

# ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

УДК 619:618.19-002:636.2:577.15

DOI: 10.53083/1996-4277-2023-228-10-56-60

Л.Ю. Выставкина, Н.А. Малыгина,  
А.П. Соловьева, В.А. Михайленко  
L.Yu. Vystavkina, N.A. Malygina,  
A.P. Soloveva, V.A. Mikhaylenko

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛИЗОЦИМА ПРИ ЛЕЧЕНИИ МАСТИТА У КОРОВ

### USE OF LYSOZYME IN BOVINE MASTITIS TREATMENT

**Ключевые слова:** коровы, мастит, молоко, лизоцим, экспериментальный препарат, опытная группа, мыши.

**Keywords:** cows, mastitis, milk, lysozyme, experimental drug, trial group, mice.

Целью работы является применение альтернативных средств лечения мастита у коров. Исследования проводились на кафедре морфологии, хирургии и акушерства факультета ветеринарной медицины Алтайского ГАУ и в хозяйстве ОА «Учхоз «Пригородное» г. Барнаула. Было отобрано 15 коров с клиническими признаками мастита (полное или частичное поражение вымени в виде увеличения его долей, уплотнение консистенции вымени, болезненность при пальпации, увеличение надвымянных лимфатических узлов), подтвержденных лабораторным исследованием крови и исследованием молока с помощью диагностикумов «Мастест-АФ» и «Кенотест». В условиях кафедры был выделен лизоцим из коровьего молока по методу В.И. Мутовина и проверен на токсичность (исследование провели на белых мышах альбиносах) и на терапевтическую эффективность на коровах. По методу аналогов животные были разделены на 3 опытные группы по 5 гол. В 1-й опытной группе вводили препарат «Мастисан» (15,0 мл в сосковую цистерну пораженной части вымени 1 раз в сутки в течение 5 дней); во 2-й опытной группе – интрацистернально препарат «Ваккамаст» (10,0 мл на голову в сутки в течение 4 дней); в 3-й опытной – экспериментальный препарат группы лизоцимов интрацистернально в пораженную четверть вымени в дозе на первое введение 0,5 г, затем по 0,25 г один раз в сутки, в зависимости от степени тяжести патологического процесса, в течение 5 дней. В результате сравнения схем лечения 3 опытных групп коров было выявлено, что применение препаратов «Мастисан», «Ваккамаст» и экспериментального препарата группы лизоцимов является эффективным при лечении мастита у коров. Отличительной чертой лизоцима от других препаратов служит использование молока после полного выздоровления животного.

The research goal is to use alternative means of bovine mastitis treatment. The research was carried out at the Department of Morphology, Surgery and Obstetrics of the Faculty of Veterinary Medicine of the Altai State Agricultural University and on the farm of the OA Uchkhoz "Prigorodnoye" in the City of Barnaul. Fifteen cows were selected with clinical signs of mastitis (complete or partial lesion of the udder in the form of increased lobes, udder compaction, soreness during palpation, enlargement of the supramammary lymph glands) confirmed by laboratory blood and milk tests using Mastest-AF and Cenotest diagnostics. Under the conditions of the Department, lysozyme was isolated from cow milk by the method of V.I. Mutovin and tested for toxicity (the study was conducted on albino white mice) and for therapeutic efficacy on cows. The animals were divided into three trial groups of 5 comparable cows. In the 1st trial group, Mastisan drug was injected (15.0 mL into the teat cistern of the affected part of the udder 1 time a day for 5 days). In the 2nd trial group, Vaccamastum drug was administered intramammary (10.0 mL per head per day for 4 days). In the 3rd trial group, the experimental drug of the lysozyme group was injected intramammary into the affected quarter of the udder in a dose of 0.5 g for the first administration, then 0.25 g once a day depending on the severity of the pathological process for 5 days. As a result of comparing the treatment regimens in the three trial groups of cows, it was revealed that the use of the drugs Mastisan, Vaccamastum and the experimental drug of the lysozyme group was effective in the treatment of bovine mastitis. A distinctive feature of lysozyme from other drugs is the use of milk after complete recovery of the animal.

Выставкина Людмила Юрьевна, к.в.н., ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: majluda@mail.ru.

Vystavkina Lyudmila Yurevna, Cand. Vet. Sci., Altai State Agricultural University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: majluda@mail.ru.

**Малыгина Наталья Анатольевна**, к.в.н., доцент, ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: malyginana@bk.ru.

**Соловьева Анастасия Павловна**, студент, ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: playnastya@mail.ru.

**Михайленко Вероника Аркадьевна**, студент, ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: verunya.mixajlenko@mail.ru.

**Malygina Natalya Anatolevna**, Cand. Vet. Sci., Assoc. Prof., Altai State Agricultural University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: malyginana@bk.ru.

**Soloveva Anastasiya Pavlovna**, student, Altai State Agricultural University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: playnastya@mail.ru.

**Mikhaylenko Veronika Arkadevna**, student, Altai State Agricultural University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: verunya.mixajlenko@mail.ru.

### Введение

Немаловажное значение для успешного ведения молочного животноводства оказывает такое заболевание как мастит. Мастит – воспаление молочной железы, развивающееся как следствие воздействия механических, термических, химических и биологических факторов. Это одна из основных причин преждевременной выбраковки большого числа коров на молочных фермах и комплексах, а также заболевание, вызывающее снижение удоя, санитарных качеств молока [1].

В настоящее время разработано огромное количество средств и способов борьбы с маститами у коров, но ни один лекарственный препарат не доказал 100%-ную эффективность в отношении лечения заболевания. Практически во все способы терапии входят антибиотики и химиотерапевтические препараты, специфические биологически активные вещества (гормоны, простагландины и др.), которые могут выделяться с молоком в течение определенного промежутка времени. Применение антибиотиков приводит к появлению резистентных штаммов [2].

**Цель** исследования – применение альтернативных средств лечения мастита у коров.

**Задачи** исследования:

- 1) провести оценку состояния заболеваемости коров маститами в учхозе;
- 2) провести сравнительный анализ эффективности лекарственных форм, используемых для лечения коров, больных клиническим маститом.

### Объекты и методы

Объектом исследования послужили коровы черно-пестрой голштинизированной породы живой массой от 500-550 кг в возрасте 4-5 лет и препараты для лечения мастита.

Методы исследования включали в себя:

- 1) клиническое исследование животных и выявление среди них больных;
- 2) взятие общего анализа крови у исследуемых животных;
- 3) проведение сравнительного анализа между препаратами и выявление среди них наиболее экономически выгодного.

### Результаты исследований и их обсуждение

Все исследования проводились на кафедре морфологии, хирургии и акушерства факультета ветеринарной

медицины Алтайского ГАУ и в хозяйстве ОА «Учхоз «Пригородное» г. Барнаула.

Клиническое исследование животных осуществлялось на базе «Учхоз «Пригородное». В ходе проведения комплекса диагностических исследований (сбора анамнеза, внешнего осмотра, пальпации, пробного сдавливания молока) у коров, больных маститом, были выявлены следующие общие признаки болезни: общее угнетение животного, понижение или отсутствие аппетита, повышение общей температуры тела, учащение дыхания и пульса; со стороны вымени – полное или частичное поражение в виде увеличения его долей, уплотнение консистенции вымени, болезненность при пальпации, увеличение надвымянных лимфатических узлов [3, 4].

Лабораторное исследование крови. У коров с клиническими признаками мастита была взята проба крови из яремной вены. Учитывались морфологические показатели, определяемые в крови у животных с выведением лейкограммы соответственно (табл.).

При исследовании крови у 15 проб из 15 были обнаружены умеренный лейкоцитоз и лимфоцитоз. У 3 проб наблюдалось небольшое отклонение сегментоядерных форм нейтрофилов (20%). У одной пробы (№ 8) отмечалась монопения (6,7%).

У всех опытных животных было проведено исследование молока на субклинический мастит с помощью диагностикумов «Масттест-АФ» и «Кенотест». При проведении диагностики Масттестом у 10 проб наблюдалась положительная реакция (++) – 66,7%. У 3 проб отмечалась положительная реакция (+) – 33,3% из общего числа проб.

При проведении исследования с помощью Кенотеста у 13 проб регистрировался положительный результат с ярко выраженными изменениями в качественном составе >1000000-5000000 соматических клеток – 86,7%. У 2 проб был зафиксирован результат – >500000-1000000 соматических клеток, что составило 13,3%.

Таким образом, при проведении комплексной диагностики у коров с клиническими признаками мастита, включающей в себя 15 гол. был подтвержден диагноз – мастит.

На кафедре морфологии, хирургии и акушерства факультета ветеринарной медицины Алтайского ГАУ был выделен экспериментальный препарат группы лизоцимов и применен при лечении мастита у коров.

Лизоцимы – это природный фермент, обладающий антибактериальным действием.

Лизоцим был получен из коровьего молока, под воздействием фермента пепсина, после свертывания молочного белка – казеина провели фильтрацию сыворотки от белка. В молочную сыворотку добав-

ляется буферный раствор (фосфатный буфер с 7,4 рН) по методике В.И. Мутовина [5, 6]. В полученном осадке содержится группа белков молочной сыворотки, который выпаривается в условиях комнатной температуры до образования на стенках пробирки налета белого цвета.

Таблица

**Гематологический статус коров с клиническими признаками мастита**

№ исследуемой пробы	Результаты исследования лейкограммы					
	норма					
	базофилы	эозинофилы	палочкоядерные	сегментоядерные	лимфоциты	моноциты
	0,0-2,0	5-8	2-5	20-35	40-65	2-7
1	0	5	6	21	80	2
2	0	7	8	20	71	5
3	1	5	10	25	74	5
4	0	6	6	28	70	5
5	0	7	12	19	84	4
6	1	5	7	20	69	6
7	0	8	9	23	76	3
8	2	5	14	15	73	1
9	0	6	8	18	68	5
10	1	7	11	21	77	4
11	2	8	9	25	78	2
12	0	5	8	20	76	5
13	0	6	11	27	80	4
14	1	5	10	21	79	4
15	0	7	7	24	68	6

Препарат состоит из смеси белков сыворотки молока, группу действующих веществ которых представляет комплекс лизоцимов: лизоцим молока – Лизоцим М; лизоцим вымени – Лизоцим В; лизоцим термостабильный – Лизоцим Т; лизоцим основной – Лизоцим О.

Действующим и применяющимся при лечении мастита из всех лизоцимов является лизоцим М, обладающий антибактериальным, иммуномодулирующим, разжижающим и противовоспалительным эффектами.

Антибактериальное действие достигается за счет способности лизоцимов разрушать структурную основу клеток микроорганизмов, что обуславливает терапевтический эффект препарата.

Перед применением экспериментального препарата на коровах лекарственное средство было проверено на токсичность. Исследование проводилось на белых мышах альбиносах в условиях кафедры морфологии, хирургии и акушерства факультета ветеринарной медицины Алтайского ГАУ. Были сформированы 3 группы мышей и одна контрольная, по 5 особей в каждой группе. В контрольной группе препарат не применяли.

Первой группе мышей препарат вводили с кормом, объемом 0,5 г. Второй группе дача препарата осуществлялась в виде перорального введения раствора воды от 0,5 мл, в той же дозировке. Третьей группе мышей вводили ежедневные внутримышеч-

ные инъекции в объеме 0,5 мл препарата, растворенного в воде для инъекций в соотношении от 1/8. В течение 5 дней проводилось наблюдение с описанием общего состояния мышей. Затем повторяли введение лизоцима опытному животному с увеличением дозировки вдвое. Через 5 дней дозировку лизоцима увеличивали в 3 раза и в течение 10 дней наблюдали за состоянием опытных мышей.

При проведении исследований на токсичность экспериментального препарата удалось установить, что лизоцим не оказывает летального действия на организм мышей. В опытных группах у животных в течение 20-дневного опыта не наблюдалось каких-либо отклонений от физиологических норм при увеличении дозы. При проведении патологоанатомического вскрытия патологических изменений во внутренних органах у мышей опытных и контрольной группы не было обнаружено.

Терапевтическая эффективность экспериментального препарата группы лизоцимов на базе ОА «Учхоз «Пригородное» г. Барнаула была опробована на ранее отобранных для опыта 15 коровах живой массой 500-550 кг в возрасте 4-5 лет с клинической формой мастита. Из них сформировали 3 опытные группы, по методу пар-аналогов, по 5 гол. в каждой.

В 1-й опытной группе вводили препарат «Мастисан», по 15,0 мл в сосковую цистерну пораженной части вымени 1 раз в сутки в течение 5 дней, пред-

варительно подогрев до температуры тела животного [3, 7].

Во 2-й опытной группе интрацистернально вводили препарат «Ваккамаст» в дозе 10,0 мл на голову в сутки в течение 4 дней, предварительно разогрев препарат до температуры тела животного [8].

В 3-й опытной группе животных вводили экспериментальный препарат группы лизоцимов интрацистернально в пораженную четверть вымени в дозе на первое введение 0,5 г, затем по 0,25 г один раз в сутки, в зависимости от степени тяжести патологического процесса, в течение 5 дней.

До введения препаратов пораженную часть вымени тщательно сдаивали, а кожу соска обрабатывали 70%-ным раствором этилового спирта.

Во всех опытных группах на 5-е сут. наблюдается клиническое выздоровление животных, подтвержденное исследованием молока на субклинические формы мастита. Однако молоко от коров в 1-й и 2-й опытных групп подлежит выбраковке в течение 5 дней после проведения лечения, а в 3-й опытной группе молоко может использоваться без ограничений, сразу после исследования на скрытые формы мастита.

#### Заключение

В результате сравнения схем лечения трех опытных групп коров было выявлено, что применение препаратов «Мастисан», «Ваккамаст» и экспериментального препарата группы лизоцимов является эффективным при лечении мастита у коров. Отличительной чертой лизоцима от других препаратов служит использование молока после полного выздоровления животного.

#### Библиографический список

1. Профилактика возникновения маститов у коров / Н. В. Безбородов, В. М. Бреславец, О. Б. Лаврова [и др.]. – Текст: непосредственный // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2019. – № 2 (12). – С. 63-70.
2. Britan M.N., Gerceva K.A., Kiseleva E.V., et al. (2019). Nosological profile of animal farms of Ryazan oblast and evaluation of the efficiency of modern medicines for treating mastitis. *International Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 11 (1): 1040-1048.
3. Малыгина, Н. А. Патология молочной железы, лечение маститов и хирургических болезней вымени: учебное пособие для студентов факультета ветеринарной медицины / Н. А. Малыгина, Л. В. Медведева. – Барнаул: РИО Алтайского ГАУ, 2016. – С. 11-13.
4. Кузьмич, Р. Г. Клиническое акушерство и гинекология: учебное пособие для высших сельскохозяйственных учебных заведений по специальности «Ветеринарная медицина» / Р. Г. Кузьмич. – 2023. – 175 с. – С. 157-160.
5. Пронина, Г. И. Клиническая лабораторная диагностика. Практикум: учебное пособие для вузов /

Г. И. Пронина. – Санкт-Петербург: Лань, 2021. – 88 с. – Текст: непосредственный.

6. Бактериолитические свойства интерлейкина-2 и лизоцима в присутствии различных физиологически активных веществ / П. А. Левашов, Д. А. Матолыгина, Е. Д. Овчинникова, [и др.]. – Текст: непосредственный // Биотехнология: состояние и перспективы развития: материалы IX Международного конгресса. – 2017. – С. 54-56.

7. Инструкция по ветеринарному применению лекарственного препарата «Мастисан» / Организация-разработчик: ООО «НИТА-ФАРМ». Номер регистрационного удостоверения 44-3-3.16-3119 № ПВР-3-16.12/02885 от 12.04.16. – Текст: непосредственный.

8. Инструкция по ветеринарному применению лекарственного препарата «Ваккамаст» / Организация-разработчик: НПП «Агрофарм». Номер регистрационного удостоверения 15-3-7.14-3350 № ПВР-3-6.9/02448 от 01.08.16. – Текст: непосредственный.

#### References

1. Bezborodov N. V. Profilaktika vznikhoveniia mastitov u korov / N. V. Bezborodov, V. M. Breslavets, O. B. Lavrova i dr. // Aktualnye voprosy selskokhoziaistvennoi biologii. – 2019. – No. 2 (12). – S. 63-70.
2. Britan M.N., Gerceva K.A., Kiseleva E.V., et al. (2019). Nosological profile of animal farms of Ryazan oblast and evaluation of the efficiency of modern medicines for treating mastitis. *International Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 11 (1): 1040-1048.
3. Patologiya molochnoi zhelezy, lechenie mastitov i khirurgicheskikh boleznei vymeni: uchebnoe posobie dlia studentov fakulteta veterinarnoi meditsiny / N.A. Malygina, L.V. Medvedeva. – Barnaul: RIO Altayskogo GAU, 2016. – S. 11-13.
4. Kuzmich R.G. Klinicheskoe akusherstvo i ginekologiya: uchebnoe posobie dlia vysshikh selskokhoziaistvennykh uchebnykh zavedenii po spetsialnosti «Veterinarnaia meditsina». – 2023. – S. 157-160.
5. Pronina, G. I. Klinicheskaia laboratornaia diagnostika. Praktikum: uchebnoe posobie dlia vuzov / G. I. Pronina. – Sankt-Peterburg: Lan, 2021. – 88 s.
6. Levashov, P.A. Bakterioliticheskie svoistva interleikina-2 i lizotsima v prisutstvii razlichnykh fiziologicheskii aktivnykh veshchestv / P.A. Levashov, D.A. Matolygina, E.D. Ovchinnikova, D.L. Atroshenko, S.S. Savin, N.G. Belogurova, S.A. Smirnov, V.I. Tishkov, A.V. Levashov // Biotekhnologiya: sostoianie i perspektivy razvitiia; materialy IX mezhdunarodnogo kongressa. – 2017. – S. 54-56.
7. Instruksiiia po veterinarnomu primeneniiu lekarstvennogo preparata Mastisan / Organizatsiia-razrabotchik: ООО «НИТА-ФАРМ». Nomer registratsionnogo udostovereniia 44-3-3.16-3119 No. PVR-3-16.12/02885 ot 12.04.16.

8. Instruktsiia po veterinarnomu primeneniiu lek-arstvennogo preparata Vakkmast / Organizatsiia-razrabotchik: NPP «Agrofarm». Nomer registratsionnogo

udostovereniia 15-3-7.14-3350 No. PVR-3-6.9/02448 ot 01.08.16.



УДК 636.2.57.045

DOI: 10.53083/1996-4277-2023-228-10-60-65

**С.М. Борунова, Б.С. Иолчиев,  
П.Н. Абрамов, Н.В. Попова  
S.M. Borunova, B.S. Iolchiev,  
P.N. Abramov, N.V. Popova**

## КРАТКОСРОЧНОЕ ГИПОТЕРМИЧЕСКОЕ ХРАНЕНИЕ СЕМЕНИ БАРАНОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

### SHORT-TERM HYPOTHERMIC STORAGE OF STUD RAM SEMEN

**Ключевые слова:** разбавители, бараны-производители, спермы, активность сперматозоидов, краткосрочное хранение, хроматин, акросомы, цитоплазматическая мембрана, выживаемость сперматозоидов, оценка качества спермы.

Качество спермы является одним из основных факторов эффективности использования технологии искусственного осеменения в животноводстве. С учетом биологической особенности овец и специфики отрасли для искусственного осеменения в овцеводстве используются нативным, охлажденным и заморожено-оттаянным семенем. При краткосрочном хранении и криоконсервации состав разбавителей имеет решающее значение. Цель исследования заключалась в разработке среды при гипотермическом краткосрочном хранении спермы баранов-производителей. Для исключения влияния индивидуальных особенностей баранов-производителей (n-7) образцы спермы смешивали и разделяли на 2 равные аликвоты и разбавляли разбавителями до концентрации 100×106/мл. В течение эксперимента получили 72 эякулята. В качестве контрольного разбавителя использовали желточно-триглюкозный разбавитель, экспериментальный разбавитель с базовым составом (трис-цитратный буфер, лимонная кислота, фруктоза, полиген с добавлением яичного желтка, витаминов С, Е и триголозы 5мМ). Оценку качества спермы проводили с использованием CASA (computer-assisted semen analysis) технологии на оборудовании и программном обеспечении «Minitube». Изучали степень фрагментации ядерной ДНК (яДНК), целостность плазматических мембран сперматозоидов. Анализ показателей, характеризующих биологическую полноценность спермы, в образцах проводили через 0, 24, 72, 144, 216 ч хранения. В экспериментальной среде подвижность сперматозоидов через 9 сут. составляет 44,72±3,62%, в контрольной среде – 30,92±2,64%, целостность плазматической мембраны – 46,83±0,74 и 34,72±0,87% соответственно. Индекс фрагментации яДНК в контрольной среде за период хранения увеличился в 8 раз, в экспериментальном разбавителе – в 5 раз. Таким образом, использование экспериментальной среды с базовым составом (трис-цитратный буфер, лимонная кислота, фруктоза и полиген с добавлением яичного желтка, витаминов С, Е и триголо-

зы 5мМ) для краткосрочного хранения семени баранов-производителей позволяет сохранять биологическую полноценность сперматозоидов до 9 сут.

**Keywords:** diluents, stud rams, sperm, sperm activity, short-term storage, chromatin, acrosomes, cytoplasmic membrane, sperm survival, sperm quality evaluation.

Sperm quality is one of the main factors of the effectiveness of using artificial insemination technology in animal husbandry. Considering sheep biological characteristics and the specifics of the sheep breeding industry, native, chilled and frozen-thawed semen is used for artificial insemination. For short-term storage and cryopreservation, the composition of diluents is critical. The research goal was to develop the environment for hypothermic short-term storage of stud ram semen. To eliminate the influence of the individual characteristics of stud rams (n = 7), semen samples were mixed and divided into two equal aliquots, and diluted to a concentration of 100 × 106 /mL. During the experiment, 72 ejaculates were obtained. As the control diluent, *Tris-Glucose-Yolk* diluent was used; the experimental diluent contained tris-citrate buffer, citric acid, fructose, polygen with the addition of egg yolk, vitamins C, E, and trigolose 5 mM. Sperm quality was evaluated by using CASA (computer-assisted semen analysis) technology on Minitube equipment and software. We studied the degree of nuclear DNA fragmentation (nDNA), the integrity of the plasma membranes of spermatozoa. The analysis of the indices characterizing the biological value of sperm in the samples was carried out in 0, 24, 72, 144, 216 hours of storage. In the experimental environment, the sperm motility in 9 days was 44.72 ± 3.62%; in the control environment - 30.92 ± 2.64%; the integrity of the plasma membrane was 46.83 ± 0.74 and 34.72 ± 0.87%, respectively. The fragmentation index of nDNA in the control medium increased eight times during the storage period, and five times in the experimental diluent. Thus, the use of the experimental medium with a basic composition of tris-citrate buffer, citric acid, fructose and polygen with the addition of egg yolk, vitamins C, E and trigolose 5 mM for short-term storage of stud ram semen allows maintaining the biological full value of spermatozoa for up to 9 days.