комплексная схема терапии, которая базируется на внутривенном введении тиотриазолина в сочетании с аппликацией на кожу вымени мази, содержащей 30%-ный раствор димексида (40 мл), анестезин (5 г), ментол (3 г), ланолин (200 г), обеспечивает уменьшение количества случаев заболевания коров маститом [27, 28].

Сейчас в мире разработаны вакцины для проведения профилактических мероприятий против этого заболевания. После проведенного лечения животных, больных маститом, и вакцинации коров вакциной «Стартвак» отмечают уменьшение количества соматических клеток в молоке, а заболеваемость субклиническим и клиническим маститом уменьшилась в хозяйстве почти в 4 раза.

Положительные результаты биоцидной и лечебной стафилококковой анатоксин-вакцины с помощью глутарового альдегида и алкилдиметилбензиламмония хлорида были использованы для повышения биоцидного действия офлоксацина и тетрациклина, снижения дозы антибиотиков и изготовления мази для лечения больных маститом коров, что существенно сократило срок лечения [28, 30].

Стоит отметить, что использование антимикробных средств для лечения мастита коров недостаточно. Это приводит к возникновению резистентных штаммов микроорганизмов, особенно к антибиотикам, в результате чего снижается терапевтическая эффективность противомаститных препаратов на их основе. Кроме того, после лечения отмечается наличие остаточных количеств антибиотиков в молоке. В связи с этим оно становится технологически непригодным и вредным для здоровья людей.

Интрамаммарные лекарственные средства для применения в ветеринарии должны быть стерильные, предназначенные для введения в молочную железу через молочный сосковый канал. Они бывают двух основных категорий: препараты, применяемые для животных лактирующих, и препараты, предназначенные для применения у животных после периода лактации или нелактирующих, для лечения или предотвращения инфекции.

Внутригрудные лекарственные средства для применения в ветеринарии представляют собой растворы, эмульсии, суспензии или мягкие ЛС, содержащие одну или более АФИ в соответствующем растворителе.

Суспензии могут образовывать осадок, который должен быстро диспергироваться при взбалтывании, образуя суспензию, достаточно стабильную, чтобы обеспечить необходимую дозу при применении. Эмульсии могут расслаиваться, однако при взбалтывании легко восстанавливаются. Суспензия – жидкая ЛФ, содержит как дисперсную фазу одну или несколько измельченных порошкообразных веществ, распределенных в жидкой дисперсионной среде. Дисперсные системы с жидкой дисперсионной средой и твердой

дисперсной фазой, дольки которой достаточно большие, поэтому не способны диффундировать, не имеют осмотического давления, у них не обнаруживают самовольного броуновского движения. В суспензиях частицы сравнительно быстро выпадают в осадок (седиментация) или всплывают, слипаясь в хлопья-агрегаты (флокуляция).

Основными факторами физической устойчивости суспензий является гидрофильность (смачиваемость) или гидрофобность (несмачиваемость водой), размер, форма, удельный вес, плотность поверхностного заряда твердой фазы, а также плотность, вязкость, поверхностная активность дисперсионной среды, которые регулируются ПАВ, высокомолекулярными соединениями (ВМС), электролитами, что обеспечивают смачиваемость дисперсной фазы, увеличение вязкости дисперсионной среды, образование на границе раздела жидкость – твердое тело дзета-потенциала, стабилизирующего устойчивость ЛФ.

Повышение устойчивости суспензий гидрофобных веществ достигается добавлением в раствор гидрофильного коллоида (стабилизатора), что предоставляет нерастворимым веществам свойство смачиваемости. Сильнее обнаруживают защитное действие в суспензиях природные или синтетические ВМС. Растворы ВМС не только сами имеют большую устойчивость, но и передают эту способность гидрофобным частям. Как ПАВ они уменьшают запас поверхностной энергии в системе, образуют на поверхности твердых гидрофобных частиц адсорбционные оболочки и гидратные слои, а также охватывают их длинными цепеобразными макромолекулами. В качестве стабилизаторов в суспензиях применяют природные или синтетические ВМС. Соотношение между твердой фазой суспензии и защитной ВМС зависит от степени гидрофобности вещества и гидрофилизуемых свойств защитного вещества [10, 13, 29, 30].

Основные ДР в составе стерильных суспензий представлены следующими группами: сурфактанты (обеспечение смачивания гидрофобных соединений и стабилизация суспензий), компоненты буферной системы (регуляция pH среды), анти-

микробные консерванты (обеспечение защиты от микробного загрязнения), антиоксиданты (обеспечение защиты от оксидативной деградации), суспендирующие агенты (стабилизация суспензий) и другие [19, 20]. Сурфактанты снижают поверхностное натяжение и обеспечивают смачивание твердого компонента в суспензионной среде. Под воздействием света или температуры на ВЛС, а также при наличии металлов или других факторов может произойти оксидативная деградация АФИ или ДР, что приводит к появлению свободных радикалов и образованию примесей. С целью снижения оксидативной деградации в состав ЛП вводят антиоксиданты, такие как трилон Б. Необходимость использования антиоксидантов должно быть дополнительно обоснованной. Использование антиоксидантов как ДР является лимитированным и в основном не заказным, их применение не должно зависеть от неоптимальности состава, разработанного технологического процесса и выбранной первичной упаковки.

С целью обеспечения однородности дозирования суспензионных препаратов и влияния на скорость оседания нерастворенных частиц дисперсионной фазы в состав препаратов вводят суспендирующие агенты. Суспендирующие агенты увеличивают вязкость дисперсионной среды для поддержки нерастворенных частиц АФИ в однородном состоянии. Наиболее распространенными суспендирующими ДР являются полимерные соединения. Для увеличения вязкости дисперсионной среды в суспензионных ЛП используют следующие ДР: натрия карбоксиметилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, полиэтиленгликоль, глицерин, повидон, различные типы карбомер, поливиниловый спирт, полиакриловая кислота и другие [13, 19, 20].

Для общей стабильности ЛП в форме суспензий важна седиментационная и агрегативная стабильность, характеризующаяся скоростью оседания и устойчивостью против слипания нерастворенных частиц дисперсионной фазы. В основном для обеспечения данной стабильности проводят усиленное диспергирование твердых частиц во время технологического процесса, увеличивают вяз-

кость дисперсионной среды, применяют ЮАР, полимеры и вязкие жидкости. Также в состав препаратов вводят электролиты (например, натрия хлорид), которые создают в дольках дисперсной фазы дзета потенциал определенного заряда и величины.

Даже самые простые технологические операции, такие как порядок смешивания компонентов ВЛС, в некоторых случаях оказывают решающее влияние на характер терапевтического действия ВП, то есть являются критическими. Для ВЛС, которые должны быть стерильными, важно подобрать оптимальный метод стерилизации. Необходимо обосновать выбор оборудования, которое будет использовано в данном технологическом процессе, провести оценку способности технологического процесса надежно гарантировать качество ВЛС.

Применение суспензий дает возможность вводить твердые, нерастворимые в дисперсионной среде вещества в жидкое или вязкое лекарственное вещество, обеспечивая при этом большую суммарную поверхность лекарственного вещества и, следовательно, большую терапевтическую активность, а также позволяет получать препараты пролонгированного действия. Несмотря на множество преимуществ суспензий, они имеют и ряд недостатков, в частности: неустойчивость суспензий при хранении и вследствие этого низкий срок годности; высокая зависимость степени фармакологического эффекта от технологии, вспомогательных веществ и др.

Эмульсии – свобододисперсные системы, в которых дисперсионная среда и дисперсная фаза редки. Условием образования эмульсии является взаимная нерастворимость жидкостей, поэтому эти жидкости должны сильно отличаться по своей полярности. Наибольшее значение имеют эмульсии, в которых одна из фаз – вода. Вторую фазу образует неполярная или малополярная жидкость, которую независимо от природы называют маслом. Дисперсность эмульсии меняется в широких пределах – от капель размером 10 м до таких, которые можно увидеть невооруженным глазом. Эмульсии получают главным образом путем ме-

ханического диспергирования (встряхиванием, энергичным перемешиванием, действием ультразвука), а также выдавливанием жидкости через тонкие отверстия под высоким давлением. Применяют и конденсационные методы замены растворителя и взаимной конденсации пара, что позволяет получить высокодисперсные системы.

По полярности фаз различают два типа эмульсий: 1) прямые (первого рода), которые состоят из полярной дисперсионной среды (вода) и неполярной дисперсной фазы (масло), обозначаются в/в; 2) обратные (второго рода), в которых дисперсионная среда неполярная (масло), а дисперсная фаза полярная (вода), обозначаются в/о. По концентрации дисперсной фазы эмульсии делят на разбавленные с концентрацией дисперсной фазы не более 0,1% объема; концентрированные – концентрацией от 0,1 до 74% объема.

Стабилизирующее действие эмульгатора состоит не только и не столько в снижении поверхностного натяжения, но и в образовании структурно-механического барьера. Структурно-механический барьер образуют также твердые эмульгаторы – порошки. Кроме низкомолекулярных ПАВ и порошков, эффективными эмульгаторами являются высокомолекулярные ПАВ (желатин, сапонины, поливиниловые спирты и др.). Эти вещества образуют на границе раздела фаз трехмерные сетки. Высокомолекулярные эмульгаторы также подчиняются правилу Банкрофта, поскольку сетка образуется всегда с той стороны границы разделения, где высокомолекулярный ПАВ растворимый. Эта жидкость и становится непрерывной фазой [19, 26, 28, 29].

Для получения эмульсий особенно широко применяют оксиэтилированные неионогенные ПАВ – твины и полочсамеры. ПАВ типа твины используют чаще всего в ЛП для наружного применения. Важно знать, какой тип эмульсии образуется при совместном диспергировании масла и воды. Если объемы фаз примерно одинаковы, то сначала образуются и капельки масла, и капельки воды. Поэтому менее устойчивые капли коалесцируют, образуя дисперсионную среду, а более устойчивые и становятся дисперсной фа-

зой. Тип эмульсии зависит от гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) эмульгатора, гидрофильный эмульгатор дает прямую эмульсию, а гидрофобный – обратную [1, 9].

Эмульсии относятся к редким ЛФ как для внешнего, так и для внутреннего применения. При наружном применении целесообразно использовать эмульсии обратного типа, потому что вода и растворенные в ней вещества не могут проникать через кожу. Обратные эмульсии, в частности, применяют в виде ветеринарных мазей и кремов.

Поэтому актуальной проблемой ветеринарии является разработка препаратов, которые обладали бы высоким терапевтическим эффектом и не влияли негативно на здоровье человека при попадании в молоко.

Материалы и методы

В работе исследовали антимикробную активность шести образцов препарата «Маститнано-БелГАУ», содержащих в качестве активного фармацевтического ингредиента наночастицы серебра. Средний размер наночастиц серебра составлял $16 \text{ нм} \pm 5$ (по результатам ПЭМ) (рис. 1).

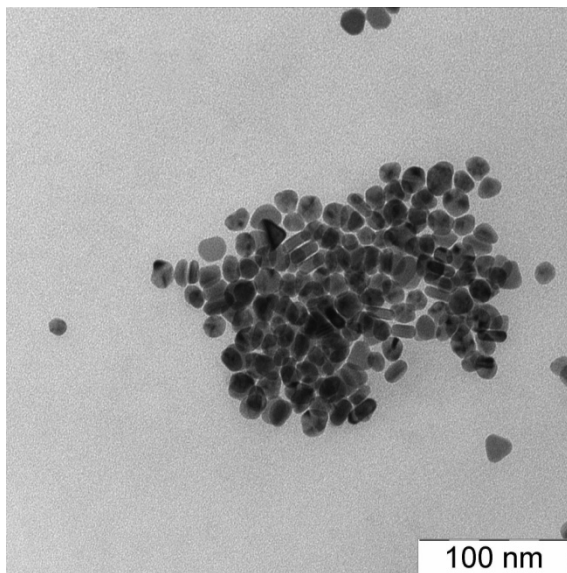


Рис. 1. Наночастицы серебра ($16 \text{ нм} \pm 5$) по результатам ПЭМ

Концентрация действующего вещества – наночастиц серебра в растворах составила: № 1 – 0,15 мг/мл, № 2 – 0,12, № 3 – 0,1, № 4 – 0,09, № 5 – 0,05, № 6 – 0,002 мг/мл. Препарат «Маститнано-

БелГАУ» в различных концентрациях по действующему веществу (наночастицам серебра) испытывали в отношении клинических полирезистентных штаммов микроорганизмов Sigma (USA). В качестве тест-объектов использовали штаммы *Staphylococcus aureus* 421, *S. epidermidis* 439, *Escherichia coli* 197, *Pseudomonas aeruginosa* 185, характеризующиеся множественной резистентностью к антибиотикам.

Исследуемые культуры различных видов микроорганизмов выращивали на среде Мюллер-Хинтон при 37°C в течение суток. Готовили микробную взвесь в стерильном физиологическом растворе ($5,0 \text{ см}^2$) в концентрациях 10^6 , 10^4 кл/мл с использованием прибора денситометра DENSIMAT и стандартов McFarland (производства bioMerieux, Франция). Выбранные штаммы стафилококков характеризовались высокими уровнями резистентности к оксациллину, которые обусловлены продукцией кодируемого геном *mesA* пеницилинсвязывающего белка ПСБ2', что доказано методом латекс-агглютинации с использованием набора Slidex MRSA Detection (производство BioMerieux, Франция).

Чувствительность тест-штаммов к исследуемому препарату «Маститнано-БелГАУ» изучали с использованием стерильных дисков, которые пропитывали препаратом в виде мягкого лекарственного средства, содержащего наночастицы серебра. Для инокуляции использовали приготовленные микробные взвеси указанных выше культур двух концентраций. Стандартный инокулюм наносили пипеткой на поверхность среды Мюллер-Хинтон, равномерно распределяли по поверхности среды, избыток отсасывали пипеткой и подсушивали. Затем с помощью стерильного пинцета клали диски, пропитанные образцами исследуемого препарата. В качестве контроля использовали стерильные диски без пропитки препаратом «Маститнано-БелГАУ». Результаты оценивали по величине диаметров зон задержки роста исследуемых штаммов вокруг дисков, пропитанных препаратом, через 24 ч инкубации в термостате при 37°C . В зависимости от диаметров зон задержки роста исследуемых микроорганизмов

вокруг дисков штаммы принадлежали к чувствительным, умеренно устойчивым или устойчивым (резистентным).

Результаты и обсуждение

Результаты исследований антимикробной активности препарата «Маститнано-БелГАУ» для лечения маститов коров в отношении клинических штаммов *Staphylococcus aureus* 421, *Staphylococcus epidermidis* 439, *Escherichia coli* 197, *Pseudomonas aeruginosa* 185 при различной микробной нагрузке приведены на рисунке 2 и 3.

Установлено, что диаметры зон задержки роста культур вокруг дисков, пропитанных образцами экспериментального препарата, зависят от концентрации микробной взвеси, нанесенной на поверхность среды Мюллер-Хинтон.

Известно, что во время исследований антимикробной активности на разных тест-штаммах в разнообразных питательных средах, помимо свойств, характеристик и концентраций препарата серебра, на его антимикробную активность влияет огромное количество других факторов: видовые и штаммовые различия микроорганизмов, уровень загрязненности или микробная нагрузка, наличие ростовых либо ингибирующих факторов в среде, продолжительность и условия инкубации.

Как видно из рисунков 2 и 3, наименьшие значения диаметров зон задержки роста культуры *S. aureus* 421 наблюдались при нанесении культуры в концентрации 10^6 кл/мл вокруг дисков, пропитанных образцом № 6. Диаметры зон задержки роста образцов № 1-6 уменьшались по нисходящей. Тогда как наибольшие значения диаметров зон задержки роста стафилококков выявлены при микробной нагрузке 10^4 кл/мл вокруг дисков с образцом № 1 и 2.

Относительно штамма *S. epidermidis* 439 наблюдали следующее: при микробной нагрузке 10^4 кл/мл образцы № 2 и 3 проявили умеренную активность, а образец № 1 обнаружил достаточно высокую антимикробную активность. Образцы № 4 и 5 имели зоны задержки роста 16 мм. Наименьшее значение зон задержки роста было у образца № 6 (13 мм). При нанесении культуры в концентрации 10^6 кл/мл образцы № 4 и 5 имели одинаковые зоны задержки роста, а образец № 1 проявил умеренную антимикробную активность (19 мм).

Таким образом, из исследуемых образцов препарата «Маститнано-БелГАУ» высшую противомикробную активность в отношении клинических полирезистентных штаммов рода *Staphylococcus* в концентрации 10^4 кл/мл проявили образцы № 1 и 2.

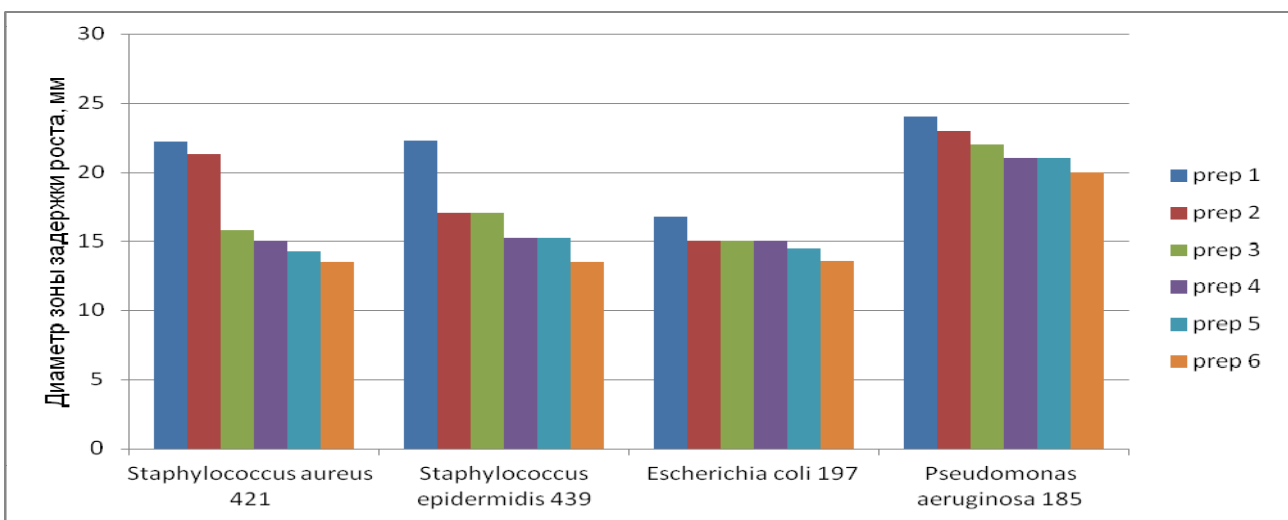


Рис. 2. Чувствительность клинических штаммов микроорганизмов к образцам препарата «Маститнано-БелГАУ» при микробной нагрузке 10^4 кл/мл

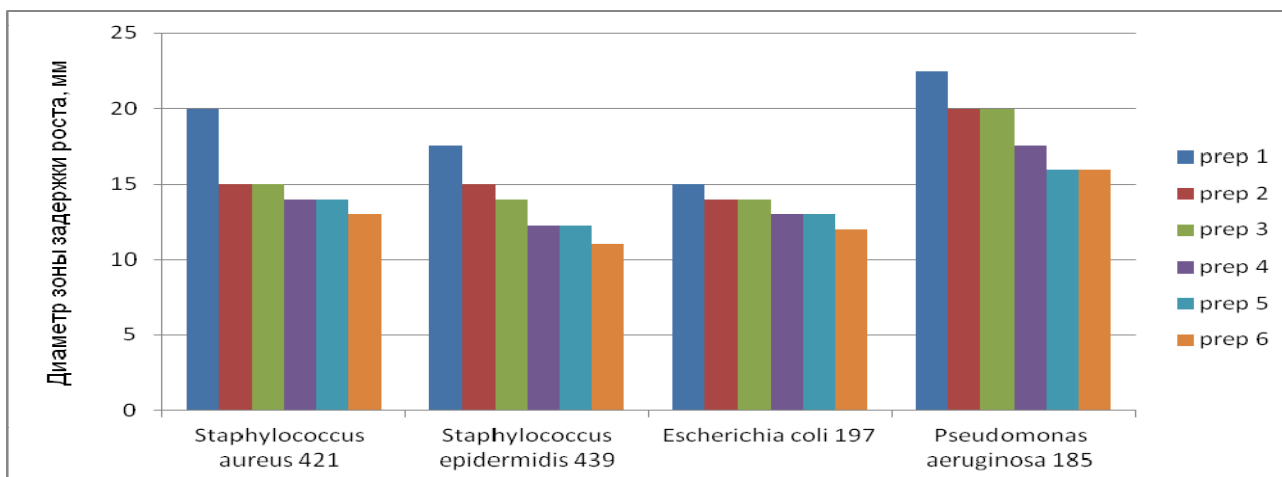


Рис. 3. Чувствительность клинических штаммов микроорганизмов к образцам препарата «Маститнано-БелГАУ» при микробной нагрузке 10^6 кл/мл

Данные по противомикробной активности препарата в отношении клинических штаммов грамотрицательных микроорганизмов *E. coli 197* и *P. aeruginosa 185* следующие: образец № 1 (микробная нагрузка 10^4 кл/мл) подавляет рост колоний *E. coli 197* (зона задержки роста 17 мм), в то время как образцы № 2, 3, 4 имели одинаковую активность, которая составляла 15 мм. Относительно диаметров зон задержки роста *E. coli 197* при микробной нагрузке 10^6 кл/мл образец № 1 характеризовался противомикробной активностью (зона задержки роста 15 мм), в образцах № 2 и 3 зоны задержки роста не превышали 14 мм, а в образцах № 4 и 5 – 13 мм.

Исследуемые образцы препарата «Маститнано-БелГАУ» характеризовались более высокими противомикробными свойствами в отношении клинического штамма *P. aeruginosa 185*, в отличие от штамма *E. coli 197*. Наибольшие значения диаметров зон задержки роста штамма синегнойной палочки наблюдались вокруг дисков, пропитанных всеми исследуемыми образцами препарата в отношении микробных концентраций 10^4 , 10^6 кл/мл культуры *P. aeruginosa 185*.

Установлено, что диаметры зон задержки роста исследуемых культур *Staphylococcus aureus 421*, *S. epidermidis 439*, *Escherichia coli 197*, *Pseudomonas aeruginosa 185* вокруг дисков, пропитанных образцами экспериментального препарата, зависят от концентрации микробной взвеси, нанесенной на поверхность среды Мюллер-

Хинтон, и от концентрации АФИ (активный фармацевтический ингредиент).

Из исследуемых образцов препарата высокими противомикробными свойствами характеризовались образцы № 1 и 2. Наибольшие значения диаметров зон задержки роста стафилококков наблюдались при нанесении микробной взвеси в концентрации 10^4 кл/мл вокруг дисков, пропитанных образцами препарата № 1 и 2.

Препарат обладал высокой антимикробной активностью во всех исследуемых концентрациях относительно культуры *P. aeruginosa 185*.

Установлено, что разработанный экспериментальный препарат «Маститнано-БелГАУ» проявляет бактериостатическое и бактерицидное действие в отношении полирезистентных клинических штаммов различных видов микроорганизмов.

Результаты изучения обезболивающего действия комбинированного препарата «Маститнано-БелГАУ» в виде крема в условиях развития индуцированной болевой реакции у половозрелых белых крыс обоего пола вызвана однократным введением карагенина, по сравнению с аналогичной активностью, которая присуща монокомпонентным мазям «Декспантенол» с аналогичным содержанием активного ингредиента. Мазь «Декспантенол» была взята к исследованию как препарат для сравнения.

При исследовании анальгезирующей активности препаратов «Маститнано-БелГАУ» и «Декспантенол» было проведено их накожное нанесе-

ние на плантарную поверхность задней правой конечности белых крыс с помощью глазной стеклянной палочки. Экспозицию препаратов (в течение 120 с) осуществляли в условиях мягкой (ручной) фиксации крыс в горизонтальном положении в воздухе, не касаясь конечностями любой поверхности. Примененный профилактически-лечебный режим нанесения препаратов заключался в двукратном нанесении крема и мази крысам соответствующих групп до введения карагенина с интервалом в 20 мин. между аппликациями и однократного нанесения соответствующих лекарственных форм после введения карагенина. Карагенин вводили через 10 мин. после второго профилактического применения крема или мази. При исследовании обезболивающей активности принимали во внимание не только изменение болевой чувствительности у животных, но продолжительность и скорость наступления эффекта.

Группы крыс указаны в таблице 1, где представлены путь введения препаратов и патогенного агента и продолжительность экспозиции на подошвенной поверхности стопы крысы. К животным контрольной группы отнесены нелеченные исследуемым или референтным препаратом крысы, то есть животные, у которых вызывали лишь болевую реакцию введением 1%-ного водного раствора карагенина.

После введения карагенина, а также после экспозиции опытных образцов препаратов каждое животное размещали под стеклянным колпаком с отверстием для воздуха (по одному животному под колпаком). Определение ПБЧ происходило при фокусировке инфракрасного луча на подошвенную часть правой стопы каждого животного.

Животным опытных групп препараты «Маститнано-БелГАУ» и «Декспантенол» наносили через 3 мин. после введения карагенина.

Болевая реакция, вызванная карагенином, фиксировалась для животных каждой из групп отдельно в течение 240 мин. после введения карагенина. То есть обезболивающее действие препарата «Маститнано-БелГАУ» и «Декспантенол» оценивалось фактически при развитии воспалительной болевой чувствительности (БЧ). Эффективность (обезболивающее действие) препаратов сравнивалась с анальгетической активностью (АА). Расчеты выражались в процентах как отношение разницы между БЧ в группе контрольных и опытных животных в БЧ.

Продолжительность и скорость наступления анальгезирующего действия препаратов «Маститнано-БелГАУ», крем и «Декспантенол», мазь определяли по динамическим измерениям БЧ через 30, 60, 120 и 240 мин. после введения карагенина и нанесения указанных средств.

Таблица 1

Характеристика исследования обезболивающего действия комбинированного препарата «Маститнано-БелГАУ»

Группа животных	Агент	Путь введения	Время экспозиции препаратов, с
Контроль, 10 гол.	Карагенин, 1%-ный водный раствор	Субплантарно, правая задняя лапа	-
Опытный препарат, 10 гол.	Карагенин + опытный препарат	Опытный препарат на плантарную поверхность пораженной лапы	120
Мазь «Декспантенол», 10 гол.	Карагенин + мазь «Декспантенол»	Декспантенол на плантарную поверхность пораженной лапы	120

БЧ ($M \pm m$) у белых крыс на фоне гипералгезии, индуцированной карагенином, при воздействии препаратов «Маститнано-БелГАУ» и «Декспантенол»

Показник	Время регистрации БЧ, мин.				
	вих.	30	60	120	240
Карагенин, 1% розчин (контроль; n=10)					
БЧ, с	13,60±0,4	9,5±0,9*	9,9±0,9*	10,6±0,7*	11,55±0,8*
% к исходному		-30,1	-27,2	-22,1	-15,1
Декспантенол – референтный препарат (n= 10)					
БЧ, с	13,63±1,1	9,9±0,8*	11,2±0,4	12,7±0,6	12,9±0,4
АА, %	-	5	13	20	11,7
Аргоцид К в форме крема – опытный препарат (n=10)					
БЧ, с	13,12±0,9	11,73±0,8	13,82±1,1	12,8±0,6	12,7±0,8
АА, %	-	23,5	39,6	20,8	10

Примечание. *Означает степень достоверности $p < 0,05$.

Как свидетельствуют данные таблицы 2, у животных контрольной группы (введение карагенина) регистрировался рост болевой чувствительности через 30, 60, 120 и 240 мин. после применения флогогенного агента, о чем свидетельствует уменьшение ПБЧ на 30; 27,2; 22,1 и 15,1% соответственно. Очевидно, данный факт можно объяснить ростом чувствительности периферических рецепторов через развитие острого воспалительного процесса.

На фоне применения Декспантенола регистрировалось повышение БЧ у крыс, по сравнению с данными, отмечавшимися у животных контрольной группы на соответствующий срок наблюдения: на 4,2% через 30 мин. после введения карагенина, на 13,1% – через 1 ч, на 19,8% – через 2 ч и на 11,7% – через 4 ч. Итак, наиболее выраженный обезболивающий эффект зарегистрирован на 60-120-й мин. после введения препарата «Декспантенол» на фоне индуцированной карагенином воспалительной реакции. В то же время Декспантенолу свойственно относительно умеренное обезболивающее действие, о чем свиде-

тельствует АА препарата, зарегистрированная на уровне 11-20% в разные сроки развития болевой реакции на введение флогогена.

Более существенное обезболивающее действие свойственно препарату «Маститнано-БелГАУ», о чем свидетельствует отсутствие достоверной разницы в значении БЧ, зарегистрированного через 30, 60, 120 и 240 мин. после введения карагенина и аппликации препарата относительно исходных значений этого показателя у животных данной группы, а также достаточно высокая АА, которая зарегистрирована через 30-120 мин. после индукции болевой реакции – 20,8-39,6%. Кстати, аналогично показателей, зарегистрированных после аппликации Декспантенолом, именно через 60-120 мин. после применения карагенина, отмечена самая высокая АА, которая присуща Маститнано-БелГАУ. Очевидно, данный факт может быть обоснован синергизмом или потенцированием анальгезирующей активности при взаимодействии активных компонентов крема.

Таким образом, Маститнано-БелГАУ проявляет существенное длительное (в течение 4 ч) аналь-

гезирующее действие на модели патологического процесса, индуцированного карагенином, что проявляется фактически в начале воспалительной реакции.

Новый препарат «Маститнано-БелГАУ» проявлял длительную обезболивающую активность на модели карагенинового воспаления, характеризовался существенным ростом БЧ в течение 4 ч наблюдения. Наиболее отчетливые изменения БЧ регистрировались через 60-120 мин. после применения Маститнано-БелГАУ, как и при применении Декспантенола.

Новый препарат «Маститнано-БелГАУ» в форме крема имеет комбинированный состав, по эффективности как обезболивающее средство фактически не отличается от референтного препарата – мази «Декспантенол» ни по продолжительности, ни по скорости наступления анальгезирующего действия. Одновременно несколько превышает последний по силе действия (АА) в условиях гипералгезии, индуцированной карагенином. Маститнано-БелГАУ проявляет существенное и длительное (4 ч) анальгезирующее действие, регистрируется в начале воспалительного процесса, индуцированного карагенином у белых крыс. Маститнано-БелГАУ по эффективности как обезболивающее средство фактически не отличается от референтного препарата «Декспантенол». Мазь ни по продолжительности, ни по скорости наступления анальгезирующего действия одновременно несколько превышает последний по анальгетической активности в условиях гипералгезии, индуцированной карагенином.

Библиографический список

1. Markiewicz H., Krumrych W., Gehrke M. (2013). The effect of supportive E. coli mastitis treatment on PMN chemiluminescence and subpopulations of T lymphocytes. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 16 (4): 671-677. 671-7. 10.2478/pjvs-2013-0095.

2. Войтенко, Л. Г. Новое устройство для лечения коров при мастите / Л. Г. Войтенко, А. А. Дробышевская, В. В. Чекрышева, А. С. Картушина. –

Текст: непосредственный // Ветеринарная патология. – 2013. – № 1 (43). – С. 12-16.

3. Павлов, А. В. Антимикробное действие оптического излучения / А. В. Павлов. – Текст: непосредственный // Актуальные проблемы ветеринарного обеспечения животноводства Сибири: сборник научных трудов РАСХН / Сиб. отд-ние, ИЭВСиДВ. – Новосибирск, 2006. – С. 237-240.

4. Сухин, В. Н. Лечение маститов у коров с применением электроанальгезии / В. Н. Сухин. – Текст: непосредственный // Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии животных: Международное координационное совещание. – Воронеж, 1997. – 432 с.

5. Антипина, Ю. Б. Применение озонированного рыбьего жира при мастите у коров / Ю. Б. Антипина, И. Г. Конопельцев. – Текст: непосредственный // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2010. – № 4. – С. 84-87.

6. Рыбакова, А. В. Применение Афлогилекса для лечения коров с маститами различной этиологии / А. В. Рыбакова [и др.]. – Текст: непосредственный // Ветеринария. – 2012. – № 1. – С. 35-38.

7. Ivanovaite, V., Makarevic, D., Kristaponis, V., Tamasauskas, P., Zilaitis, V. (2012). Biostimuliantas "Laktosol-K" Itaka Karviu Pieno Sudėciai Ir Reprodukcinems Savybems. *Veterinarija Ir Zootechnika*. 59 (81): 21-27.

8. Глазунова, Л. А. Гирудотерапия при лечении субклинических маститов у коров / Л. А. Глазунова, Л. А. Глазунова, М. М. Анодина. – Текст: непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. – С. 27-30.

9. Sobczak N., Kantyka M. (2014). Hirudotherapy in veterinary medicine. *Annals of Parasitology*. 60 (2): 89-92.

10. Zeng, W.-C., et al. (2012). Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Essential Oil from Pine Needle (*Cedrus deodara*). *Journal of Food Science*. 77: 824-829. 10.1111/j.1750-3841.2012.02767.x.

11. Барышев, В. А. Сравнительная оценка лечебной эффективности препаратов «Мастисан А» и «Мастифит» при субклиническом мастите коров

- / В. А. Барышев. – Текст: непосредственный // Международный вестник ветеринарии. – 2016. – № 2. – С. 34-38.
12. Данилов М. С. Хвойно-бентонитовый гель для профилактики заболеваний сосков вымени и мастита у коров / М. С. Данилов, А. Л. Воробьев. – Текст: непосредственный // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2012. – Т. 89, № 3. – С. 64-66.
13. du Preez J.N. (2000). Bovine mastitis therapy and why it fails. *Journal of the South African Veterinary Association*. 71 (3): 201-208.
14. Модин, А. Н. Раздражающее действие и эффективность Неодоксимаста для профилактики мастита у коров в сухостойный период / А. Н. Модин. – Текст: непосредственный // Актуальные проблемы болезней обмена веществ у сельскохозяйственных животных в современных условиях: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 40-летию ГНУ ВНИВИПФиТ. – Воронеж, 2010. – С. 159-161.
15. Скомарова, М. Н. Влияние гинодиксина на биохимические показатели сыворотки крови коров, больных послеродовым эндометритом / М. Н. Скомарова, О. В. Распутина. – Текст: непосредственный // Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию ГНУ Краснодарского НИВИ. – Краснодар, 2006. – С. 379-381.
16. Чурсин, А. В. Терапия субклинического и клинически выраженного мастита коров новым антимикробным препаратом линдомаст / А. В. Чурсин. – Текст: непосредственный // Международный вестник ветеринарии. – 2008. – № 3. – С. 49.
17. Комаров, В. Ю. Использование нового препарата «Адимастр» для одномоментного запуска коров в сухостойный период и профилактики мастита / В. Ю. Комаров, Б. Л. Белкин. – Текст: непосредственный // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2015. – № 5 (127). – С. 107-110.
18. Зимников, В. И. Фармако-токсикологическая характеристика нового противомаститного препарата «Мастицеф» / В. И. Зимников, Н. Т. Климов, Г. А. Востроилова. – Текст: непосредственный // Зоотехния. – 2011. – № 2. – С. 28-29.
19. Pereira, U., et al. (2011). Efficacy of *Staphylococcus aureus* vaccines for bovine mastitis: A systematic review. *Veterinary Microbiology*. 148: 117-24. 10.1016/j.vetmic.2010.10.003.
20. Guccione, J., et al. (2016). Efficacy of a polyvalent mastitis vaccine against *Staphylococcus aureus* on a dairy Mediterranean buffalo farm: Results of two clinical field trials. *BMC Veterinary Research*. 13. 10.1186/s12917-017-0944-4.
21. Евглевский, А. А. Биотехнологическое обоснование средств и способов профилактики и терапии коров, больных маститом / А. А. Евглевский, Б. М. Тагирмирзоев. – Текст: непосредственный // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 1. – С. 69-70.
22. Комаров, В. Ю. Использование нового отечественного препарата «Диоксомаст» для лечения субклинического мастита у коров в лактационный период / В. Ю. Комаров. – Текст: непосредственный // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2015. – № 1. – С. 45-48.
23. Комаров, В. Ю. Эффективность применения препарата «Адимастр» для лечения мастита у коров в сухостойный период / В. Ю. Комаров, Б. Л. Белкин. – Текст: непосредственный // Вестник ОрелГАУ. – 2015. – № 1 (52). – С. 78-81.
24. Белкин, Б. Л. Сравнительный анализ эффективности ряда препаратов для лечения и профилактики мастита у коров / Б. Л. Белкин, В. Ю. Комаров, В. Б. Андреев, С. В. Андреев. – Текст: непосредственный // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2017. – № 3 (23). – С. 109-113.
25. Абдессемед, Д. Диагностика и терапия субклинического мастита у лактирующих коров / Д. Абдессемед, А. В. Авдеенко. – Текст: непосредственный // Вестник Саратовского госагроуниверситета имени Н. И. Вавилова. – 2014. – № 3. – С. 3-6.

26. Persson Y., Nyman A.K.J., Gronlund-Andersson U. (2011). Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 53 (1). P. 36. doi: 10.1186/1751-0147-53-36

27. Hansson H., Szczensa-Rundberg M., Nielsen C. (2011). Which preventive measures against mastitis can increase the technical efficiency of dairy farms? *Animal*. 5 (4): 632-640. doi: 10.1017/S1751731110002247.

28. De Vliegher S., et al. (2012). Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *J. Dairy Sci.* 95 (3): 1025-1040. doi: 10.3168/jds.2010-4074.

29. Hovinen M., Pyorala S. (2011). Invited review: Udder health of dairy cows in automatic milking. *J. Dairy Sci.* 94 (2): 547-562. doi: 10.3168/jds.2010-3556.

30. Jacobs J.A., Siegford J.M. (2012). Invited review: The impact of automatic milking systems on dairy cow management, behavior, health, and welfare. *J. Dairy Sci.* 95 (5): 2227-2247. doi: 10.3168/jds.2011-4943.

References

1. Markiewicz H., Krumrych W., Gehrke M. (2013). The effect of supportive E. coli mastitis treatment on PMN chemiluminescence and subpopulations of T lymphocytes. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 16 (4): 671-677. doi: 10.2478/pjvs-2013-0095.

2. Novoe ustroystvo dlya lecheniya korov pri mastite / L.G. Voytenko, A.A. Drobyshevskaya, V.V. Chekrysheva, A.S. Kartushina // Veterinarnaya patologiya. – 2013. – No. 1 (43). – S. 12-16.

3. Pavlov A.V. Antimikrobnoe deystvie opticheskogo izlucheniya // Aktualnye problemy veterinarnogo obespecheniya zhivotnovodstva Sibiri: sb. nauch. tr. RASKhN. Sib. Otd-nie. IEVSiDV. – Novosibirsk, 2006. – S. 237-240.

4. Sukhin V.N. Lechenie mastitov u korov s primeneniem elektroanalgezii // Ekologicheskie problemy patologii, farmakologii i terapii zhivotnykh:

mezhdunar. koord. soveshchanie. – Voronezh, 1997. – 432 s.

5. Antipina Yu.B., Konopeltsev I.G. Primenenie ozonirovannogo rybego zhira pri mastite u korov // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii. – 2010. – No. 4. – S. 84-87.

6. Primenenie Aflogileksa dlya lecheniya korov s mastitami razlichnoy etiologii / A. V. Rybakova i dr. // Veterinariya. – 2012. – No. 1. – S. 35-38.

7. Ivanovaite, V., Makarevic, D., Kristaponis, V., Tamasauskas, P., Zilaitis, V. (2012). Biostimuliantas "Laktosol-K" Itaka Karviu Pieno Sudėciai Ir Re-produkciniems Savybems. *Veterinarija Ir Zootechnika*. 59 (81): 21-27.

8. Glazunova L.A., Glazunova L.A., Anodina M.M. Girudoterapiya pri lechenii subklinicheskikh mastitov u korov // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. – 2013. – No. 6. – S. 27-30.

9. Sobczak N., Kantyka M. (2014). Hirudotherapy in veterinary medicine. *Annals of Parasitology*. 60 (2): 89-92.

10. Zeng, W.-C., et al. (2012). Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Essential Oil from Pine Needle (*Cedrus deodara*). *Journal of Food Science*. 77: 824-829. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02767.x.

11. Baryshev V.A. Sravnitel'naya otsenka lechebnoy effektivnosti preparatov «Mastisan A» i «Mastifit» pri subklinicheskom mastite korov // Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii. – 2016. – No. 2. – S. 34-38.

12. Danilov M.S., Vorobev A.L. Khvoynobentonitovyy gel dlya profilaktiki zabozevaniy soskov vymeni i mastita u korov // Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2012. – No. 3 (89). – S. 64-66.

13. du Preez J.N. (2000). Bovine mastitis therapy and why it fails. *Journal of the South African Veterinary Association*. 71 (3): 201-208.

14. Modin A.N. Razdrzhayushchee deystvie i effektivnost Neodoksimasta dlya profilaktiki mastita u korov v sukhostoynnyy period // Aktualnye problemy bolezney obmena veshchestv u selskokhozyaystvennykh zhivotnykh v sovremennykh usloviyakh: materialy Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyashchen-

noy 40-letiyu GNU VNIVIPFiT. – Voronezh, 2010. – S. 159-161.

15. Skomarova M.N., Rasputina O.V. Vliyanie ginodiksina na biokhimicheskie pokazateli syvorotki krovi korov, bolnykh poslerodovym endometritom // Aktualnye problemy veterinarii v sovremennykh usloviyakh: materialy Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyashchenoy 60-letiyu GNU Krasnodarskogo NIVI. – Krasnodar, 2006. – S. 379-381.

16. Chursin A.V. Terapiya suklinicheskogo i klinicheski vyrazhennogo mastita korov novym antimikrobnym preparatom lindomast // Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii. – 2008. – No. 3. – S. 49.

17. Komarov V.Yu., Belkin B.L. Ispolzovanie novogo preparata «Adimast» dlya odnomomentnogo zapuska korov v sukhostoynnyy period i profilaktiki mastita // Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2015. – No. 5 (127). – S. 107-110.

18. Zimnikov V.I., Klimov N.T., Vostroilova G.A. Farmako-toksikologicheskaya kharakteristika novogo protivomastitnogo preparata Mastitsef // Zootekhnika. – 2011. – No. 2. – S. 28-29.

19. Pereira, U., et al. (2011). Efficacy of Staphylococcus aureus vaccines for bovine mastitis: A systematic review. *Veterinary Microbiology*. 148: 117-24. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.10.003.

20. Guccione, J., et al. (2016). Efficacy of a polyvalent mastitis vaccine against Staphylococcus aureus on a dairy Mediterranean buffalo farm: Results of two clinical field trials. *BMC Veterinary Research*. 13. doi: 10.1186/s12917-017-0944-4.

21. Evglevskiy A.A, Tagirmirzoev B.M. Biotekhnologicheskoe obosnovanie sredstv i sposobov profilaktiki i terapii korov, bolnykh mastitom // Vestnik Kurskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii. – 2015. – No. 1. – S. 69-70.

22. Komarov V.Yu. Ispolzovanie novogo otechestvennogo preparata «Dioksomast» dlya lecheniya subklinicheskogo mastita u korov v laktatsionnyy pe-

riod // Vestnik Michurinskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2015. – No. 1. – S. 45-48.

23. Komarov V.Yu., Belkin B.L. Effektivnost primeneniya preparata «Adimast» dlya lecheniya mastita u korov v sukhostoynnyy period // Vestnik OrelGAU. – 2015. – No. 1 (52). – S. 78-81.

24. Sravnitelnyy analiz effektivnosti ryada preparatov dlya lecheniya i profilaktiki mastita u korov / B.L. Belkin, V.Yu. Komarov, V.B. Andreev, S.V. Andreev / RZh «Problemy veterinarnoy sanitarii, gigieny i ekologii». – 2017. – No. 3 (23). – S. 109-113.

25. Abdessemed D., Avdeenko A.V. Diagnostika i terapiya subklinicheskogo mastita u laktiruyushchikh korov // Vestnik Saratovskogo gosagrouniversiteta im. N. I. Vavilova. – 2014. – No. 3. – S. 3-6.

26. Persson Y., Nyman A.K.J., Gronlund-Andersson U. (2011). Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 53 (1). P. 36. doi: 10.1186/1751-0147-53-36

27. Hansson H., Szczensa-Rundberg M., Nielsen C. (2011). Which preventive measures against mastitis can increase the technical efficiency of dairy farms? *Animal*. 5 (4): 632-640. doi: 10.1017/S1751731110002247.

28. De Vlieghe S., et al. (2012). Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *J. Dairy Sci*. 95 (3): 1025-1040. doi: 10.3168/jds.2010-4074.

29. Hovinen M., Pyorala S. (2011). Invited review: Udder health of dairy cows in automatic milking. *J. Dairy Sci*. 94 (2): 547-562. doi: 10.3168/jds.2010-3556.

30. Jacobs J.A., Siegford J.M. (2012). Invited review: The impact of automatic milking systems on dairy cow management, behavior, health, and welfare. *J. Dairy Sci*. 95 (5): 2227-2247. doi: 10.3168/jds.2011-4943.

