

УДК: 619:618.19-002:616-08:636.2
DOI 10.52419/ISSN2072-2419.2022.4.401

ПОКАЗАТЕЛИ СЕКРЕТА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ БОЛЬНЫХ СУБКЛИНИЧЕСКИМ МАСТИТОМ КОРОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИНТЕРФЕРОНА- λ

Зимников В.И. -к. вет. н., ст. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0002-6371-7143), Манжурина
О.А. -к. вет. н. зав. лаб.(ORCIDID 0000-0003-0147-8965), Тюрина Е.В. --м.н.с. (ORCIDID
0000-0003-0385-6050)

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,
фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

Ключевые слова: коровы, субклинический мастит, цитологические, иммунологические исследования, интерферон- λ .

Keywords: cows, subclinical mastitis, cytological, immunological studies, interferon- λ .



РЕФЕРАТ

Наибольшее количество производимых в настоящее время препаратов для лечения мастита у лактирующих коров содержат в своем составе в качестве активно действующих веществ антимикробные компоненты (антибиотики). Исследования проведены на красно-пестрых голштинских коровах, которым был поставлен диагноз, субклинический мастит.

Подобранные в опыт животные были разделены на три группы. В первую группу было включено 8 животных, они не подвергались лечению и служили отрицательным контролем. Во вторую группу было подобрано 10 коров, которым для лечения использовали Биферон- Б в течение трех дней один раз в сутки в дозе 10 мл на животное. Животным третьей группы (n=12) одновременно применяли интерферон- λ и Биферон- Б внутримышечно по 10 мл каждого в течение тех дней. По результатам клинических исследований установлено, что у животных находящиеся в группе отрицательного контроля выздоровления не зафиксировано. В группе животных где применялся Биферон- Б, эффективность лечения составила 60,0%, а при совместном применении Биферона-Б и интерферона- λ эффект от лечения составил 83,3%. У животных 3 группы количество соматических клеток снизилось в 14,3 раза, концентрация нейтрофилов в 2,6 раза, количество общих Ig – на 67,5%, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) – на 61,5%, на фоне роста количества лимфоцитов в 6,0 раз, моноцитов в 2,1 раза и лизоцима – на 45,3%, а так же бактериальная обсемененность секрета вымени снизилась в 120 раз до 0,08 тыс. КОЕ/мл.

ВВЕДЕНИЕ

Мастит является одной из значимых проблем животноводства. Наиболее часто мастит регистрируется у высокопродуктивных коров, нанося значительный экономический ущерб животноводческим хозяйствам который складывается из потерь молока в среднем 15 – 20% годового удоя и до 35% выбраковки высокопродуктивных животных [4].

Одна из ведущих ролей в этиологиче-

ской структуре мастита принадлежит микробному фактору. В настоящее время науке известно более 100 возбудителей, которые могут стать причиной возникновения мастита. При проведении бактериологических исследований молока от коров больных маститом *Staph. aureus*, *Str. agalactiae*, *Str. pyogenes*, *E. coli*, *Klebsiella oxytoca* и *Enterobacter aerogenes* являются наиболее часто встречающимися микроорганизмами [1].

В независимости от воздействия технологических факторов основная роль в возникновении и дальнейшем развитии воспаления в молочной железе лактирующих коров, принадлежит нарушениям во взаимосвязи систем неспецифической резистентности молочной железы и условно патогенной и патогенной микрофлоры. За несколько дней до заболевания коров маститом происходит снижение защитных барьеров кожи вымени и уже впервые часы заболевания в секрете молочной железы увеличивается уровень соматических клеток в 2,0 и более раз, данный показатель служит маркером начала воспалительного процесса в молочной железе [6].

Наибольшее количество производимых в настоящее время препаратов для лечения мастита у лактирующих коров содержат в своем составе в качестве активно действующих веществ антимикробные компоненты (антибиотики). Применение данных препаратов не решает проблему нарушения взаимодействия систем неспецифической резистентности организма и патогенной микрофлоры, так как их бесконтрольное и бессистемное применение способствует возникновению штаммов микроорганизмов с множественной антибиотикоустойчивостью [5].

В данных условиях является актуальной разработка и применение новых, высоко эффективных, экологически безопасных препаратов и способов лечения мастита у коров, основанных на применении иммунокорректирующих средств. В опыте в качестве иммуностимулирующих средств применяли Биферона-Б и интерферона-λ. Данные препараты, имеют в своем составе видоспецифичные белки, которые проявляют свою иммуностимулирующую активность через индукцию системы эндогенного интерферона [3].

Цель работы изучение показателей секрета молочной железы больных субклиническим маститом коров при применении интерферона-λ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на красно-

пестрых голштинских коровах, которым был поставлен диагноз субклинический мастит. Для проведения опыта было сформировано три группы животных. В первую группу было включено 8 коров, они не подвергались лечению и служили отрицательным контролем. Во вторую группу было подобрано 10 животных, которым для лечения использовали Биферон-Б в течение трех дней один раз в сутки в дозе 10 мл на животное. Животным третьей группы (n= 12) одновременно применяли интерферон-λ и Биферон-Б внутримышечно по 10 мл каждого в течение трех дней. От всех животных до лечения и через неделю после последнего введения препаратов отбирали секрет молочной железы для проведения цитологических, иммунологических и микробиологических исследований.

Отбор проб молока (секрета вымени) и изучение этиологической структуры субклинического мастита у коров проводили согласно «Методическим указаниям по бактериологическому исследованию молока и секрета вымени коров» (М., 1983) [2]. Морфологический состав секрета определяли в мазках отпечатках, которые готовили по методике определения клеточного состава секрета вымени коров. Количество соматических клеток определяли на счетчике соматических клеток фирмы De Laval. Бактериологические и иммунологические исследования секрета вымени проведены общепринятыми классическими методами согласно утвержденным методикам. Эффективность комплексного применения интерферона-λ и Биферона-Б оценивали на седьмой день после последнего применения препаратов. Обработку полученных экспериментальных данных проводили с использованием статистической программы Statistica v. 8.0 (Stat Soft Inc.).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведенными клиническими исследованиями установлено, что у животных находящихся в группу отрицательного контроля выздоровления не зафиксировано. В группе животных, где применялся Биферон-Б, эффективность лечения со-

ставила 60,0%, а при совместном применении Биферона- Б и интерферона-λ эффект от лечения составил 83,3%.

При проведении подсчета соматических клеток установлено (таблица 1), что в секрете молочной железы коров контрольной группы их количество возросло на 48,8% ($P<0,01$). Остальные изменения иммуноморфологического состава молока коров контрольной группы были не достоверны. Количество соматических кле-

ток в молоке коров, которым применяли Биферон-Б, на 7 сутки по окончании лечения снизилось в 10,9 раза ($P<0,001$), а в группе №3 - в 14,3 раза ($P<0,001$), что говорит о выздоровлении животных.

При цитологическом анализе молока от коров больных субклиническим маститом установлено, что количество нейтрофилов являлось преобладающим. Так их содержание в мазках составило 84,2 - 88,2 %, а количество лимфоцитов и моноцитов

Таблица 1.

Иммуноморфологические показатели секрета молочной железы коров при совместном применении рекомбинантного интерферона-λ и Биферона-Б.

Показатели	До лечения	Через 7 дней после лечения
Отрицательный контроль (n=8)		
Лизоцим, мкг/мл	0,935±0,01	0,963±0,01
Общие Ig, г/л	2,98±0,10	3,64±0,1
ЦИК, г/л	0,132±0,004	0,156±0,004
СК, тыс/мл	3,123±0,20	4,065±0,30**
Нейтрофилы, %	84,2±2,6	86,3±2,7
Моноциты, %	1,4±0,01	1,2±0,01
Лимфоциты, %	14,4±0,20	13,5±0,20
Биферон-Б (n=10)		
Лизоцим, мкг/мл	0,833±0,01	1,087±0,01**
Общие Ig, г/л	3,24±0,10	1,67±0,14**
ЦИК, г/л	0,196±0,004	0,086±0,001***
СК, тыс/мл	2,540±0,04	0,231±0,03***
Нейтрофилы, %	85,2±2,50	34,4±3,70**
Моноциты, %	1,5±0,01	3,2±0,02*
Лимфоциты, %	13,3±0,30	62,4±0,20**
Интерферон-λ + Биферон-Б (n=12)		
Лизоцим, мкг/мл	0,856±0,01	1,244±0,01**
Общие Ig, г/л	3,48±0,10	1,13±0,32*
ЦИК, г/л	0,203±0,004	0,078±0,001***
СК, тыс/мл	2,670±0,13	0,186±0,01***
Нейтрофилы, %	88,2±3,10	33,6±2,70*
Моноциты, %	1,5±0,01	3,3±0,02**
Лимфоциты, %	10,25±0,21	63,2±0,20***

* $P<0,05$

** $P<0,01$

*** $P<0,001$ - степень достоверности в опытных группах через 7 дней после лечения по отношению к животным до лечения.

было на уровне 11,3 – 14,4% и 1,4 - 1,5% соответственно. При проведении иммунологических исследований секрета, содержание лизоцима молока больных субклиническим маститом коров составило 0,833 – 0,935 мкг/мл, общих Ig – 2,98 – 3,48 г/л, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) – 0,132 – 0,203 г/л. Данные изменения указывают на развитие воспалительного процесса в молочной железе исследуемых животных.

В молоке отобранном от коров группы №2, где применялся Биферон- Б, через неделю после окончания лечения были зафиксированы положительные изменения в его цитологическом и иммунологическом составе. Так, у этих животных отмечено увеличение количества лимфоцитов в 4,8 раза ($P<0,01$), моноцитов в 2,1 раза ($P<0,05$), лизоцима – на 30,5% ($P<0,01$), при уменьшении количества соматических клеток в 10,9 раза ($P<0,001$), нейтрофилов в 2,5 раза ($P<0,01$), общих Ig – на 48,4% ($P<0,01$), циркулирующих иммунных комплексов – на 56,1% ($P<0,001$).

В группе животных, где применялся рекомбинантный Интерферон- λ совместно с Бифероном-Б, была отмечена более значительная тенденция изменений цитологических и иммунологических показателей секрета вымени. У данных животных количество соматических клеток снизилось в 14,3 раза ($P<0,001$), концентрация нейтрофилов в 2,6 раза ($P<0,05$), содержание общих Ig – на 67,5% ($P<0,05$), циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) – на 61,5% ($P<0,001$), на фоне роста количества лимфоцитов в 6,0 раз ($P<0,001$), моноцитов в 2,1 раза ($P<0,01$) и лизоцима – на 45,3% ($P<0,01$).

По результатам проведенных исследований секрета молочной железы коров до лечения и через семь дней после последнего введения препаратов можно констатировать, что положительные изменения цитологических и иммунологических показателей молока при применении рекомбинантного интерферона- λ и Биферона-Б свидетельствует о снижении воспалительной реакции в молочной железе, за

счет активизации местной неспецифической резистентности молочной железы.

Во время проведения бактериологических исследований было установлено (табл. 2), что из секрета вымени больных субклиническим маститом коров были выделены *Staph. aureus* в 60,0-83,3% случаев и *Str. agalactiae* в 25,0-40,0% случаев в различной ассоциации с *Staph. epidermidis*, *Ent. faecium*, *E. coli*. Степень контаминации секрета вымени, больных субклиническим маститом коров, составила 4,2 - 9,6 тыс. КОЕ/мл.

У коров не подвергавшихся обработке рекомбинантными интерферонами бактериальная обсемененность молока за период опыта возросла в 2,4 раза (до $12,4\pm 1,1$ тыс. КОЕ/мл) ($P<0,01$), в тоже время изменений видового состава микрофлоры за отмеченный период наблюдения не произошло.

При применении Биферона-Б микробная контаминация секрета вымени снизилась в 8,4 раз (до 0,5 тыс. КОЕ/мл) ($P<0,01$). При этом отмечали полное освобождение молочной железы от стафилококка золотистого, стрептококка агалактичного, стафилококка эпидермального. Инфицированность исследуемых проб энтерококком фециум и кишечной палочкой, составила по 25,0% соответственно. При совместном использовании интерферона- λ и Биферона-Б бактериальная обсемененность секрета вымени снизилась в 120 раз до 0,08 тыс. КОЕ/мл ($P<0,001$). Из секрета вымени изолирована только кишечная палочка в 25,0% случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенными клиническими исследованиями определена терапевтическая эффективность совместного применения рекомбинантного интерферона- λ и Биферона- Б, эффект от лечения составил 83,3%. По результатам проведенных исследований секрета молочной железы коров до лечения и через семь дней после последнего введения препаратов можно констатировать, что положительные изменения цитологических и иммунологических показателей молока под воздействием рекомбинантного интерферона- λ

Таблица 2

Результаты бактериологических исследований секрета вымени коров до и после применения рекомбинантных интерферонов

Показатели	Частота встречаемости %	
	до лечения	через 7 дней по окончании лечения
Отрицательный контроль (n=8)		
Staph. aureus	75,0	75,0
Str. agalactiae	25,0	25,0
Staph. epidermidis	62,5	62,5
Ent. faecium	25,0	25,0
E. coli	25,0	25,0
биферон-Б (n=10)		
Staph. aureus	60,0	0,0
Str. agalactiae	40,0	0,0
Staph. epidermidis	40,0	0,0
Ent. faecium	40,0	20,0
E. coli	20,0	20,0
интерферон-λ+ биферон-Б (n=12)		
Staph. aureus	83,3	0,0
Str. agalactiae	25,0	0,0
Staph. epidermidis	25,0	0,0
Ent. faecium	66,7	0,0
E. coli	25,0	25,0

и Биферона- Б свидетельствует о снижении воспалительной реакции в молочной железе, что происходит, по всей видимости, за счет активизации местной неспецифической резистентности молочной железы. Так же установлено, что применение рекомбинантных интерферонов способствовало снижению микробной контаминации молока и освобождению молочной железы больных субклиническим маститом коров от условно-патогенных возбудителей.

Данный эффект осуществляется за счет того что, применяемые интерфероны обладают противовирусным, иммуномодулирующим антипролиферативным действием, заключающимся в способности индуцировать активность ферментов клеток, обеспечивающих неспецифическую защиту слизистых молочной железы [2].

INDICATORS OF MAMMARY GLAND SECRETION IN COWS WITH SUBCLINICAL MASTITIS WHEN USING INTERFERON-λ

Zimnikov V.I., Cand. of Vet. Sciences, Senior Scientific Associate (ORCID ID

0000-0002-6371-7143), Manzhurina O.A., Cand. of Vet. Sciences, Head of the Laboratory (ORCIDID 0000-0003-0147-8965), Tyurina E.V., Junior Scientific Associate (ORCIDID 0000-0003-0385-6050), FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Voronezh, Russian Federation

ABSTRACT

The largest number of currently produced drugs for the treatment of mastitis in lactating cows contain antimicrobial components (antibiotics) as active substances. The studies were carried out on Red-Motley Holstein cows, in which subclinical mastitis was diagnosed. The animals selected for the experiment were divided into three groups. The first group included 8 animals, they were not treated and served as a negative control. In the second group, 10 cows were selected for treatment with Biferon-B for three days once a day at a dose of 10 ml. per animal. The animals of the third group were simultaneously administered interferon-λ and Biferon-B intramuscularly, 10 ml each during those days. According to the results of clinical

studies, it was found that no recovery was recorded in the animals in the negative control group. In the group of animals where Biferon-B was used, the efficacy of treatment was 60.0%, and with the combined use of Biferon-B and interferon- λ , the effect of treatment was 83.3%. In these animals, the number of somatic cells decreased by 14.3 times, the concentration of neutrophils - by 2.6 times, the amount of total Ig - by 67.5%, CIC - by 61.5%, against the background of an increase in the number of lymphocytes by 6.0 times, monocytes - by 2.1 times and lysozyme - by 45.3%, and the bacterial contamination of the udder secretion also decreased to 0.08 thousand CFU/ml, which was by 120 times less compared to the initial state. Only *Escherichia coli* has been isolated from the udder secretion in 20.0% of cases that confirms the clinical efficacy of the treatment.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Балбуцкая А.А. Чувствительность к антибактериальным средствам возбудителей клинического мастита коров. /А.А. Балбуцкая, В.Н. Скворцов, С.С. Белимова // Ветеринария №9. 2018. С. 39-44.
2. Зимников В.И. Эффективность применения рекомбинантных интерферонов при терапии субклинического мастита у лактирующих коров. /В.И. Зимников, О.Б. Павленко, Л.Ю. Сашнина, В.И. Моргунова, Г.Г. Чусова// Ветеринарный фармакологический вестник №2 (19) 2022 г. С. 47 – 57.
3. Климов Н.Т. Микробная контаминация молока и иммунологические показатели клинически здоровых лактирующих коров при профилактике мастита бычьими рекомбинантными альфа и гамма интерферонами /Н.Т. Климов, В.И. Зимников, Д.А. Ерин, А.В. Пашенцев, О.А. Манжурина, Ю.С. Пархоменко, И.С. Чернышова, Е.В. Тюрина// Вопросы нормативно правового регулирования в ветеринарии. Санкт Петербург 2018 г. №3 С. 74 – 77.
4. Прокулевич В.А. Ветеринарные препараты на основе интерферонов /В.А. Прокулевич, М. И. Потапович // Вестник БГУ, Серия 2, Химия. Биология. География. — 2011. - № 3. - С. 51-55.
5. Ряпосова М.В. Заболеваемость коров маститами в племенных заводах Свердловской области /М.В.Ряпосова, М. Н. Тарасенко // Ежеквартальный информационно-аналитический журнал. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. Санкт-Петербург -2014. - № 3. - С. 154-157.
6. Шабунин С.В. Актуальные проблемы терапии и профилактики мастита у коров /С.В. Шабунин, Н. Т. Климов, А. Г. Нежданов, Л. И. Ефанова// Ветеринария, 2011. - № 12. - С. 3-6.

REFERENCES

1. Balbutskaya A.A., Skvortsov V.N., Belimova S.S. Sensitivity to antibacterial agents of bovine clinical mastitis causative agents [Ветеринария]. No. 9. 2018. P. 39-44 (in Russ.)
2. Zimnikov V.I., Pavlenko O.B., Sashnina L.Yu., Morgunova V.I., Chusova G.G. Efficacy of the application of recombinant interferons in the therapy of subclinical mastitis in lactating cows. Bulletin of Veterinary Pharmacology. No. 2 (19) 2022, pp. 47 - 57. (in Russ. & in Eng.)
3. Klimov N.T., Zimnikov V.I., Erin D.A., Pashentsev A.V., Manzhurina O.A., Parkhomenko Yu.S., Chernyshova I.S., Tyurina E.V. Microbial contamination of milk and immunological indicators of clinically healthy lactating cows in the prevention of mastitis with recombinant bovine interferons alpha and gamma [Вопросы нормативно правового регулирования в ветеринарии] St. Petersburg 2018 No. 3 P. 74 – 77 (in Russ.)
4. Prokulevich V.A., Potapovich M.I. Veterinary drugs based on interferons [Вестник БГУ, Серия 2, Химия. Биология. География]. 2011. - No. 3. - P. 51-55 (in Russ.)
5. Ryaposova M.V., Tarasenko M.N. Morbidity of cows with mastitis on stud farms of Sverdlovsk region [Ежеквартальный информационно-аналитический журнал. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии]. St. Petersburg -2014. - No. 3. - P. 154-157 (in Russ.)
6. Shabunin S.V., Klimov N.T., Nezhdanov A.G., Efanova L.I. Actual problems of therapy and prevention of mastitis in cows [Ветеринария]. 2011.-No. 12.-P.3-6(in Russ.)