Новое направление в борьбе с маститами дойных животных A new direction of scientific research in treatment of mastitis in milk animals

DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-4-5
УДК 619:616.1/9 661.12:546

Искандарова С.С.
г. Москва

Ключевые слова: кожные заболевания, лечение дерматитов, профилактика маститов, ветеринария, лантаноиды

Key words: skin diseases, treatment of dermatitis, prevention of mastitis, veterinary, lanthanides

Резюме. Широкое распространение болезней молочной железы коров, сдерживает увеличение производства молока и диктует необходимость разработки и осуществления системы профилактических и оздоровительных мероприятий против мастита, который наносит большой экономический ущерб животноводству. Антибиотики остаются наиболее эффективными средствами профилактики и, особенно, лечения маститов в разной стадии развития и степени клинических проявлений. Но большое количество ограничений применения антибиотиков особенно дойному поголовью животных, вынуждает изыскивать альтернативные средства и методы. В ФГБНУ ВИЭВ имени Я.Р. Коваленко с положительным результатом испытывали защитное средство на основе лантаноидов для профилактики маститов у лактирующих животных. В результате эксперимента установлено, что защитно-профилактическое средство на ос-

Авторы / Authors

Искандарова С.С., старший научный сотрудник, i-vica@mail.ru

Федоров А.И., заведующий лабораторией

Искандаров М.И., главный научный сотрудник

Ездакова И.Ю., заведующая лабораторией

Альбертян М.П., главный научный сотрудник

ФГБНУ ВИЭВ имени Я.Р. Коваленко

Iskandarova S.S., Fedorov A.I., Iskandarov M.I., Ezdakova I.Y., Albertyan M.P.

нове солей лантана в концентрации 2–3% значительно задерживало рост на плотной питательной среде стафилококков, стрептококков и эшерихий, а также проявляло бактерицидный эффект в отношении гноеродной микрофлоры, выявляемой при кожных патологиях.

Испытываемое средство обладает выраженным регенерирующим свойством, стимулирует рост и развитие эпителиальных клеток, ускоряя заживление повреждений кожи с помощью механизма, который включает усиление пролиферации и миграции фибробластов, кератиноцитов, эндотелиальных клеток кровеносных сосудов и перевиваемых клеток легочной ткани. Скорость заживления мелких кожных ран, потертостей, ссадин и других проявлений кожной патологии в 1,5 – 2 раза быстрее при использовании для лечения препаратов на основе лантаноидов по сравнению с другими методами лечения.

Summary. The high prevalence of bovine mammary glands infections inhibits the growth in milk production and promotes the development and further implementation of preventive health measures against mastitis, which causes great economic damage to animal husbandry.

Antibiotics still remain the most effective means for prevention and treatment of mastitis in different stages of development and the degree of clinical manifestations. Though due to a number of restrictions on the use of antibiotics especially in the treatment of milk animals, there is a need to seek alternative means and methods of treatment.

Federal State Budgetary Scientific Institution Kovalenko All-Russia Research Institute of Experimental Veterinary Medicine have conducted a series of tests of a protective agent based on lanthanides for the prevention of mastitis in milk animals. It was shown that the protective and prophylactic agent based on lanthanum salts at a concentration of 2–3% significantly retarded the growth of the strains of *Staphylococcus*, *Streptococcus*, as well as *E. coli* on a dense nutrient media. The agent also had a bactericidal effect against pyogenic microflora revealed in skin pathologies.

The tested agent has a pronounced regenerating effect, stimulates the growth and development of epithelial cells, accelerating the healing of skin lesions by a mechanism that includes the enhancement of proliferation and migration of fibroblasts, keratinocytes, endothelial cells of blood vessels and transplanted cells of lung tissue. When using the preparations based on lanthanides, the healing speed of minor skin wounds, abrasions, and other manifestations of cutaneous pathology is 1.5 to 2 times faster compared to other treatments.

Молочное скотоводство является одной из ведущих отраслей сельскохозяйственного производства, основным путем развития которого является дальнейшая интенсификация отрасли. При этом большое значение имеет как широкое внедрение промышленной технологии производства молока, так и получение его в фермерских и индивидуальных крестьянских хозяйствах. Исходя из того, что поголовье крупного рогатого скота с 2000 года по настоящее время практически не растет, а даже наоборот, имеет тенденцию к снижению (27,3 млн. гол. в 2000 году и 18,3 млн. гол. в 2018 году) актуально встает задача по изысканию резервов повышения объемов производства молока при существующем поголовье коров за счет уменьшения потерь животноводства в результате болезней сельскохозяйственных животных. Однако широкое распространение болезней молочной железы коров, сдерживает увеличение производства молока и диктует необходимость разработки и осуществления системы профилактических и оздоровительных мероприятий против мастита, который наносит большой экономический ущерб животноводству.

Являясь широко распространенным заболеванием, мастит наносит сельхозпроизводителям большой экономический ущерб из-за снижения молочной продуктивности и преждевременной выбраковки дойного поголовья. В хозяй-

ствах разных форм собственности 5–35% от общего количества выбракованных животных составляют коровы с маститом или атрофией долей вымени [4].

Молокоперерабатывающие предприятия вследствие ухудшения качества и технологических свойств молока несут большие убытки. Примесь молока от коров, больных скрытой формой мастита, делает всю партию молока непригодной для переработки на молочные продукты и сыры.

По данным многих исследователей *Staphylococcus aureus* входит в число микроорганизмов, которые чаще ассоциируются с субклиническим маститом крупного рогатого скота. *S. aureus* может иметь несколько факторов вирулентности, такие как энтеротоксины, токсин токсического шока 1 и др. Установлено, что резистентность к противомикробным препаратам у стафилококков, выделенных из клинических и субклинических случаев мастита, может быть разной. Приблизительно 90% штаммов *S. aureus* продемонстрировали множественную устойчивость к различным антимикробным агентам. Наиболее эффективными противомикробными средствами против изолятов были гентамицин, амоксициллин и норфлоксацин. Менее эффективными были пенициллин, стрептомицин и ампициллин [2,3,4,8].

Причинами развития мастита у коров могут быть стрессы на фоне антисанитарных условий содержания животного, нарушение правил доения, и физические травмы, но основной причиной является инфицирование бактериями и другими микроорганизмами, они попадают в сосочковый канал в процессе дойки и в период между дойками.

Учитывая микробную этиологию маститов, лечение этого заболевания не обходится без антибиотиков. До недавнего времени мастит у коров лечили только с помощью антибактериальной терапии. Но лечение антибиотиками имеет существенный недостаток: антибактериальные препараты имеют свойство накапливаться в организме животного. Присутствие антибиотиков обнаруживается и в молоке, из-за чего оно становится непригодным для дальнейшего употребления.

Принимая во внимание, что лечение мастита, особенно запущенных его форм, крайне затруднительно и малоэффективно, со всей остротой возникает актуальность профилактических мер. Еще Гиппократ в свое время утверждал: "Болезнь легче предупредить, чем лечить". Оценить эффективность проводимых профилактических мероприятий сложно, поскольку они имеют чаще всего отдаленный результат. Тем не менее затраты, связанные с проведением профилактики, в несколько раз меньше суммы ущерба, причиняемого маститами. В узком смысле слова профилактика – это комплекс мероприятий, направленных на предотвращение факторов риска для здоровья.

Профилактика заболеваний коров маститами должна проводиться комплексно и включать в себя проведение хозяйственно-организационных, зоотехнических, зоогигиенических, ветеринарно-санитарных мероприятий. Ввиду обширности всех вопросов, связанных с профилактикой мастита, а также учитывая, что вопросы кормления, содержания, зоогигиены, соблюдения ветеринарно-санитарных норм и правил являются общими для правильного ведения животноводства, мы остановимся в этой статье на отдельных моментах, связанных с непосредственной причиной мастита у коров. При туалете вымени до и после доения нередко обнаруживаются ранки, трещины, ссадины. Обычно их смазывают антисептическими, дезинфицирующими препаратами. Для систематического смазывания сосков вымени применяют дезинфицирующие и смягчающие кожу средства (к примеру, крема для доения) или применяют обычный борный вазелин.

В ФГБУ ВИЭВ проведена работа по разработке и испытанию средства для профилактики мастита дойных животных. Работа финансировалась в рамках госпрограммы ФНИ 160 Молекулярно-биологические и нанобиотехнологичес-

кие методы создания биопрепаратов нового поколения, технологии и способы их применения с целью борьбы с особо опасными инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями животных. Тема №0578-2014-0022 "Разработать лекарственную форму препарата для защиты кожных покровов от воздействия патогенной микрофлоры и неблагоприятных факторов внешней среды и нормативно-техническую документацию для внедрения в производство".

Материалы и методы

Работу выполняли в ФГБНУ ВИЭВ имени Я.Р. Коваленко и на опытной базе Вышневолоцкого филиала ФГБНУ ВИЭВ, а также в животноводческих хозяйствах.

Бактериостатическую активность защитно-профилактического средства изучали *in vitro* на твердой питательной среде. Средство разводили дистиллированной водой и вносили в чашки Петри с разогретым мясопептонным агаром. На чашки высевали тест-культуры микроорганизмов (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus agalactia* ATCC 12386, *Escherichia coli* ATCC 25922) в концентрации 500 микробных клеток. Чашки с культурами инкубировали 48 часов при температуре 37 °C и подсчитывали число выросших колоний.

Бактерицидные свойства защитно-профилактического средства определяли в жидкой питательной среде. Средство применяли в четырех концентрациях 0,1%; 1,0%; 2,0% и 4%. В жидкую питательную среду, содержащую защитно-профилактическое средство вносили тест-культуры микроорганизмов (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus agalactia* ATCC 12386) до конечной концентрации 1000 микробных клеток в мл. После суточной инкубации при температуре 37 °C из каждого разведения отбирали пробу в объеме 0,5 мл и высевали на чашки с мясопептонным агаром. Чашки инкубировали при температуре 37 °C в течение 10 суток отмечая количество колоний на питательной среде.

Лабораторные опыты проводили на белых беспородных мышках, морских свинках и кроликах. Кроме того, отдельные фрагменты работ проводили на мелких домашних и сельскохозяйственных животных. Средство для профилактики представляет собой мазеобразную или жидкую форму, действующим веществом которой являются азотнокислые соли редкоземельных элементов – лантаноидов.

На лабораторных и мелких домашних животных изучали ранозаживляющие и регенерирующие свойства разрабатываемого средства. На сельскохозяйственных животных (коровах) изучали регенерирующие свойства, то есть влияние средства для профилактики мастита на микротрещины сосков и другие патологии кожного покрова вымени. Изучали микрофлору и обсемененность кожного покрова в районе сосков до и после обработки препаратом. Испытание защитно-профилактического действия препарата проводили в животноводческом хозяйстве на лактирующих коровах. Животным опытной группы (25 голов) препарат наносили тонким слоем с последующим втиранием в кожу вымени и сосков после доения в течение недели, у животных второй группы (25 голов), вымя до и после доения обмывалось теплой кипяченой водой. Смывы проводили с поверхности сосков вымени утром перед доением и высевали на твердую питательную среду.

Результаты исследования и обсуждение

Так как, при маститах у коров наиболее часто из патологического материала выделяются стафилококки, стрептококки и кишечная палочка мы провели определение устойчивости этих микроорганизмов к защитному лечебно-профилактическому средству на основе солей лантана. Результаты изучения бактериостатической активности препарата приведены в таблице 1.

В результате эксперимента установлено, что защитно-профилактическое средство на основе солей лантана в концентрации 2–3% значительно задерживало рост стафилококков, стрептококков и эшерихий на мясопептонном печеночном агаре. Результаты по определению бактерицидной активности представлены в таблице 2.

Установлено, что защитно-профилактическое средство на основе лантаноидов в концентрации 0,1 % обладало плохо выраженными бактерицидными свойствами, концентрация 2% вызывала гибель 80% бактерий, а 4% вызывала 100% гибель стафилококков и стрептококков в жидкой питательной среде.

Получив положительные результаты *"in vitro"* по изучению антимикробных свойств защитно-профилактического средства на основе лантаноидов, провели испытание препарата в животноводческом хозяйстве на лактирующих коровах. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица №1. Бактериостатическая активность защитно-профилактического средства

Концентрация средства на основе лантаноидов в питательной среде (%)	Количество выросших колоний на чашке		
	<i>St.aureus</i> ATCC 6538	<i>S.agalactia</i> ATCC 12386	<i>E.coli</i> ATCC 25922
0,1	380	402	398
0,5	206	137	190
1	146	107	215
2	56	47	61
3	19	18	31
4	14	9	23
0	452	473	426

Таблица 2. Бактерицидные свойства защитно-профилактического средства

Концентрация средства в питательной среде (%)	Количество КОЕ	
	<i>St.aureus</i> ATCC 6538	<i>St.agalactia</i> ATCC 12386
0,1	570	450
1,0	320	290
2,0	117	86
4,0	0	0
Контроль	2491	1465

Таблица 3. Обсемененность кожи вымени стафилококками и стрептококками после применения защитно-профилактического средства

Время исследования	Обработка вымени коров			
	Защитно-профилактическим средством		Теплой водой до и после дойки	
	К-во колоний стафилококков	К-во колоний стрептококков	К-во колоний стафилококков	К-во колоний стрептококков
До обработки	220,2±9,3	320,4±9,8	270±10	300±12
Через 1 дня	70±3,1	100±3,4	300±11	350±14
Через 6 дней	31±1,5	40±1,8	280±9	400±16
Через 10 дней	0	0	290±10	320±17

Исследование показало, что количество колоний стафилококков и стрептококков уже на 1 день после применения профилактического средства уменьшилось в 3 раза, а после 10-дневного использования мази потенциально патогенная микрофлора не выявлялась.

В результате исследования установлено, что защитно-профилактическое средство хорошо впитывается в кожу, не обладает раздражающим действием, кожа становится упругой и эластичной, мелкие царапины, микротрещины и ссадины, являющиеся воротами инфекции, заживают в течение 3–4 дней.

С целью профилактики маститов коровам после дойки наносили защитно-профилактическое средство равномерно распределяя и втирая в кожу, особенно в области канальцев сосков. В период шестимесячного применения защитно-профилактического средства у коров не было выявлено случаев заболевания маститом. В контрольной группе у отдельных коров (8%) было отмечено начало развития серозного воспаления вымени, а у одного животного, несмотря на лечение, серозное воспаление перешло в катаральную стадию.

Получив положительные результаты по профилактике, провели изучение лечебного эффекта препарата. Для этого 10 коровам с диагнозом начальная стадия серозного мастита применяли защитное средство после каждой дойки в течение 5 дней. Другую группу коров в количестве 8 голов с аналогичным диагнозом лечили, применяя масти-сан и ихтиоловую мазь. Всех больных коров переводили на стойловое содержание, из рациона исключали сочные корма и заменяли сеном. Доеение осуществляли ручным способом. В результате, в обеих группах у коров стало проходить угнетение, улучшился аппетит. Нормализовалась температура тела, снизилась болезненность пораженных долей вымени. Продуктивность пришла в норму. Таким образом, защитно-профилактическое средство может применяться не только для профилактики маститов, но и для лечения начальных стадий развития заболевания в фазе серозного воспаления.

Конечно, антибиотики остаются наиболее эффективными средствами профилактики и, особенно, лечения маститов в разной стадии развития и степени клинических проявлений. Но большое количество ограничений применения антибиотиков особенно дойному поголовью животных, вынуждает изыскивать альтернативные средства и методы. В длительной истории борьбы с маститами с переменными успехами испытано огромное количество различных химических и физических средств и методов, а также организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий. Некоторыми исследователями предлагались даже гомеопатические препараты, позиционируемые как эффективные и, главное, безвредные средства борьбы с маститами. Однако основываясь на довольно широко распространенном мнении об эффективности гомеопатии в практике молочных ферм при лечении мастита, за рубежом было проведено слепое рандомизированное контролируемое исследование (РКИ) для оценки эффективности гомеопатического лечения клинического мастита на четырех молочных фермах на поголовье 180 кормящих молочных коров. В результате исследования установлено, что лечение антибиотиками обеспечивало субоптимальные излечения (60–81%), но было более эффективным, чем индивидуализированная гомеопатия (33–43%), эффективность которой практически не отличалась от эффектов плацебо (45–47%) ($P \leq 0,05$) [6]. Результаты исследования выявили, что эффективность индивидуализированной гомеопатии не выходит за рамки эффекта плацебо, и успешное лечение сильно зависит от конкретного возбудителя мастита. Таким образом, используемые противомикробные или альтернативные средства должны основываться на свойствах бактериальных культур из образцов молока.

По результатам наших исследований установлено, что

препараты на основе лантаноидов, обладают выраженным регенерирующим свойством, что подтверждено в многочисленных опытах на лабораторных и мелких домашних животных. Скорость заживления мелких кожных ран, потертостей, ссадин и других проявлений кожной патологии в 1,5 – 2 раза была быстрее при использовании для лечения препаратов на основе лантаноидов по сравнению с другими методами лечения. При этом практически постоянно наблюдалось заживление без образования рубцов, тогда как при других способах лечения рубцы, как правило, долго иногда пожизненно оставались на месте излеченной патологии. Эти наблюдения вполне согласуются с другими публикациями, в которых обосновано, что применение лантаноидов ускоряет заживление кожных ранок с помощью механизма, который включает усиление пролиферации и миграции фибробластов, кератиноцитов, эндотелиальных клеток кровеносных сосудов и перевиваемых клеток легочной ткани [1,2,3,5,7,9].

Таким образом, защитно-профилактическое средство, содержащее в своем составе соли лантаноидов, хорошо впитывается в поверхностные слои эпидермиса, стимулирует рост и развитие эпителиальных клеток, ускоряя заживление повреждений кожи, обладает антимикробным действием.

Выводы:

1. Препараты на основе солей лантаноидов обладают выраженным бактерицидным свойством в отношении гноеродной микрофлоры, выявляемой при кожных патологиях.
2. Учитывая разную устойчивость к антимикробным препаратам гноеродной микрофлоры, используемые противомикробные или альтернативные средства должны основываться на свойствах бактериальных культур из проб молока.
3. Препараты, содержащие в своем составе соли лантаноидов, хорошо впитываются в поверхностные слои эпидермиса, обладают выраженным регенерирующим свойством, стимулируют рост и развитие эпителиальных клеток, ускоряя заживление повреждений кожи.
4. Скорость заживления мелких кожных ран, потертостей, ссадин и других проявлений кожной патологии в 1,5 – 2 раза быстрее при использовании для лечения препаратов на основе лантаноидов по сравнению с другими средствами и методами лечения.

Литература

1. Влияние азотнокислого лантана на клетки легкого плода КРС "ЛПК" in vitro /Гальнбек Т.В., Шуляк А.Ф., Акиншина Г.Т., Потапова И.В., Федоров А.И. //Ветеринария и кормление. 2014. № 5. С. 68-69.
2. Изучение безвредности и фармакологических свойств средства "Вилпран" на лабораторных и сельскохозяйственных животных /Бондаренко В.З., Искадарова С.С., Федоров А.И., Искадаров М.И., Имашева М.А. // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко. 2013. Т. 77. С. 304-307.
3. Изучение защитно-профилактического крема "Вилпран" на лабораторных и сельскохозяйственных животных /Искадарова С.С., Бондаренко В.З., Федоров А.И., Искадаров М.И., Имашева М.А. //Ветеринария и кормление. 2013. № 4. С. 43-45.
4. Карташова В.М. Маститы коров / В.М. Карташова, А.И. Ивашура. - М.: Агропромиздат, 1988. - 256 с.
5. Лантаноиды: биологические свойства и применение /Федоров А.И., Искадаров М.И., Искадарова С.С., Бондаренко В.З., Имашева М.А., Альбертян М.П. // Ветеринария и кормление. 2014. № 5. С. 80-82.
6. Keller D., Sundrum A. Comparative effectiveness of individualised homeopathy and antibiotics in the treatment of bovine mastitis: randomised controlled trial. 2018. - Vet Rec. - 2018.- Jan 26.
7. Chigurupati S, Mughal MR, Okun E, Das S, Kumar A, McCaffery M, Seal S, Mattson MP. Effects of cerium oxide nanoparticles on the growth of keratinocytes, fibroblasts and vascular endothelial cells in cutaneous wound healing. Biomaterials. - J.biomaterials.-2012.-11.061.
8. Costa FN, et al, 2018 (Frequency of enterotoxins, toxic shock syndrome toxin-1, and biofilm formation genes in Staphylococcus aureus isolates from cows with mastitis in the Northeast of Brazil. Costa FN, Belo NO, Costa EA, Andrade GI, Pereira LS, Carvalho IA, Santos RL. //Trop Anim Health Prod. -2018/- Feb 10.
9. Pillai S, Bikle DD. Lanthanum influx into cultured human keratinocytes: effect on calcium flux and terminal differentiation. J Cell Physiol. 1992; 151:623-629.